

**GENETICA GENERALE
E
MOLECOLARE UMANA**

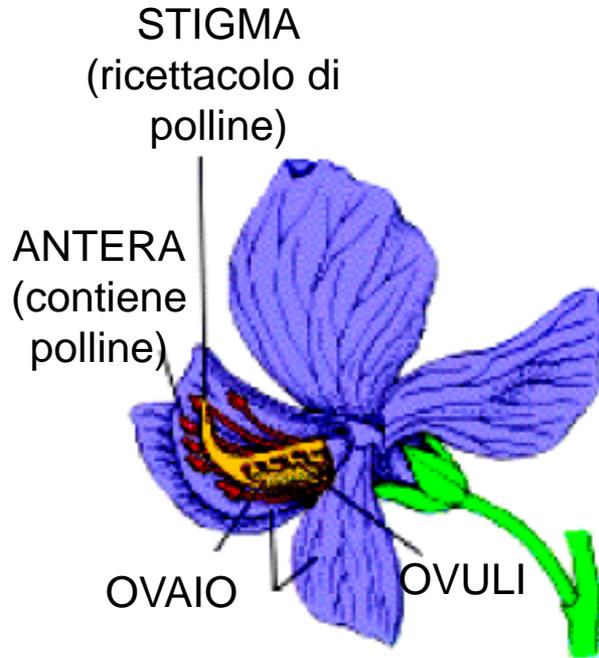
Gregor Mendel

Risultati ripetibili e
Statisticamente significativi



■ **Figura 10.1** Gregor Johann Mendel (1822-1884): il “padre” della Genetica.

Gli esperimenti di Mendel



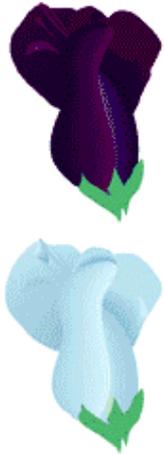
Mendel scelse di lavorare con i piselli commestibili, *Pisum sativum*, perché:

1. Numerose varietà (34) potevano essere reperite dal locale venditore di semi.
2. I piselli si possono auto-fecondare e cross-fecondare.

Mendel come prima cosa stabilì che **ciascuna varietà parentale (P) si comportava come una linea pura, vale a dire**, quando si riproduceva per autofecondazione dava origine a piante tutte uguali a se stessa.

Esperimenti di Gregor Mendel

Colore del fiore



Colore del seme



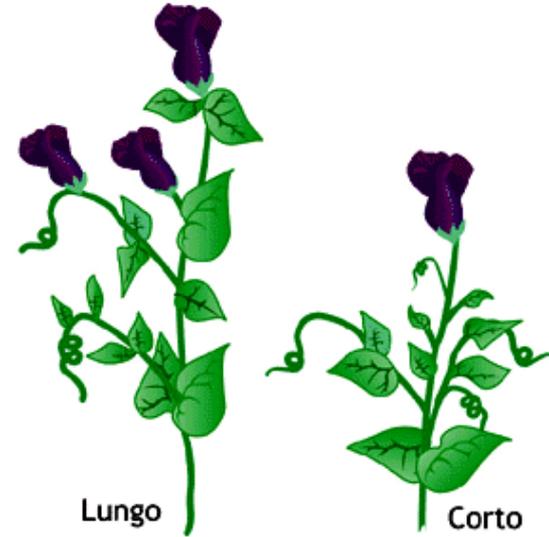
Giallo Verde

Forma del seme



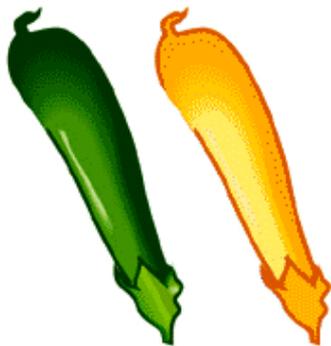
Liscio Rugoso

Altezza dello stelo



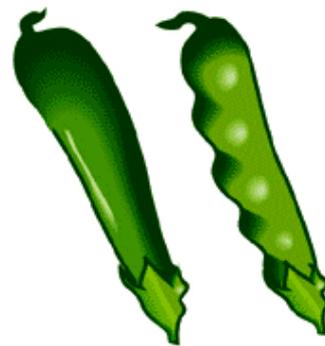
Lungo Corto

Colore del baccello



Verde Giallo

Forma del baccello



Pieno Irregolare

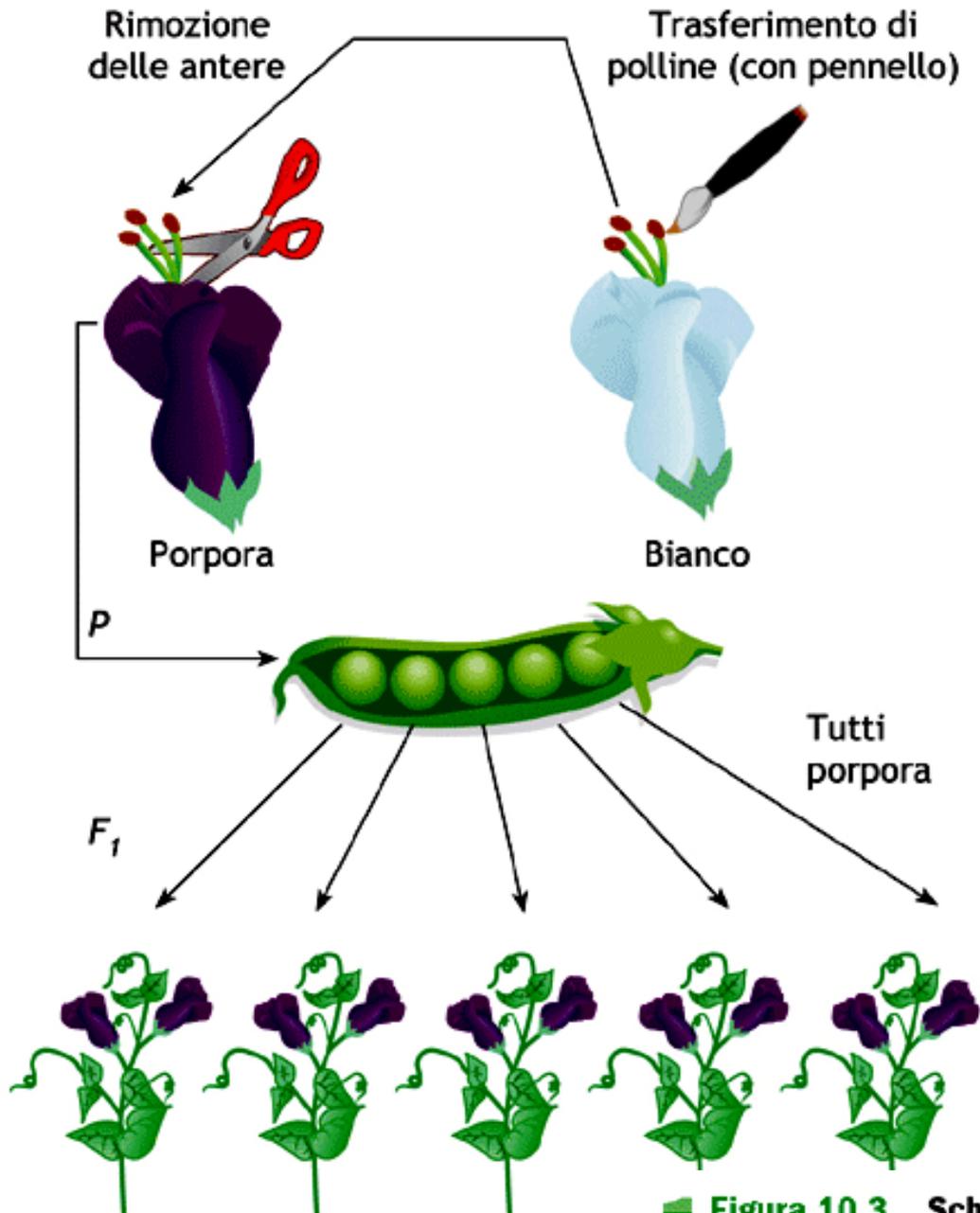
Posizione dei fiori



Assiale Terminale

Figura 10.2 I caratteri osservabili nel pisello odoroso (*Pisum sativum*) e scelti da Mendel per i suoi studi.

Esperimenti di Gregor Mendel

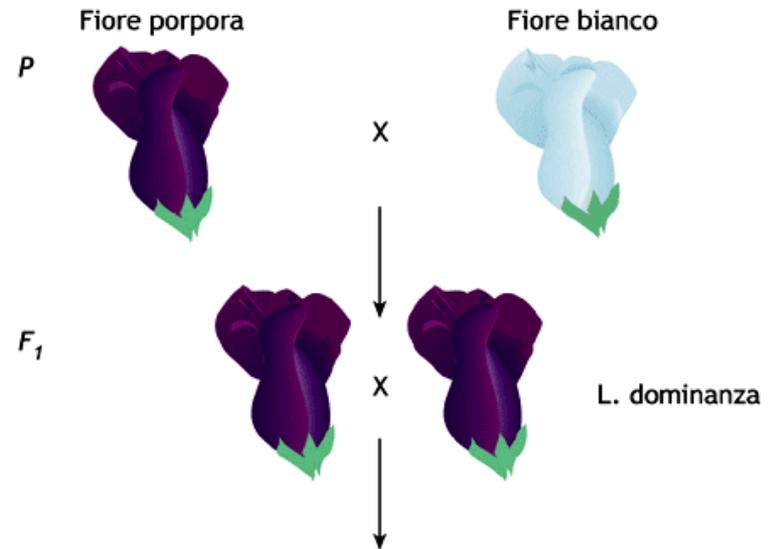


■ Figura 10.3 Schema della procedura di impollinazione artificiale.

Esperimenti di Gregor Mendel

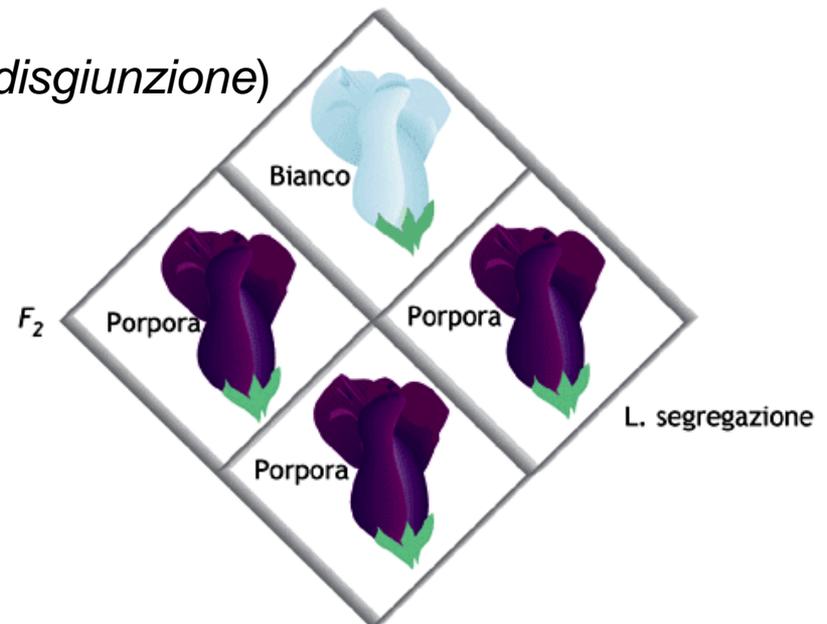
Caratteri singoli e la segregazione

1. Legge della dominanza



2. Legge della segregazione (o *legge della disgiunzione*)

Rapporto 3:1



■ **Figura 10.5** Rappresentazione di un "classico" incrocio attuato da Mendel.

Gli esperimenti di Mendel

Mendel lasciò che ogni pianta della F_1 si auto-impollinasse, cioè ogni stigma veniva fecondato dal suo stesso polline: **la seconda generazione filiale** risultante (F_2) era costituita da piante che mostravano sia il carattere dominante che quello recessivo. I risultati furono i seguenti:

P	F_1	F_2	Rapporto
<i>liscio x rugoso</i>	<i>liscio</i>	5474 <i>lisci</i> 1850 <i>rugosi</i>	2,96:1
<i>giallo x verde</i>	<i>giallo</i>	6022 <i>gialli</i> 2001 <i>verdi</i>	3,01:1
<i>colorato x bianco</i>	<i>colorato</i>	705 <i>colorati</i> 224 <i>bianchi</i>	3,15:1
<i>baccello liscio x baccello rugoso</i>	<i>liscio</i>	882 <i>lisci</i> 299 <i>rugosi</i>	2,95:1
<i>baccello verde x baccello giallo</i>	<i>verde</i>	428 <i>verdi</i> 152 <i>gialli</i>	2,82:1
<i>assiale x terminale</i>	<i>assiale</i>	651 <i>assiali</i> 207 <i>terminali</i>	3,14:1
<i>lungo x corto</i>	<i>lungo</i>	787 <i>lunghi</i> 277 <i>corti</i>	2,84:1

Rapporto 3:1

Esperimenti di Gregor Mendel

Caratteri singoli e la segregazione

Mendel continuò gli incroci della F₂ per autoimpollinazione ottenendo in F₃

1. Tutte le piante con carattere recessivo a fiore bianco davano sempre piante a fiore bianco
2. $\frac{1}{4}$ delle piante con il fiore porpora davano sempre piante con fiore porpora
3. I $\frac{2}{3}$ restanti producevano piante a fiore porpora e bianco in un rapporto di 3:1

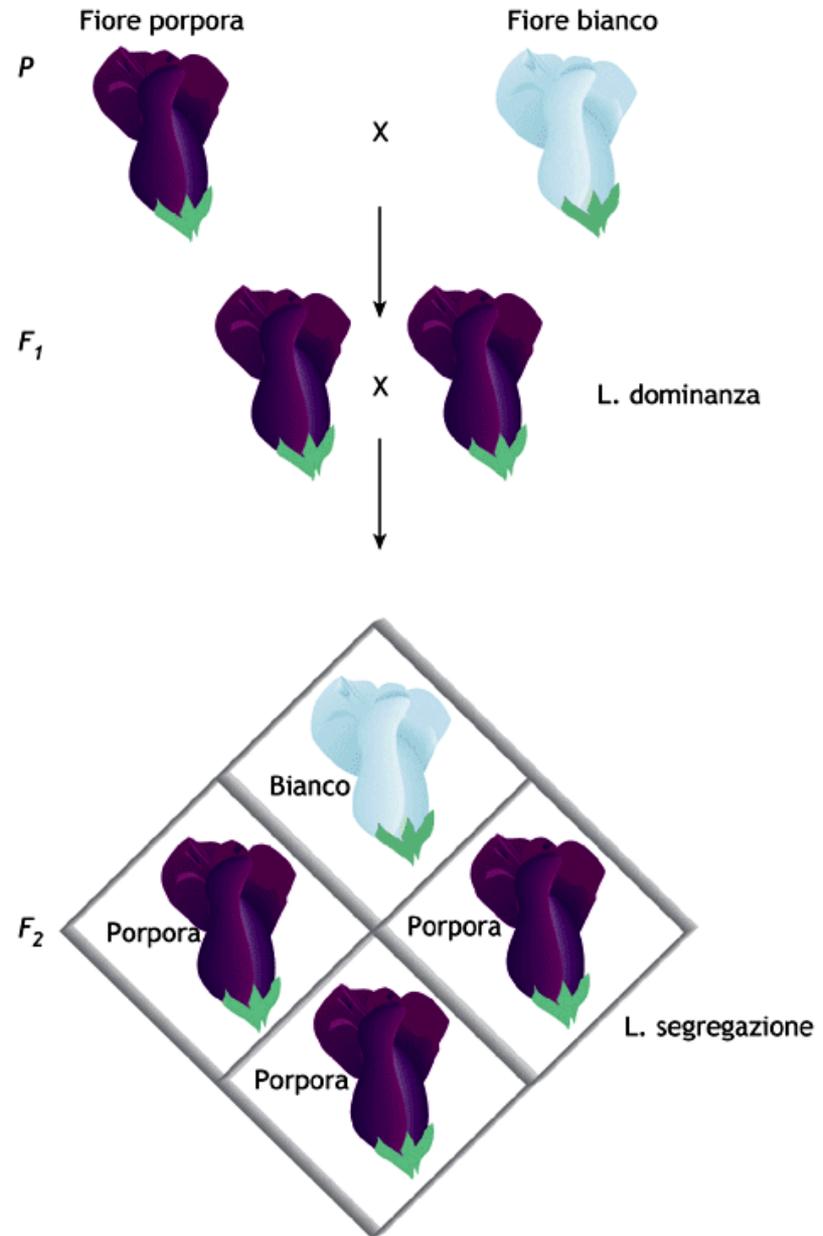
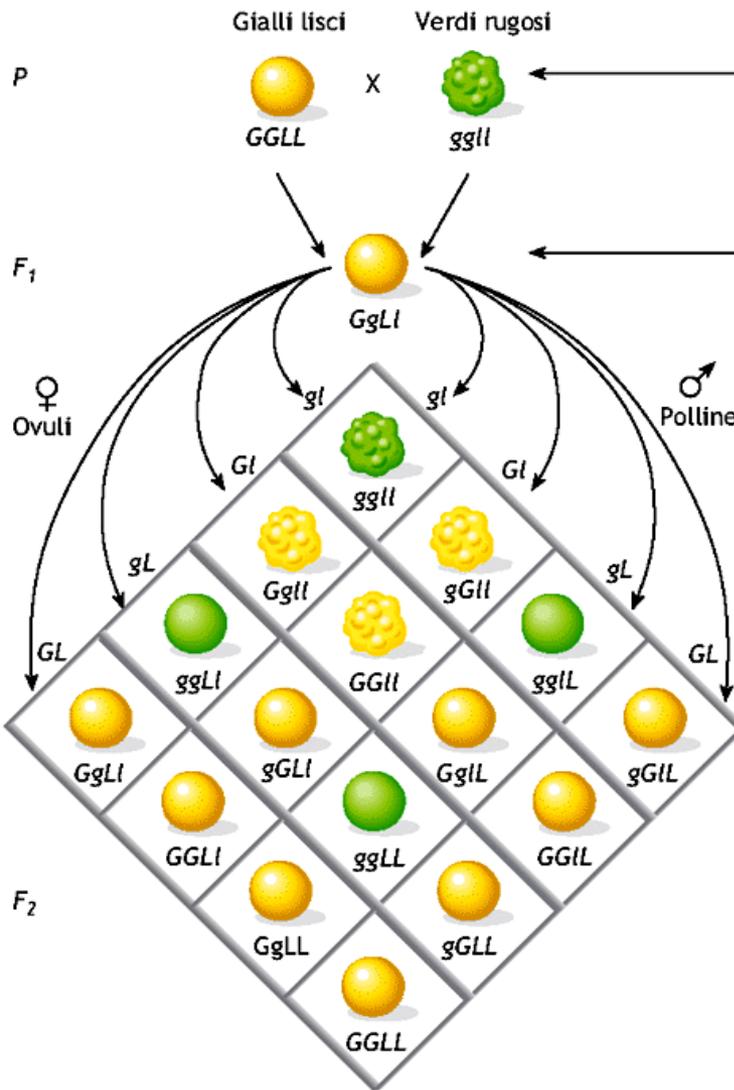


Figura 10.5 Rappresentazione di un "classico" incrocio attuato da Mendel.

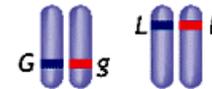
Esperimenti di Gregor Mendel

Caratteri e assortimento indipendente

Quadrato di Punnett



Doppi omozigoti



Doppi eterozigoti

consente di prevedere i rapporti genotipici e fenotipici dei discendenti di un incrocio

Rapporto 9:3:3:1

3. Legge dell'assortimento indipendente

Legge della segregazione indipendente dei "caratteri"

■ **Figura 10.7** Rappresentazione di un incrocio mendeliano in cui si illustra l'ereditarietà di due caratteri quali colore e forma del seme: "seme giallo e liscio (F₁) × seme giallo e liscio (F₁)" di *Pisum sativum*. Nello schema sono evidenziati i fenotipi, i genotipi, le classi gametiche, una semplificata rappresentazione dei relativi loci genici sui cromosomi. G e g = alleli rispettivamente per il colore giallo e verde dei semi; L e l = alleli rispettivamente per la forma liscia e rugosa dei semi.

Gli esperimenti di Mendel

Il passo successivo del lavoro di Mendel fu l'esame della progenie ottenuta da incroci eseguiti tra piante che differivano tra loro per due caratteri (incrocio diibrido). Tipi parentali: caratteri dominanti liscio e giallo e caratteri recessivi rugoso e verde. Nella F_1 tutte le piante risultarono possedere semi lisci e gialli, dimostrando ancora una volta il fenomeno della dominanza. Quando queste vennero auto-impollinate, la F_2 risultò costituita da piante con semi nelle seguenti proporzioni:

315 *lisci, gialli*
108 *lisci, verdi*

101 *rugosi, gialli*
32 *rugosi, verdi*

In generale, quando vengono presi in esame due caratteri, si osserva nella F_2 un rapporto di 9:3:3:1

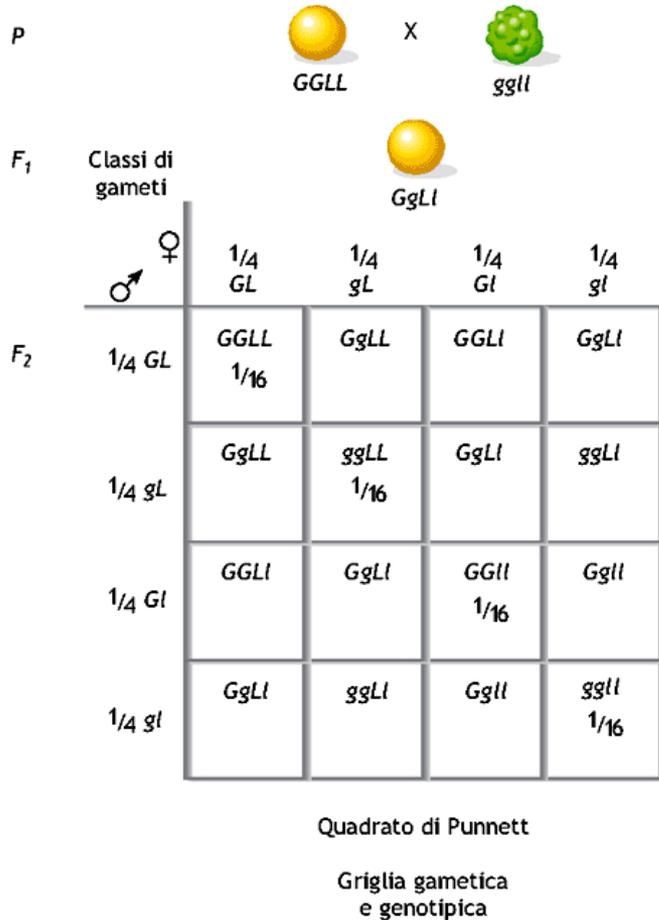
Esperimenti di Gregor Mendel

Leggi di Mendel

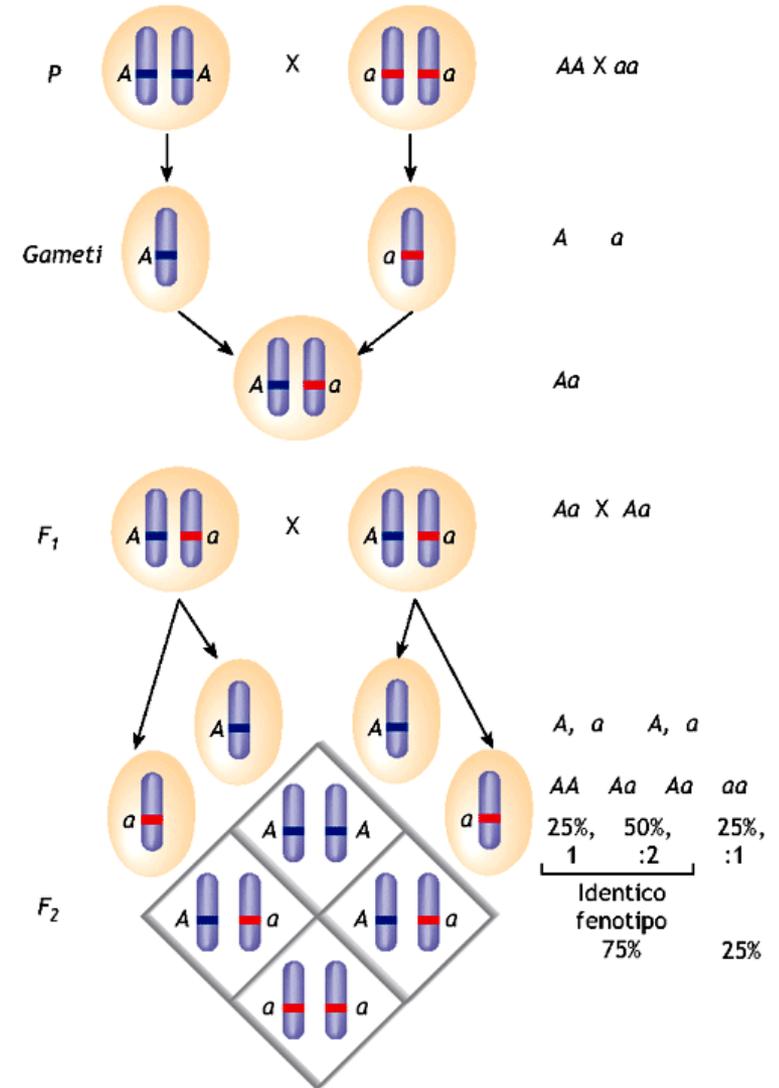
1. Legge della dominanza
2. Legge della segregazione dei caratteri
3. Legge della segregazione indipendente dei caratteri

Esperimenti di Gregor Mendel

Interpretazione oggi



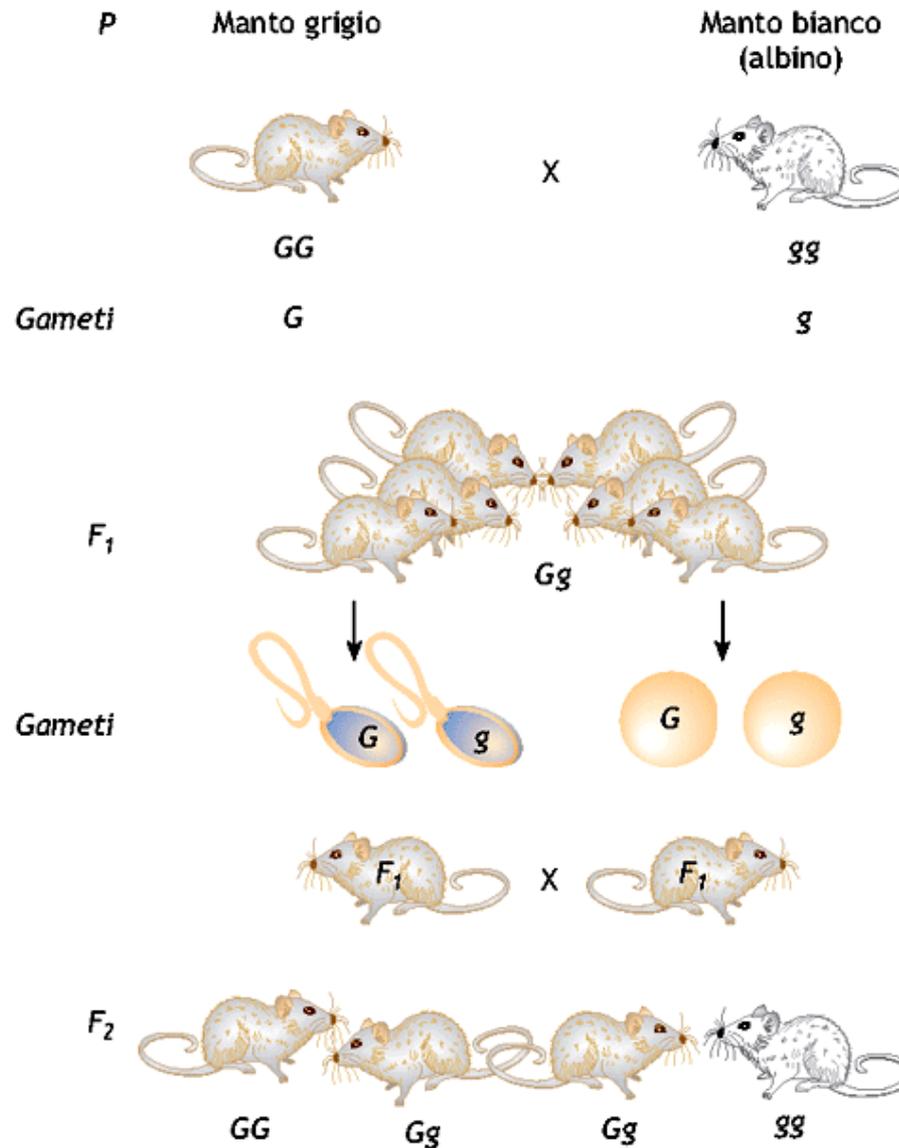
■ **Figura 10.9 Quadrato di Punnett.** Rappresentazione grafica per calcolare con efficienza e semplicità le possibili combinazioni degli alleli nei gameti di individui di un certo incrocio mendeliano tra individui che differiscono per due caratteri (G e g = alleli rispettivamente per il colore giallo e verde dei semi; L e l = alleli rispettivamente per la forma liscia e rugosa dei semi). Nello schema sono evidenziati i genotipi, le possibili classi gametiche e le loro proporzioni, le relative probabilità genotipiche e fenotipiche.



■ **Figura 10.8 Illustrazione schematica "citologica" e rappresentazione dei loci genici sui cromosomi di individui che differiscono per un carattere.** Nello schema sono evidenziati i genotipi, l'ipotetica posizione dei relativi alleli sui cromosomi, le possibili classi gametiche, le probabilità genotipiche e fenotipiche. A = allele per il colore porpora dei fiori; a = allele per il colore bianco.

Esperimenti di Gregor Mendel

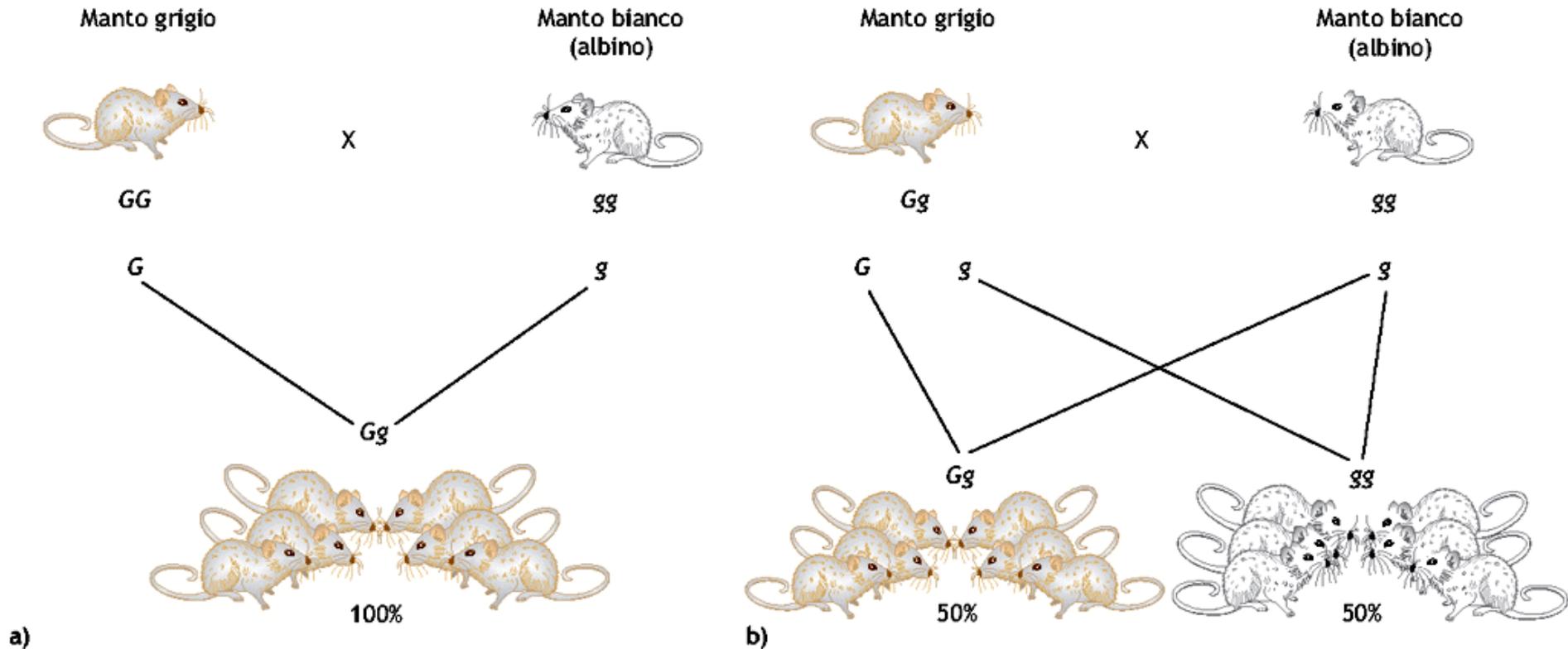
Caratteri mendeliani negli animali



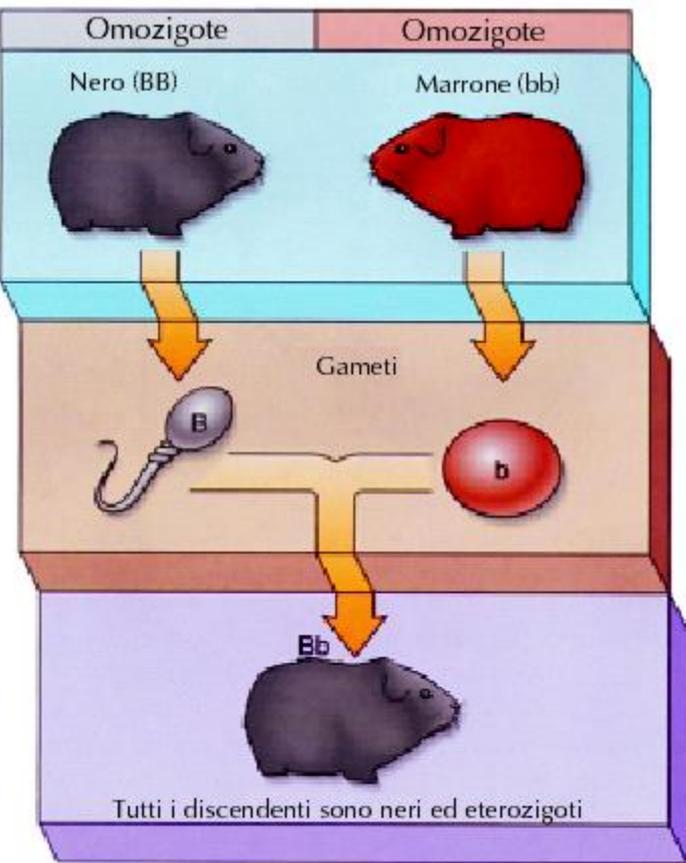
■ **Figura 10.10** Rappresentazione di incroci tra topi che differiscono per il solo carattere colore del manto: "manto grigio (P) × manto bianco (P)" e, successivamente, "manto grigio (F₁) × manto grigio (F₁)". G = allele per il manto grigio; g = allele per il manto bianco.

Esperimenti di Gregor Mendel

Il reincrocio o test cross

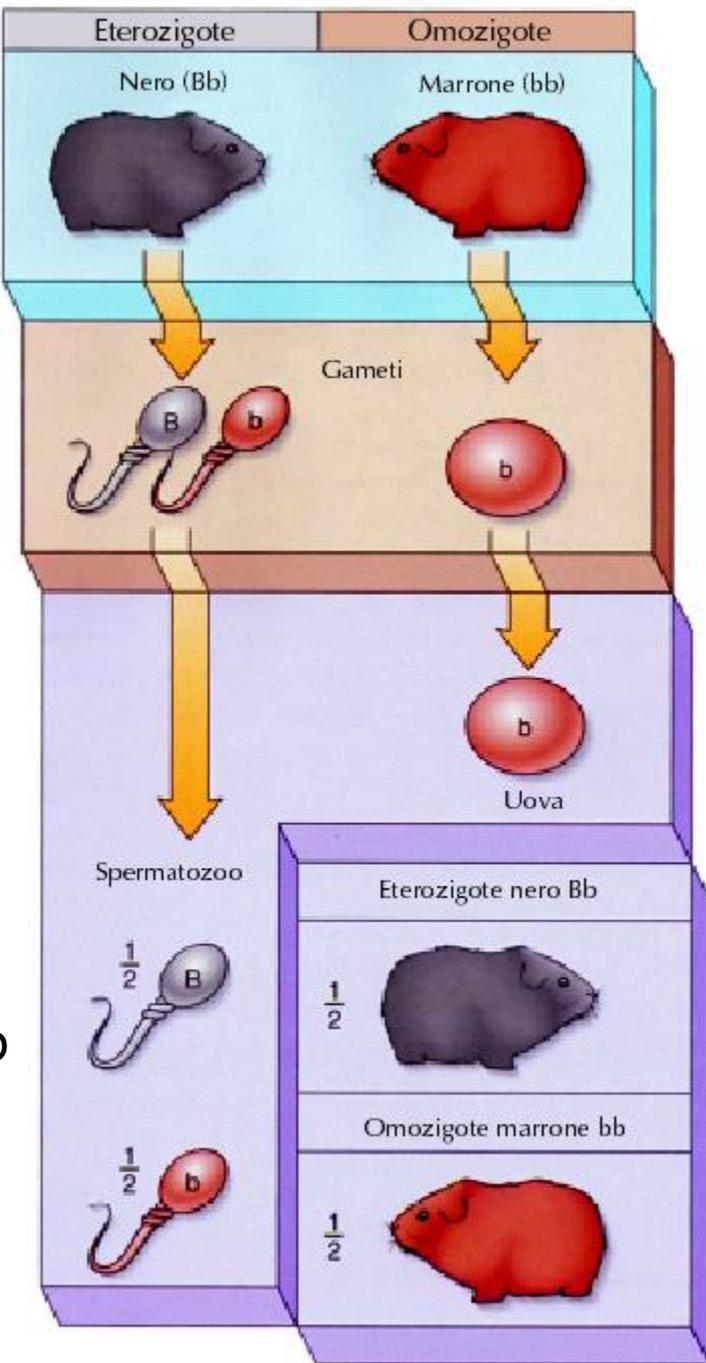


■ **Figura 10.11** Rappresentazione di incroci di prova (test-cross o reincrocio) tra topi "manto grigio \times manto bianco". Dall'analisi della progenie è possibile risalire al genotipo del genitore fenotipicamente dominante. **(a)** Genitore omozigote dominante e **(b)** eterozigote. G = allele per il manto grigio; g = allele per il manto bianco.



(a)

Il fenotipo di un individuo non sempre rivela il suo genotipo

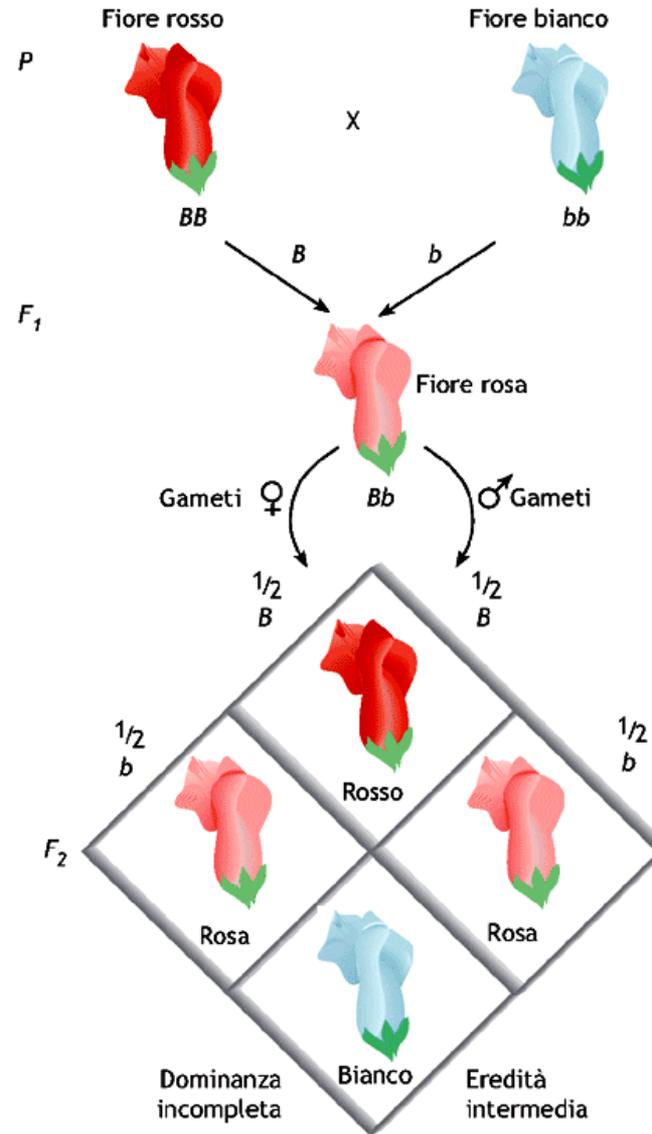


(b)

Il reincrocio (TEST CROSS) viene utilizzato per individuare la condizione eterozigote

La genetica dopo Gregor Mendel

Dominanza incompleta

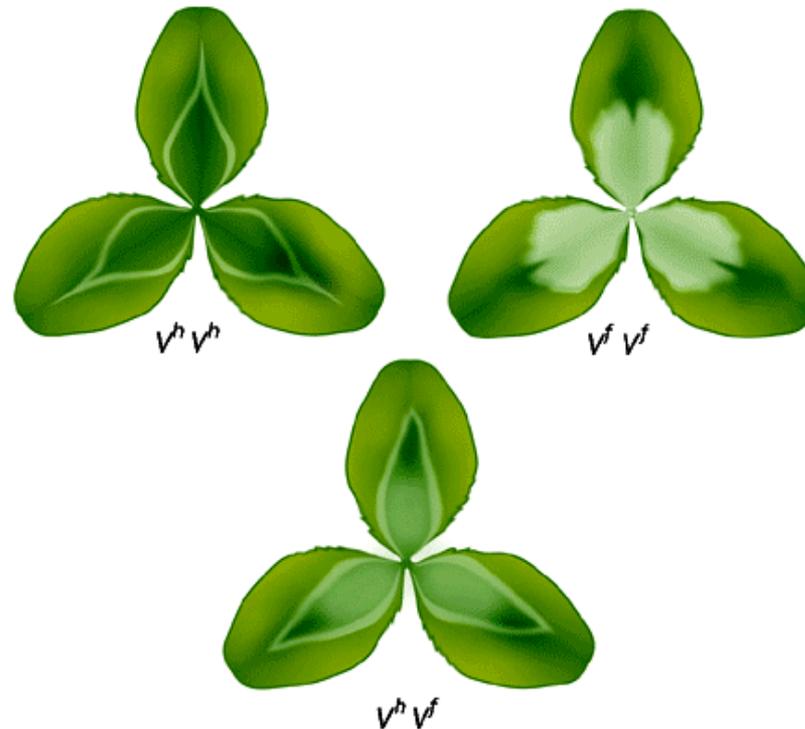


■ **Figura 10.12** Dominanza incompleta nel fiore della pianta "bocca di leone". Incrocio tra piante che differiscono per il solo carattere colore dei fiori. B = allele per il colore rosso dei fiori; b = allele per il colore bianco.

La genetica dopo Gregor Mendel

Codominanza

Genotipo	Fenotipo
R^1R^1	Z
R^2R^2	Y
R^1R^2	ZY



■ **Figura 10.14 Codominanza.** Nelle foglie di trifoglio sono evidenti alcune aree prive di colore che presentano un particolare pattern di colorazione, geneticamente determinato. Dall'incrocio di piante omozigoti che manifestano differenti pattern di colorazione ($V^h V^h \times V^f V^f$), si ottengono individui eterozigoti ($V^h V^f$) che manifestano entrambe le caratteristiche formazioni colorate dei parents.

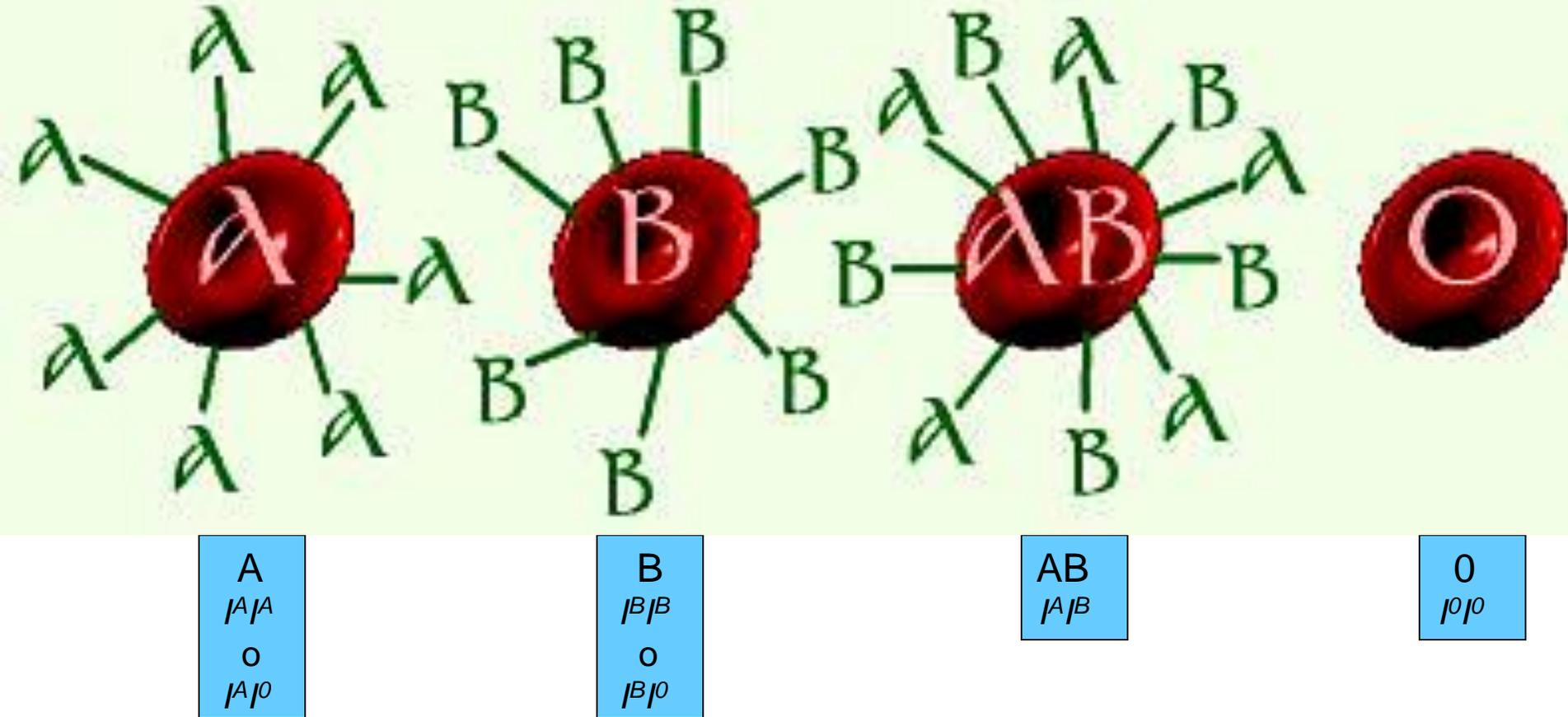
Tabella 23.1. Frequenze dei genotipi per gli alleli al locus del gruppo sanguigno MN in varie popolazioni umane

<i>Popolazione</i>	<i>Genotipo</i>			<i>Frequenze alleliche</i>	
	<i>MM</i>	<i>MN</i>	<i>NN</i>	<i>p(M)</i>	<i>q(N)</i>
Eschimesi	0,835	0,156	0,009	0,913	0,087
Aborigeni Australiani	0,024	0,304	0,672	0,176	0,824
Egiziani	0,278	0,489	0,233	0,523	0,477
Tedeschi	0,297	0,507	0,196	0,550	0,450
Cinesi	0,332	0,486	0,182	0,575	0,425
Nigeriani	0,301	0,495	0,204	0,548	0,452

Fonte: W. C. Boyd, *Genetics and the Races of Man*, D. C. Heath, Boston, 1950.

Allelia multipla Molti geni hanno più di due alleli

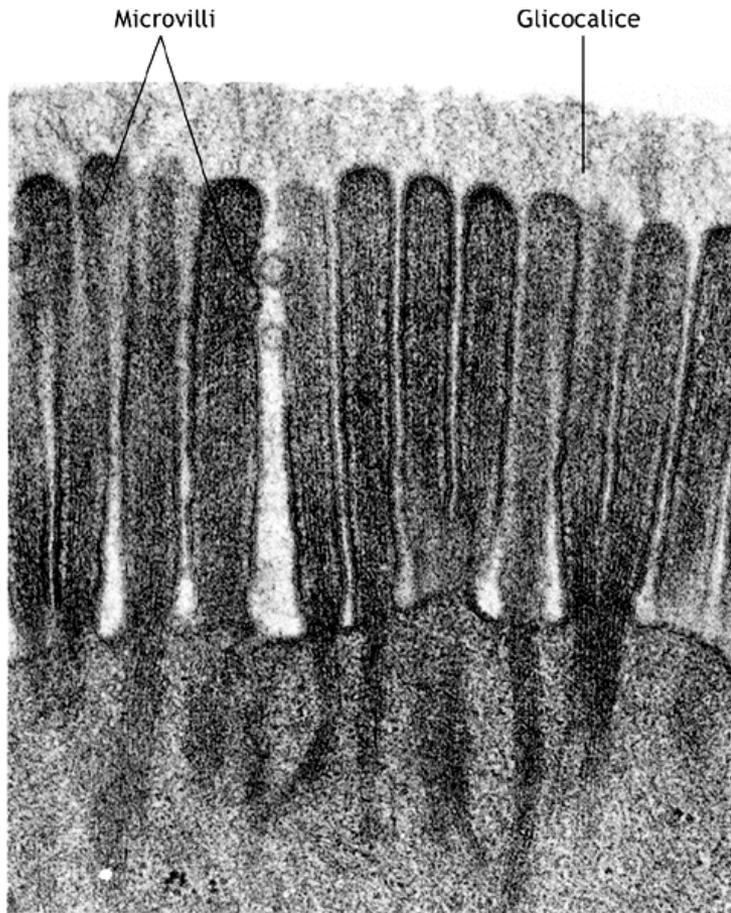
In ogni individuo possono essere presenti solo due alleli di un gene, ma in una popolazione possono essere presenti molti diversi alleli per un gene. Negli esseri umani, il gene che determina il gruppo sanguigno A, B o 0 è un esempio di un gene con **alleli multipli**. I gruppi sanguigni AB0 sono determinati dalle molecole (proteine con zuccheri ad esse legati) presenti sulla superficie delle cellule rosse del sangue umano. Queste molecole forniscono alla cellula una “etichetta” di identità riconosciuta dal sistema immunitario del corpo.



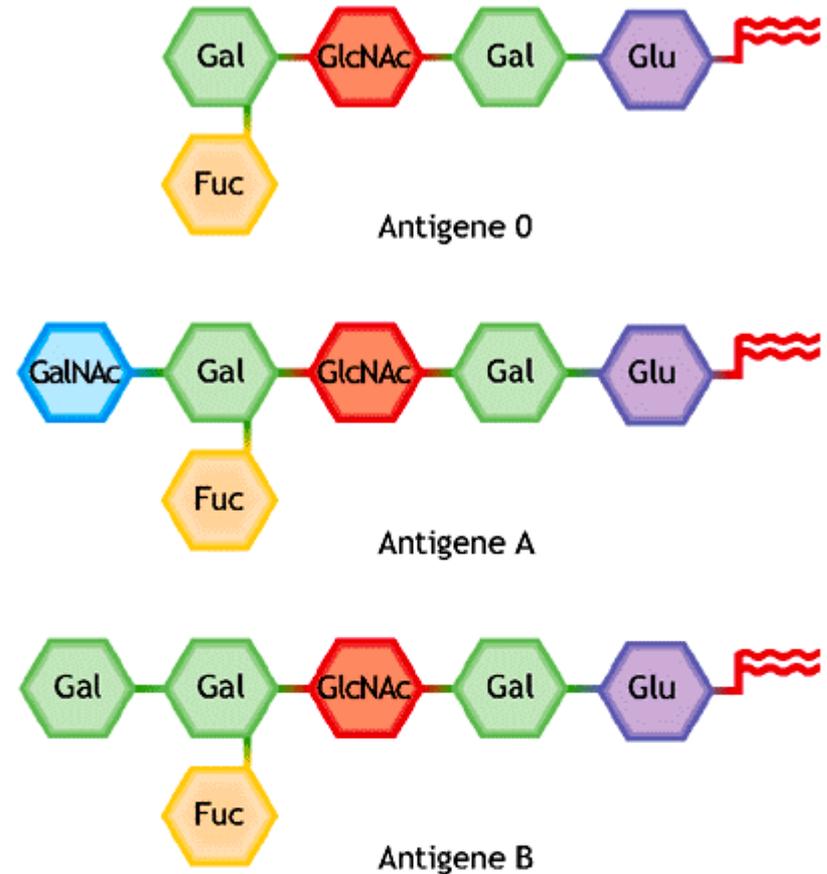
C'è un gene (I) per i gruppi sanguigni AB0, con tre alleli, I^A , I^B e I^O . Gli alleli A e B controllano la formazione di forme leggermente diverse delle molecole (chiamate antigeni) sulla superficie delle cellule del sangue. Dal momento che ci sono 3 alleli, ci sono 6 possibili genotipi.

LE MEMBRANE BIOLOGICHE

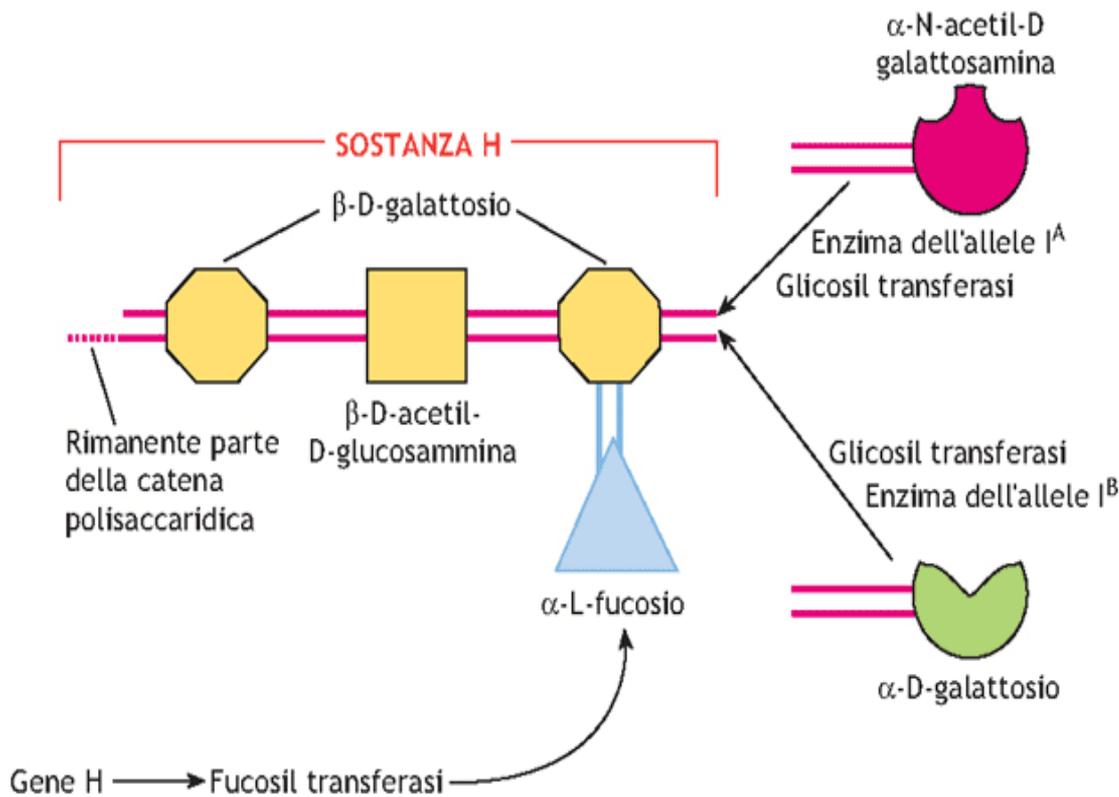
La membrana plasmatica



■ **Figura 2.43** Glicocalice di una cellula dell'epitelio intestinale. Questa micrografia elettronica di una cellula dell'epitelio intestinale di gatto mostra i microvilli (proiezioni digitiformi coinvolte nell'assorbimento) ed il glicocalice sulla superficie cellulare. Il glicocalice di questa cellula ha uno spessore di circa 150 nm ed è costituito principalmente da catene di oligosaccaridi con un diametro di circa 1,2-1,5 nm (TEM).



■ **Figura 2.44** Gli antigeni dei gruppi sanguigni. Il fatto che un individuo abbia sangue di tipo A, B, AB o 0 è determinato da una breve catena oligosaccaridica legata con legame covalente ai lipidi ed alle proteine della membrana degli eritrociti. In questa figura sono illustrati gli oligosaccaridi legati ai lipidi di membrana (che costituiscono un ganglioside) responsabili dei gruppi A, B, 0. Un individuo con sangue tipo AB possiede sia gangliosidi con struttura A che quelli con struttura B. (Gal, galattosio; GlcNAc, N-acetilglucosamina; Glu, glucosio; Fuc, fucosio; GalNAc, N-acetilgalattosamina).



■ **Figura 10.87** Costituzione degli antigeni eritrocitari A e B. Completamento dell'antigene H (sostanza H) per aggiunta al precursore di una molecola di α -L-fucosio ad una di β -D-galattosio; a quest'ultimo è aggiunta, dalla glicosiltransferasi (codificata dal gene I^A) l' α -N-acetil-D-galattosamina convertendo così l'antigene H in A; nel caso invece in cui al β -D-galattosio della sostanza H venga aggiunto l' α -D-galattosio, ad opera di una glicosiltransferasi codificata dal gene I^B , si giunge alla costituzione dell'antigene B.

Variazioni sul tema

Una volta che il lavoro di Mendel divenne ampiamente noto, i genetisti evidenziarono casi in cui i fenotipi della progenie F1 non assomigliavano a quella dei genitori. In alcuni casi, la progenie aveva un fenotipo intermedio a quello dei genitori o un fenotipo in cui erano espressi entrambi i caratteri dei genitori.

Questi casi, tuttavia, non rappresentavano eccezioni all'ereditarietà di Mendel. Infatti, nonostante i fenotipi possano non rispettare i rapporti di Mendel predetti per la dominanza, seguono rapporti predetti per i genotipi.

1. Gli alleli co-dominanti sono pienamente espressi negli eterozigoti

Tipi di sangue AB0	
Genotipi	Fenotipi
$I^A I^A$, $I^A I^0$	Tipo A
$I^B I^B$, $I^B I^0$	Tipo B
$I^A I^B$	Tipo AB
$I^0 I^0$	Tipo 0

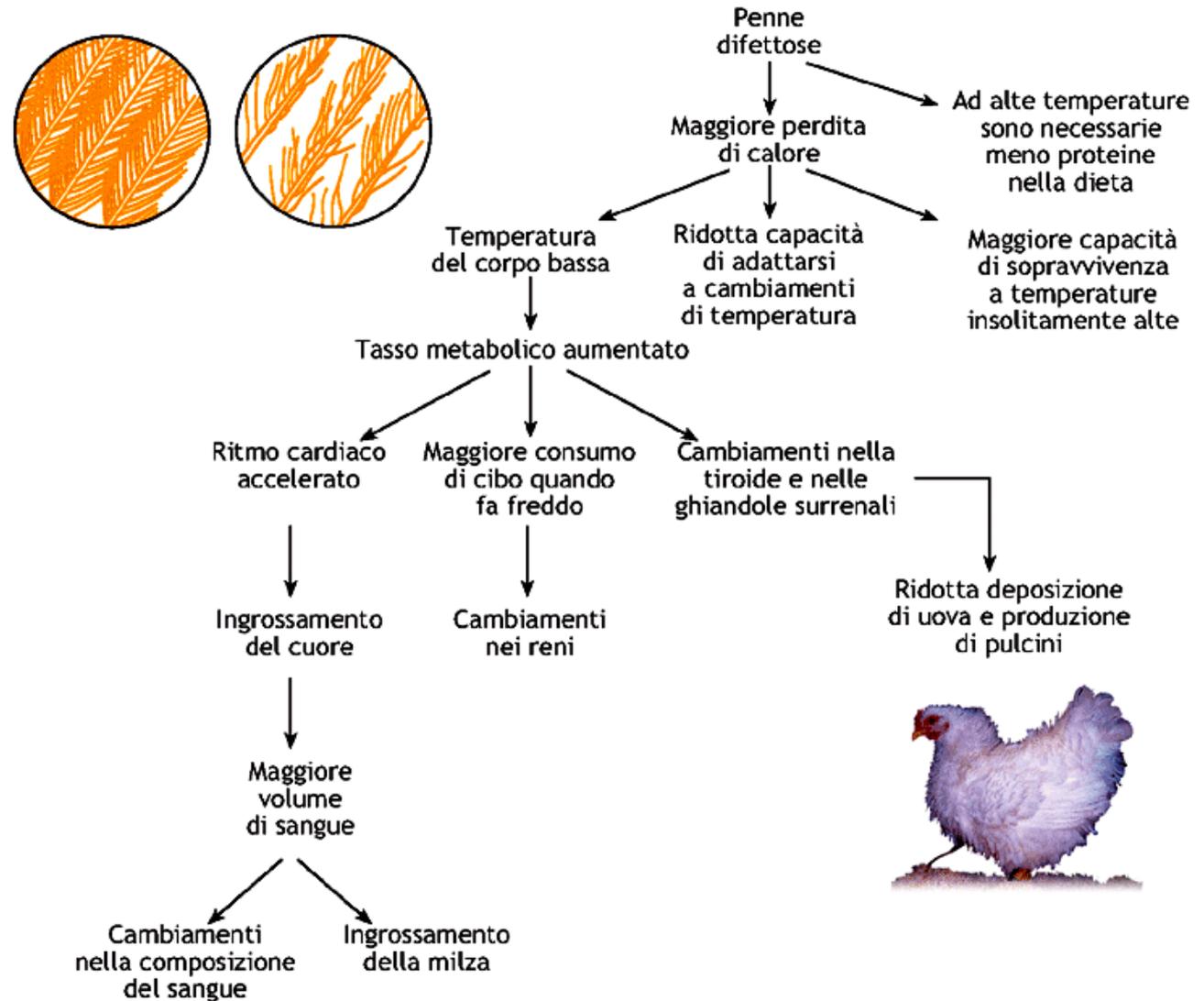
Nei gruppi sanguigni AB0, gli eterozigoti $I^A I^B$ hanno entrambi gli antigeni A e B sulle membrane delle loro cellule e sono di gruppo AB. In questo caso nessun allele è dominante rispetto all'altro. I due alleli sono co-dominanti.

Tabella 13.5. Proprietà dei gruppi sanguigni ABO, Rh e MN

Gruppo sanguigno e genotipo	Antigeni sui globuli rossi	Anticorpi nel sangue	Anticorpi nella saliva ed altri fluidi corporea?
Sistema ABO:			
$I^A I^A$ o $I^A I^O$	A	anti-B	Sì, se secretore (<i>Se/Se</i> o <i>Se/se</i>)
$I^B I^B$ o $I^B I^O$	B	anti-A	Sì, se secretore
$I^A I^B$	A e B	nessuno	No
$I^O I^O$	nessuno	anti-A e anti-B	Sì, se secretore
Sistema Rh			
<i>DD</i>	Rh ⁺	nessuno	
<i>Dd</i>	Rh ⁺	nessuno	
<i>dd</i>	nessuno	anti-Rh ⁺ se esposto all'antigene Rh ⁺	
Sistema MN			
<i>MM</i>	M	nessuno	
<i>MN</i>	M e N	nessuno	
<i>NN</i>	N	nessuno	

La genetica dopo Gregor Mendel

Pleiotropismo



■ **Figura 10.15 Effetto della pleiotropia.** Nei polli, la mutazione nel gene che specifica per la qualità delle penne incide simultaneamente su più caratteri, come la produzione delle uova, la morfologia di alcuni organi, la capacità di adattamento all'ambiente, per cui l'allele ha più di un effetto fenotipico, chiaramente distinguibile.

L'anemia falciforme è un carattere recessivo

Pleiotropismo



Beta-globina anormale

Emoglobina anormale

Globuli rossi a falce

Lisi delle cellule falciformi

Occlusione capillari, Alterazione circolazione

Accumulo cellule falciformi nella milza

anemia

Flusso sanguigno insufficiente per

cuore

muscoli e giunture

tratto gastro-intestinale

cervello

polmoni

reni

Debolezza
Astenia

Scarso sviluppo fisico

Paralisi

Polmonite

Insufficienza renale

Turricefalia

Deficit mentali

Insufficienza cardiaca

Reumatismo

Dolori addominali

Ingrossamento e fibrosi della milza

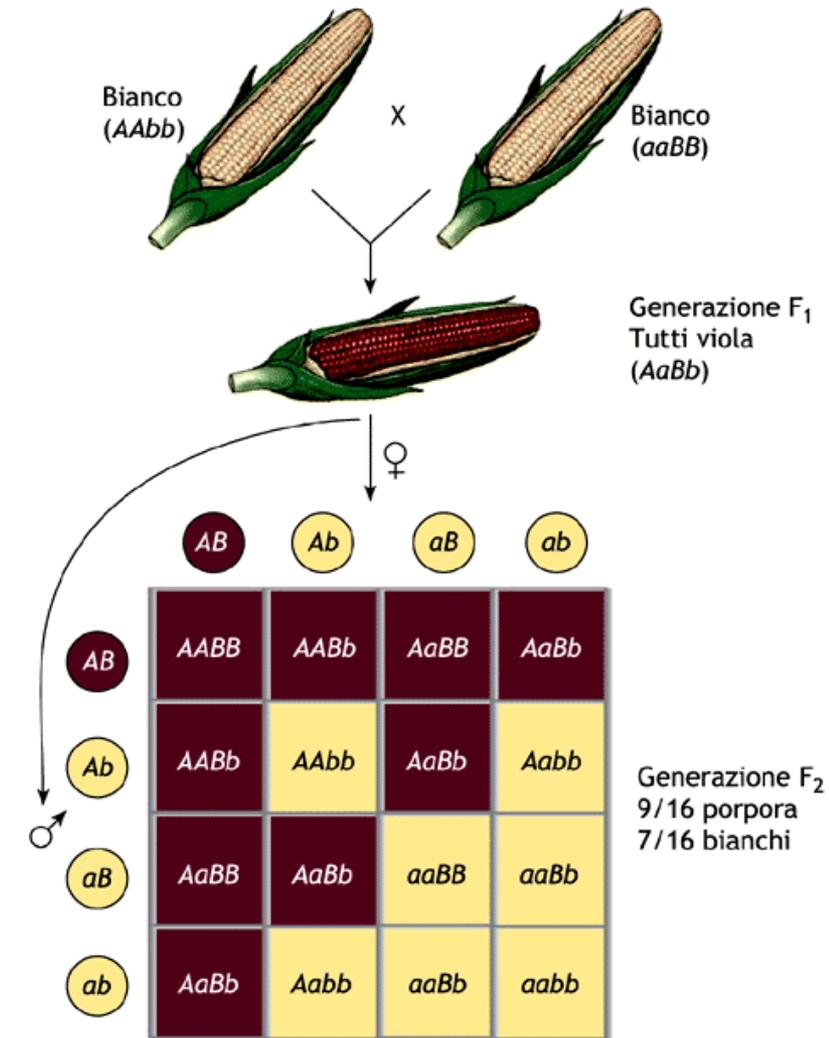
La genetica dopo Gregor Mendel

Epistasi

enzima 1

enzima 2

precursore privo di colore \longrightarrow prodotto intermedio privo di colore \longrightarrow pigmento colore rosso



■ **Figura 10.16 Epistasi e rapporti fenotipici modificati.** Alcune varietà di mais presentano il colore dei semi porpora per la presenza di un pigmento detto antocianina, mentre il colore chiaro dei semi è dovuto alla mancanza di tale pigmento. Il pigmento si produce attraverso due tappe, in cui intervengono i prodotti enzimatici di due geni. A meno che non siano presenti entrambi gli alleli attivi (A-B-), nessun pigmento verrà espresso.

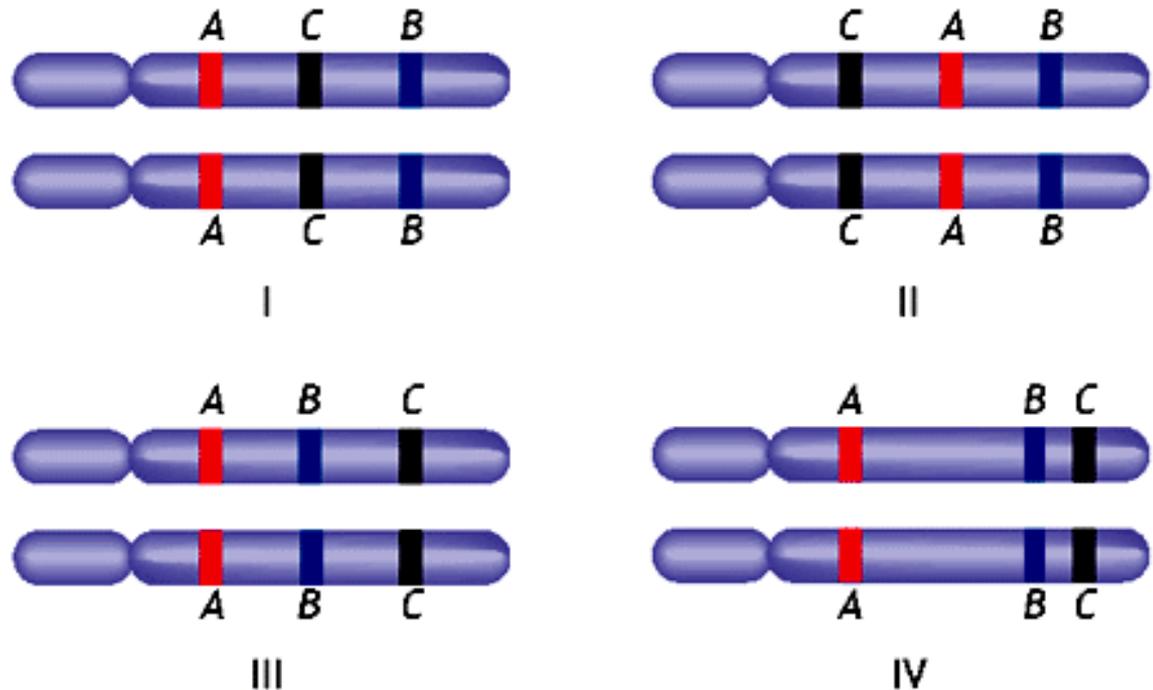
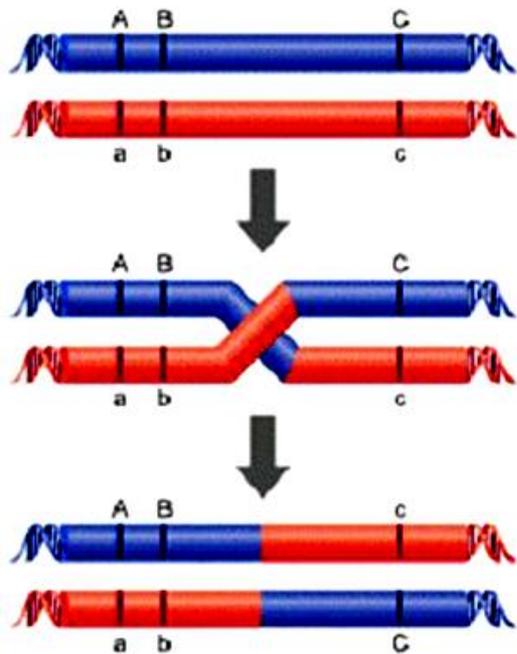
Il linkage genetico

Esperimenti di Morgan

I geni ricombinano con frequenze diverse.

E' stata definita una unità di misura della distanza genetica basata sulla capacità di ricombinazione di due differenti loci, denominata **centimorgan (cM)**: 1 cM è pari alla distanza che intercorre tra due loci che presentano una frequenza di ricombinazione dell'1%.

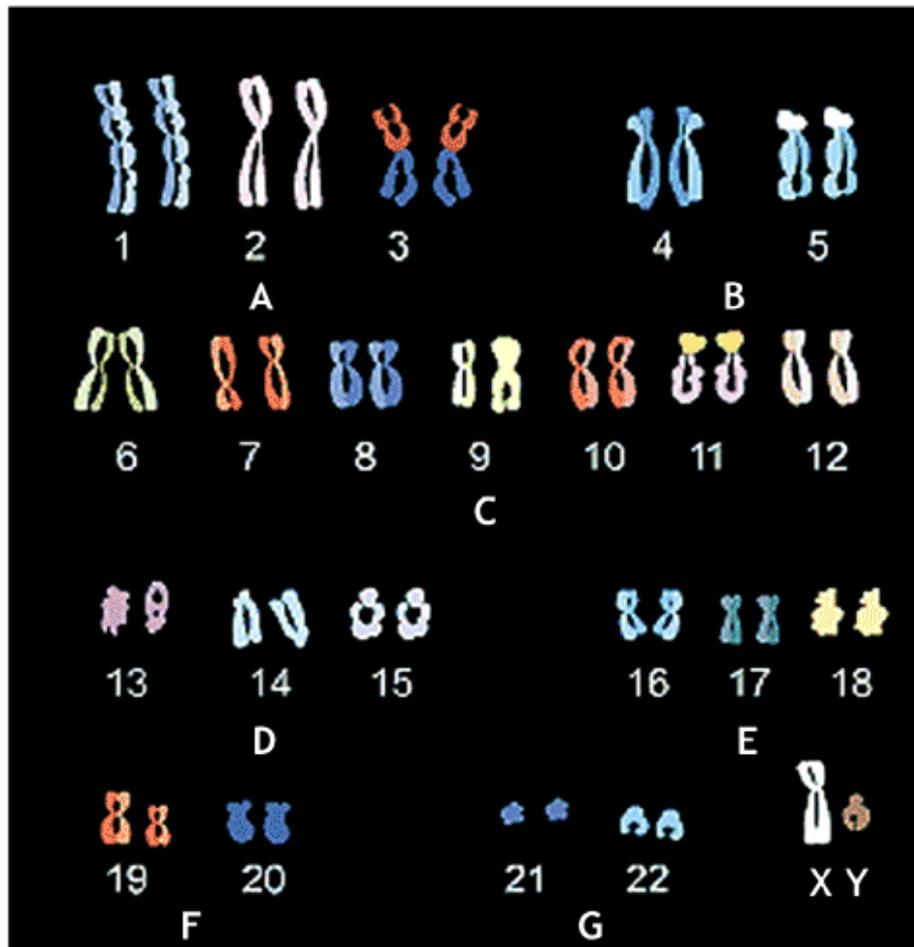
< distanza tra due loci
< frequenza di ricombinazione



■ **Figura 10.24** Costruzione delle mappe genetiche. I cromosomi sono rappresentati come segmenti e la disposizione relativa dei loci è stabilita in funzione delle frequenze di ricombinazione osservate.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Cromosomi e cariotipo



a)



b)

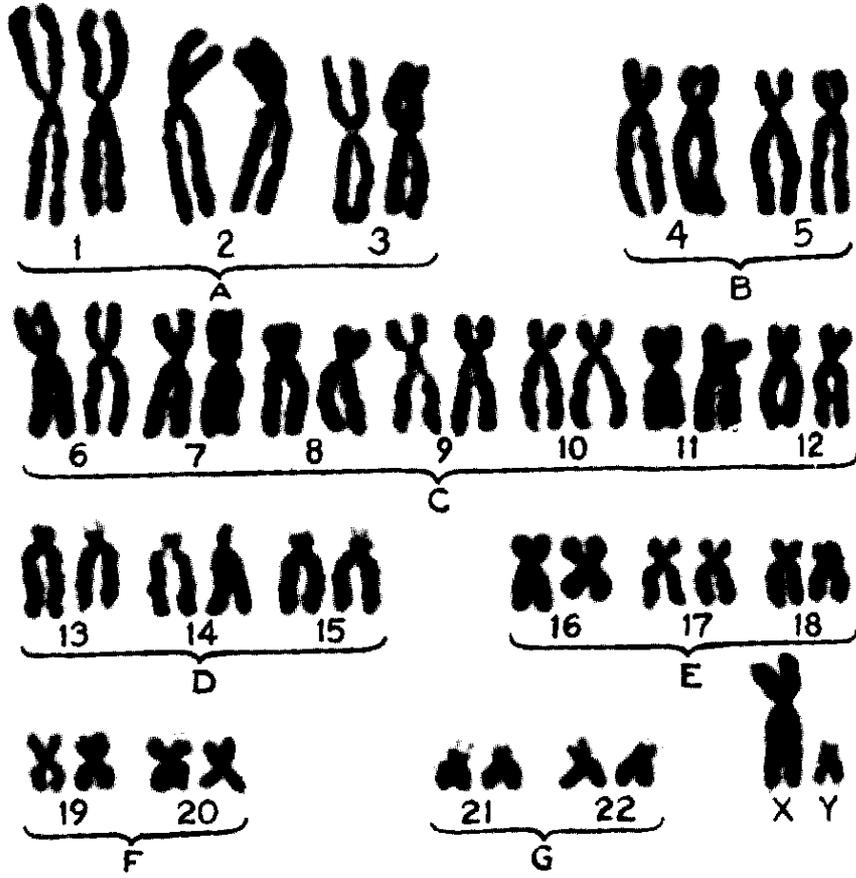
■ **Figura 10.46 Cariotipo.** (a) Micrografia della piastra metafisica di un individuo umano normale, di sesso maschile, con 46 cromosomi; (b) utilizzo di un software per la ricostruzione di un cariotogramma: i cromosomi omologhi vengono appaiati elettronicamente ed ordinati secondo la loro lunghezza.

Il Cariotipo Umano

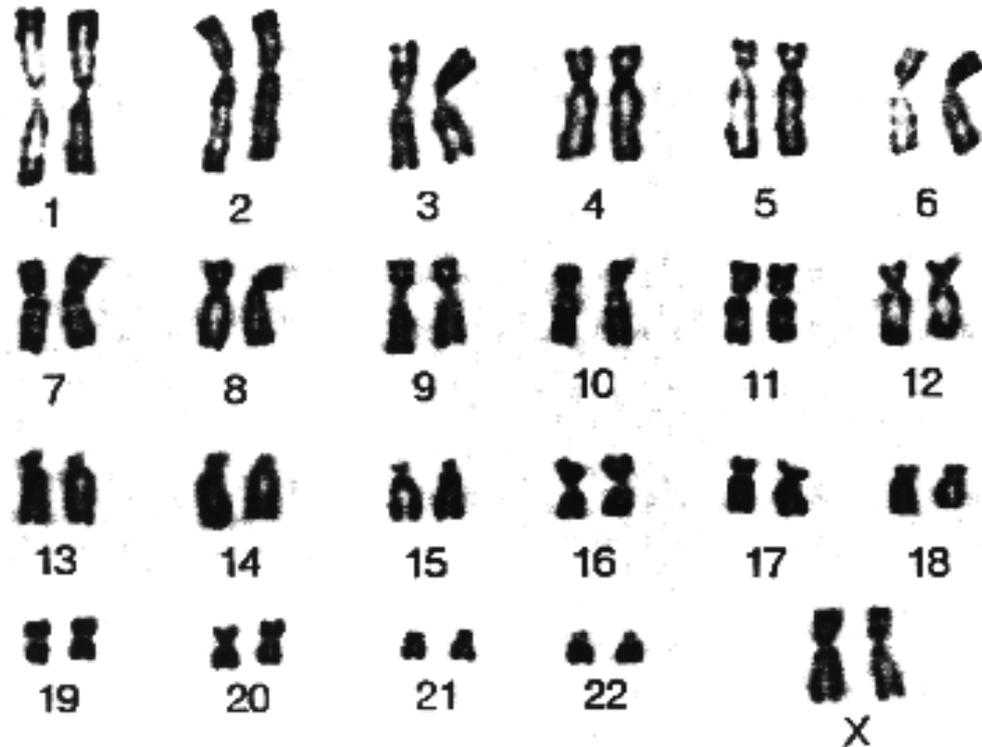
46 cromosomi.

44 autosomi: 22 coppie di cromosomi omologhi

2 cromosomi sessuali



← Il cariotipo normale di un maschio



Il cariotipo normale di una femmina →

DNA e cromosomi

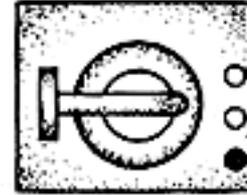
Il cariotipo



Siringa con anticoagulanti



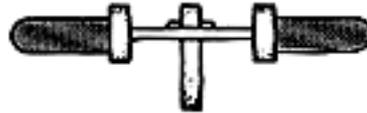
terreno nutritizio con
fitoemoagglutinina



incubazione a 37°C per 2-3 gg.
per far avvenire divisioni cellulari



Aggiunta di una soluzione
a bassa concentrazione salina
(gonfia le cellule e disperde i cromosomi)

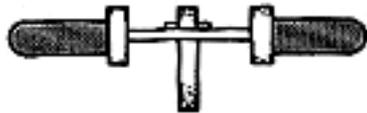


centrifugazione per raccogliere
le cellule e scarto del sovrantante

1 ora e 30'



aggiunta di colchicina



Si pellettizzano le cellule



aggiunta di una miscela
di acido e alcool



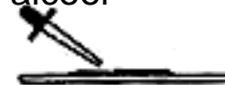
si preleva una goccia
della sospensione



Si osservano i
cromosomi al
microscopio



aggiunta di colorante



si sparge sul vetrino e si fa asciugare

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Cromosomi e cariotipo

Procedura transaddominale per il prelievo del campione

Aspirazione di cellule dei villi coriali

Sonda ecografica

Tecnica di prelievo del campione per via cervicale

Catetere

Siringa

Aspirazione di cellule di villi coriali

Villi coriali

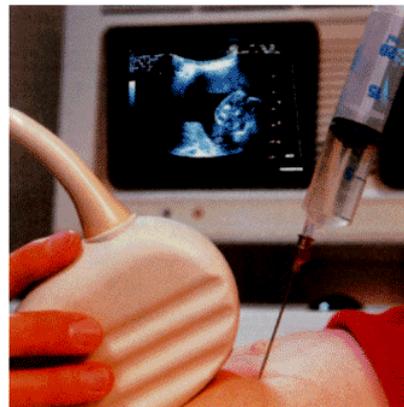
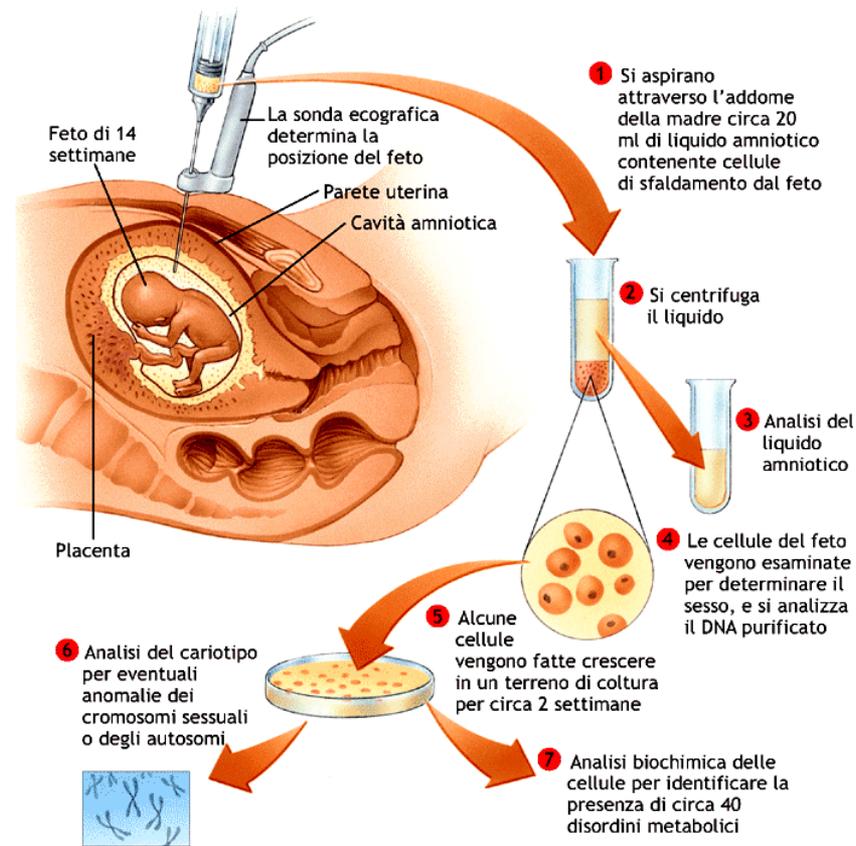
Catetere

Le cellule sono messe in coltura; si eseguono test biochimici e la cariotipizzazione

■ **Figura 10.47** **Tecnica di prelievo dei villi coriali.** Attraverso la vagina viene introdotto in utero un catetere con il quale è possibile prelevare un campione di cellule fetali dal corion.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Cromosomi e cariotipo

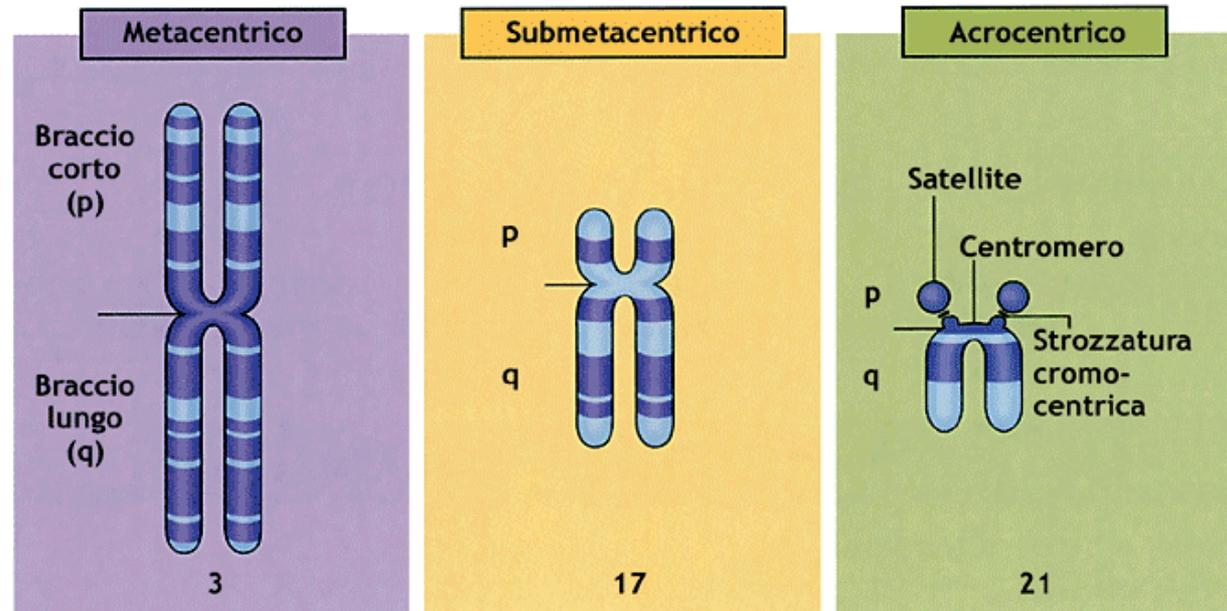


■ **Figura 10.48 Amniocentesi.** La procedura prevede l'inserimento di un ago, attraverso le pareti addominale ed uterina, con il quale è possibile aspirare un campione di liquido amniotico da cui si possono selezionare cellule fetali che, coltivate ed espanse opportunamente, consentiranno le analisi programmate.

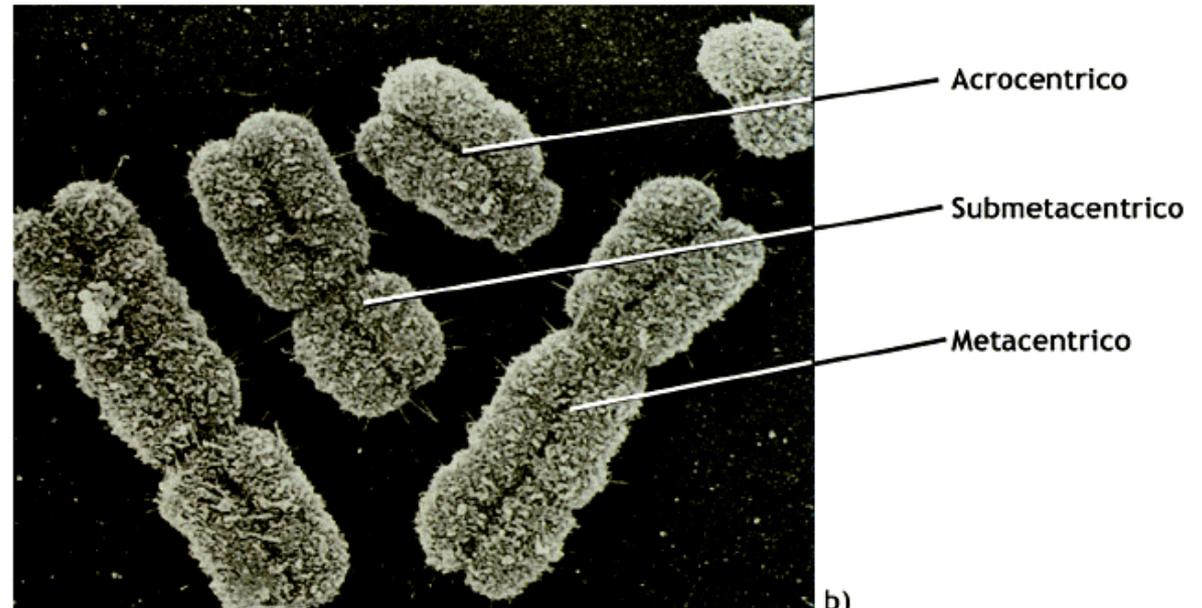
La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Cromosomi e cariotipo

Figura 10.49 Classificazione generale dei cromosomi basata sulla posizione del centromero. (a) Rappresentazione schematica dei tre tipi di cromosoma; (b) immagine microscopica di una piastra metafasica che mostra gli stessi tipi di cromosomi.



a)



b)

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Cromosomi e cariotipo

Tecnica di bandeggio

Bandeggio G-I cromosomi metafasici vengono sottoposti ad una parziale digestione delle proteine, quindi colorate con un colorante Giemsa e osservati al microscopio

Bandeggio Q-I cromosomi metafasici vengono sottoposti a trattamento con la mostarda chimica quinacrina. Il bandeggio fluorescente viene osservato con un microscopio speciale a luce ultravioletta

Bandeggio R-I cromosomi metafasici vengono sottoposti ad alte temperature per ottenere una parziale denaturazione del DNA e quindi colorati con Giemsa e osservati al microscopio

Bandeggio C-I cromosomi metafasici vengono trattati chimicamente in modo che il DNA venga estratto dai bracci ma non dal centomero. Segue colorazione con Giemsa ed osservazione al microscopio

Aspetto dei cromosomi



Le bande G sono colorate di scuro



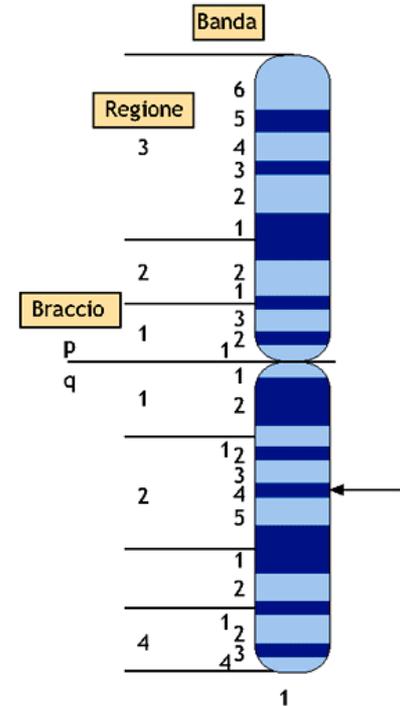
Le bande che si colorano di scuro con il bandeggio G, emettono fluorescenza quando esposte a luce ultravioletta



Le bande scure corrispondono alle bande chiare del bandeggio G



Si colora di scuro il centromero che corrisponde ad una regione di eterocromatina costitutiva

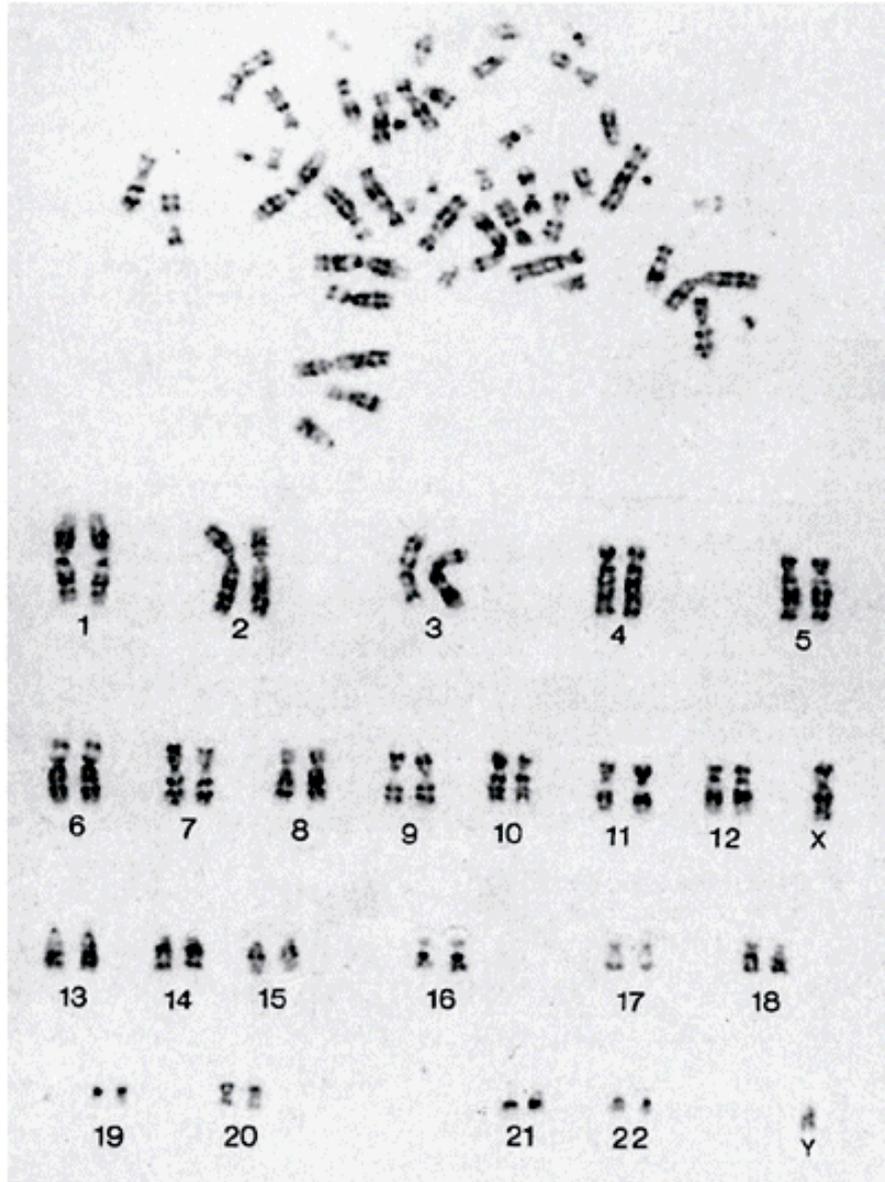


■ **Figura 10.51** Rappresentazione di un cromosoma umano (n. 1). Si evidenziano centromero, braccio corto (p) e lungo (q), regioni e relative bande numerate; come esempio la freccia indica il locus 1q2.4 cioè posizionato sul cromosoma 1, braccio lungo, regione 2, banda 4.

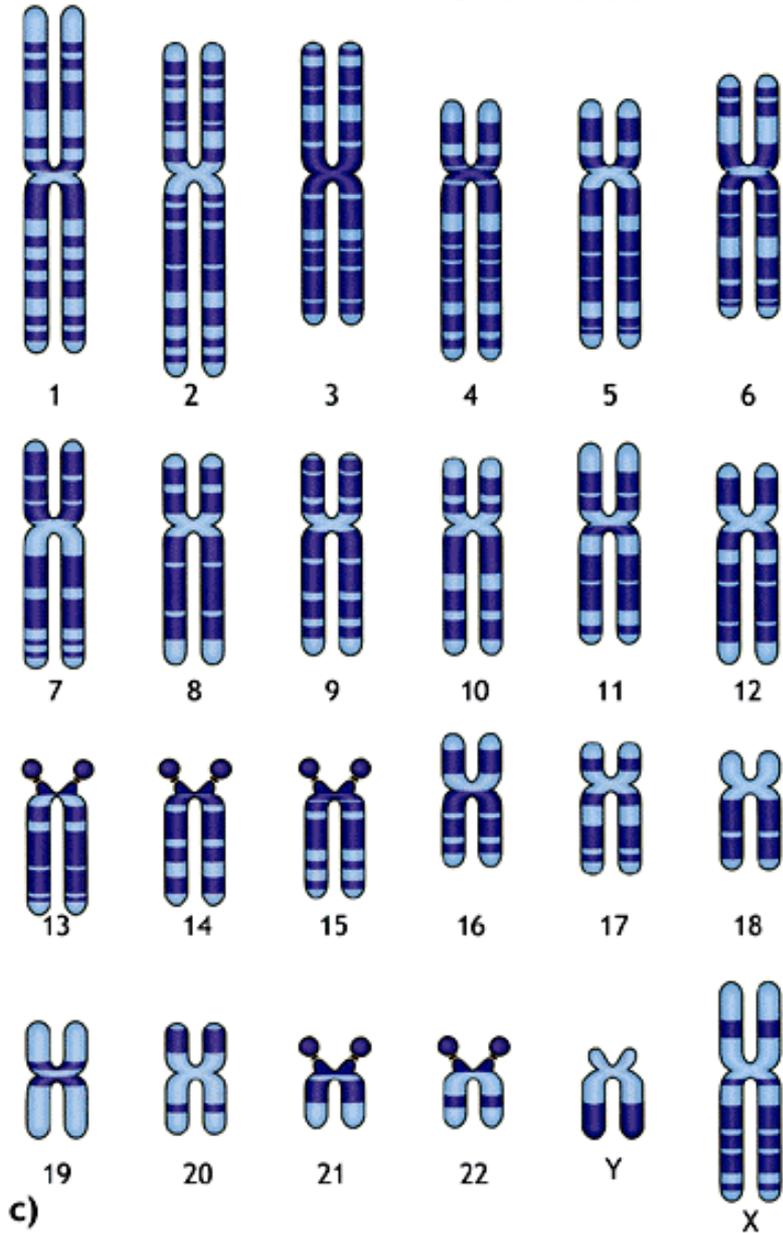
■ **Figura 10.50** Bandeggio dei cromosomi. (a) Rappresentazione delle usuali procedure di colorazione dei cromosomi per la preparazione dei cariotipi. (b) Cromosomi umani colorati con Giemsa: in evidenza le bande G. (c) Rappresentazione schematica dell'ideogramma con bande G.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Cromosomi e cariotipo

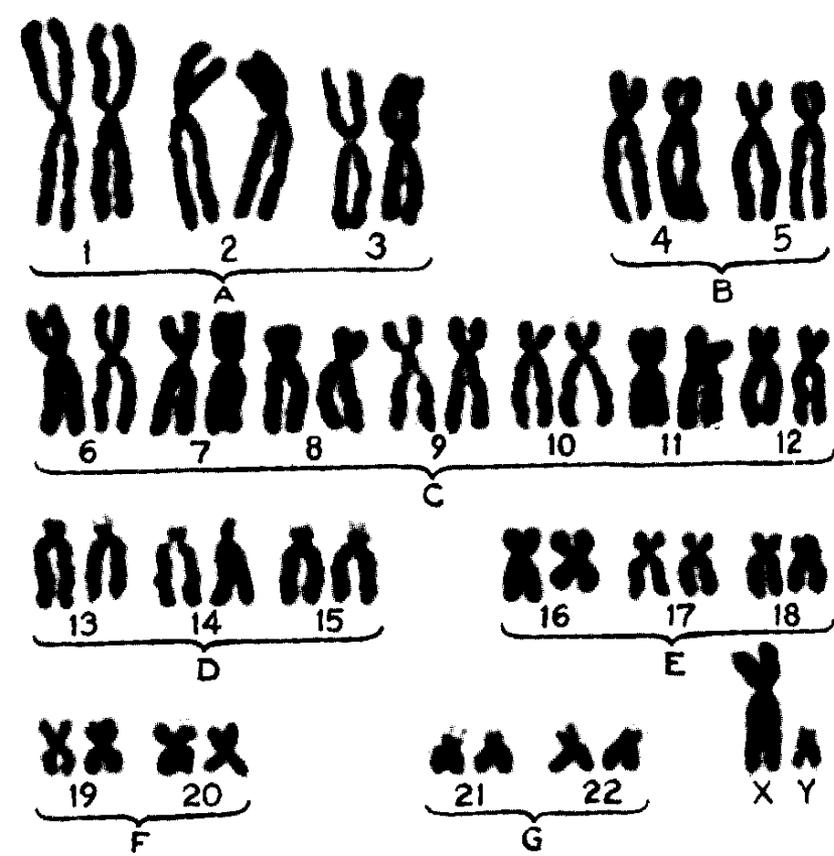


b)

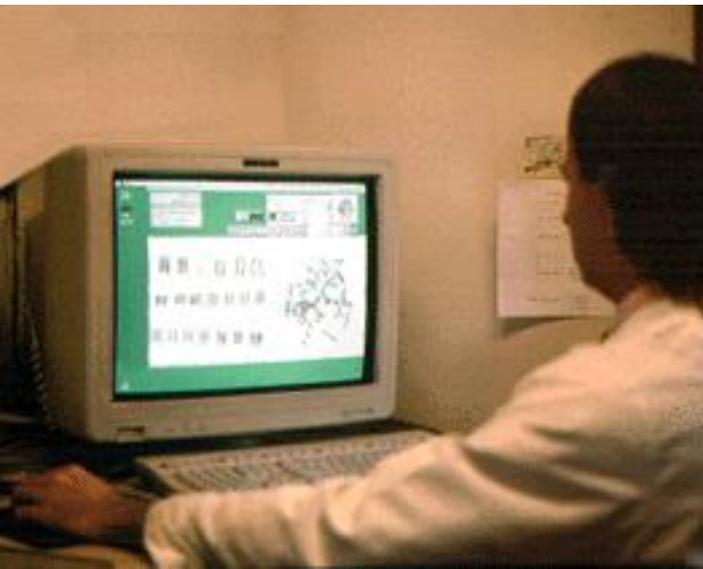


c)

DNA e cromosomi: Il cariotipo

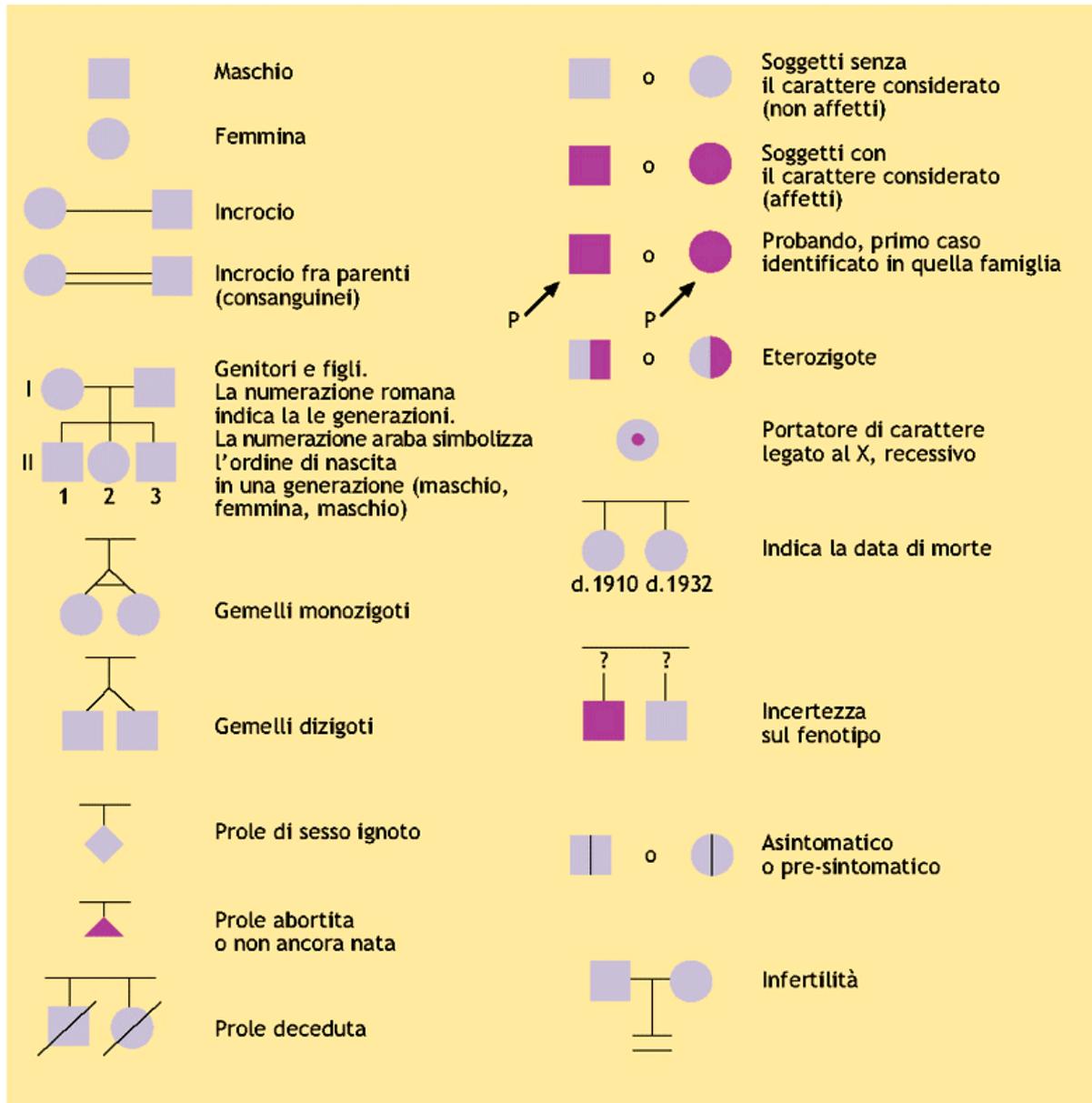


Gruppo	Numerazione	Caratteristiche distintive
A	da 1 a 3	Grandi metacentrici
B	4 e 5	Grandi submetacentrici
C	da 6 a 12 più l'X	Medi submetacentrici
D	da 13 a 15	Medi acrocentrici
E	da 16 a 18	Medi submetacentrici, più piccoli del gruppo C
F	19 e 20	Piccoli metacentrici
G	21 e 22 più Y	Piccoli acrocentrici



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Studio dei caratteri ereditari umani



■ **Figura 10.52** Simboli internazionali utilizzati per la stesura degli alberi genealogici.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Studio dei caratteri ereditari umani

NCBI

OMIM

Online Mendelian Inheritance in Man

Johns Hopkins University

PubMed Nucleotide Protein Genome Structure ExpSet Taxonomy OMIM

Search for

Limits Preview/Index History Clipboard Details

Entrez

OMIM
Search OMIM
Search Gene Map
Search Morbid Map

Help
OMIM Help
How to Link

FAQ
Numbering System
Symbols
How to Print
Citing OMIM
Download

OMIM Facts
Statistics
Update Log
Restrictions on Use

Allied Resources
Genetic Alliance
Databases
HGMD
Locus-Specific
Model Organisms
MitoMap
Phenotype
Davis Human/Mouse
Homology Maps
Coriell
The Jackson Laboratory
Human Gene
Nomenclature

Human Genome Resources
Genes and Disease
LocusLink
Map Viewer
Sequencing Progress

- Enter one or more search terms.
- Use **Limits** to restrict your search by search field, chromosome, and other criteria.
- Use **Index** to browse terms found in OMIM records.
- Use **History** to retrieve records from previous searches, or to combine searches.

OMIM™ - Online Mendelian Inheritance in Man™

NEW OMIM is now incorporated into NCBI's Entrez system and can be queried using the same approach as the other Entrez databases such as PubMed and GenBank. The previous OMIM pages are still available [here](#).

Welcome to OMIM, Online Mendelian Inheritance in Man. This database is a catalog of human genes and genetic disorders authored and edited by Dr. Victor A. McKusick and his colleagues at Johns Hopkins and elsewhere, and developed for the World Wide Web by NCBI, the National Center for Biotechnology Information. The database contains textual information and references. It also contains copious links to MEDLINE and sequence records in the Entrez system, and links to additional related resources at NCBI and elsewhere.

You can do a search by entering one or more terms in the text box above. Advanced search options are accessible via the Limits, Preview/Index, History, and Clipboard options in the grey bar beneath the text box. The [OMIM help](#) document provides additional information and examples of basic and advanced searches.

The links to the left provide further technical information, searching options, frequently asked questions ([FAQ](#)), and information on allied resources. To return to this page, click on the OMIM link in the black header bar or on the graphic at the top of any OMIM page.

NOTE: OMIM is intended for use primarily by physicians and other professionals concerned with genetic disorders, by genetics researchers, and by advanced students in science and medicine. While the OMIM database is open to the public, users seeking information about a personal medical or genetic condition are urged to consult with a qualified physician for diagnosis and for answers to personal questions.

OMIM™ and Online Mendelian Inheritance in Man™ are trademarks of the Johns Hopkins University.

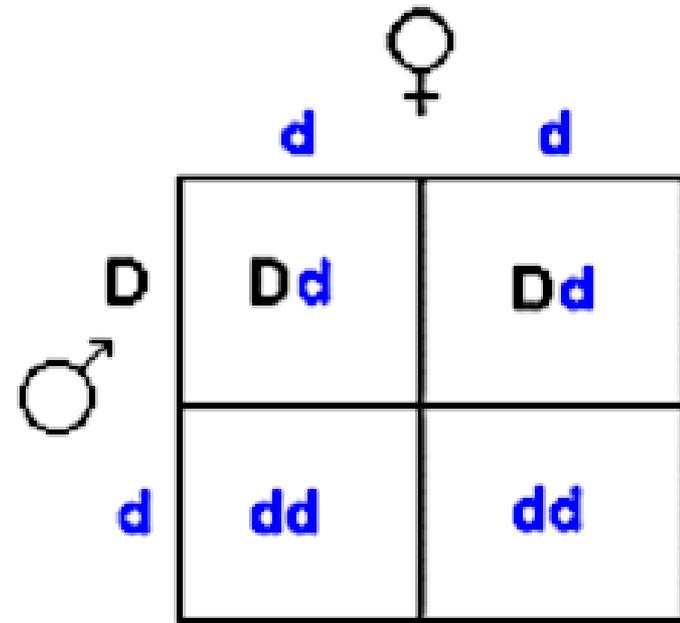
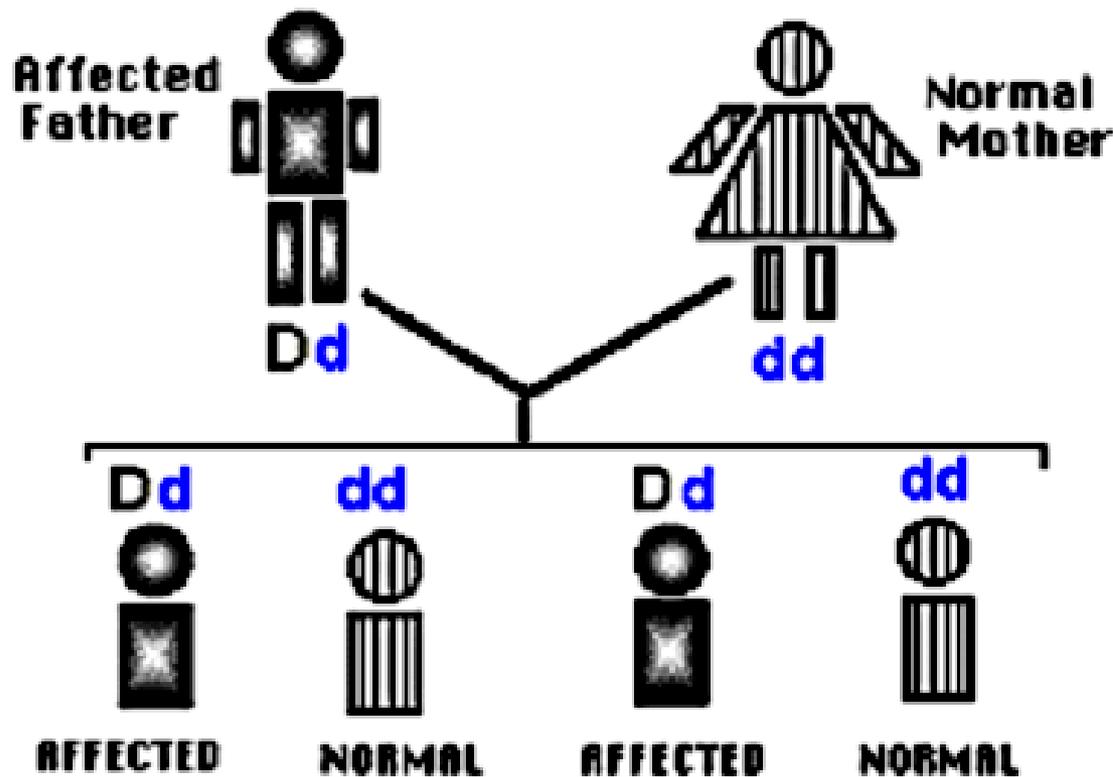
■ **Figura 10.53** OMIM. Schermata della home page della banca dati internazionale OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) che contiene le fondamentali informazioni sulle patologie ereditarie umane.

Trasmissione mendeliana dei caratteri ereditari: trasmissione autosomica dominante

Tabella. Alcuni caratteri autosomici dominanti

Carattere	Fenotipo	Numero MIM/OMIM
Acondroplasia	Nanismo associato a difetti nelle regioni di crescita delle ossa lunghe	100800
Brachidattilia	Mani malformate con dita corte	112500
Camptodattilia	Mignoli rigidi e permanentemente piegati	114200
Sindrome di Crouzon	Sviluppo alterato della parte mediana del viso, con occhi protrudenti e naso aquilino	123500
Sindrome di Ehlers-Danlos	Alterazione del tessuto connettivo, cute elastica, articolazioni rilasciate	130000
Ipercolesterolemia familiare	Livelli elevati di colesterolo; predispone alla formazione di placche e patologie cardiache. E' la malattia genetica più diffusa	144010
Rene policistico nell'adulto	Formazioni di cisti nei reni; porta ad ipertensione e insufficienza renale	173900
Malattia di Huntington	Degenerazione progressiva del sistema nervoso; demenza; morte precoce	143100
Ipercalcemia	Livelli elevati di calcio nel sangue	143880
Sindrome di Marfan	Difetto del tessuto connettivo; morte per rottura dell'aorta	154700
Sindrome unghia-rotula	Assenza di unghie e di rotule del ginocchio	161200
Porfiria	Incapacità di metabolizzare le porfirine; episodi di disturbi mentali	176200

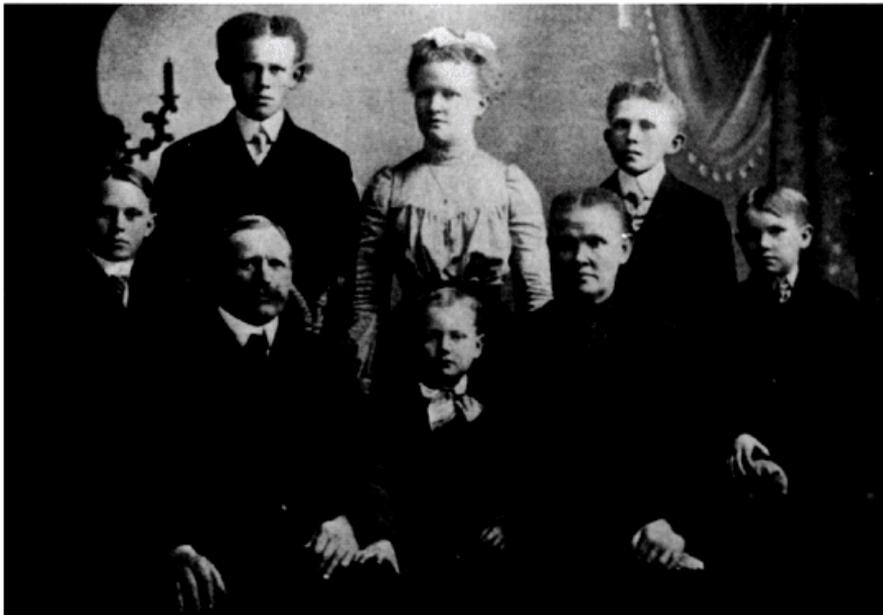
Dominant inheritance



1. Ogni individuo colpito ha almeno un genitore affetto. L'eccezione riguarda una mutazione che insorge ex-novo.
2. Dal momento che la maggior parte degli individui colpiti è eterozigote e si accoppia con individui non affetti (omozigoti recessivi) c'è il 50% di possibilità di trasmettere il carattere ad un figlio.
3. Essendo ogni carattere autosomico, gli uomini e le donne vengono colpiti nelle stesse proporzioni.
4. Due individui colpiti potrebbero avere figli non affetti, perché la maggior parte degli individui colpiti è eterozigote.
5. Negli individui omozigoti dominanti, il fenotipo è spesso più grave che negli eterozigoti.

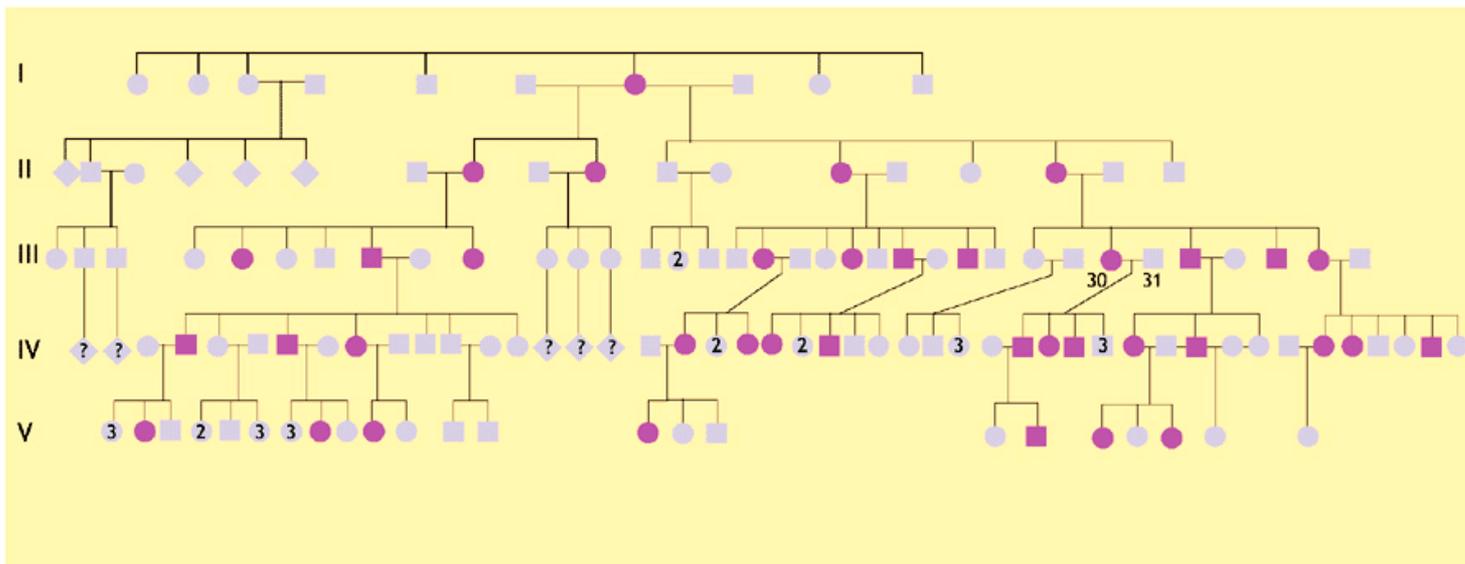
La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante



a)

■ **Figura 10.54** Trasmissione ereditaria autosomica dominante. (a) Foto di una famiglia norvegese nella quale è presente il carattere “capelli lanosi”. (b) Albero genealogico: tipicamente il carattere è presente in tutte le generazioni con pari frequenza nei maschi e nelle femmine ed è trasmesso da soggetti di entrambi i sessi. L'albero appare significativo per la sua estensione e tipicità, anche perché il capostipite (I7) ha rapporti di I e II letto che producono due distinte famiglie con analoga distribuzione del carattere.



b)

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante: Ipercolesterolemia familiare

- Colpisce 1/500 individui.
- Caratterizzata da colesterolemia elevata (300-600 mg/dl. Normale è 220 mg/dl) e con colesteroliipoproteine a bassa densità (LDL, low-density lipoprotein) a livelli superiori a 200 mg/dl. Circa il 50 % degli adulti affetti presenta depositi di colesterolo (xantomi) nei tendini estensori, tipicamente una assottigliamento del tendine di Achille, e gli xantelasma, depositi giallastri di grasso sulle palpebre.
- Vanno incontro a malattia cardiovascolare aterosclerotica ad insorgenza precoce.

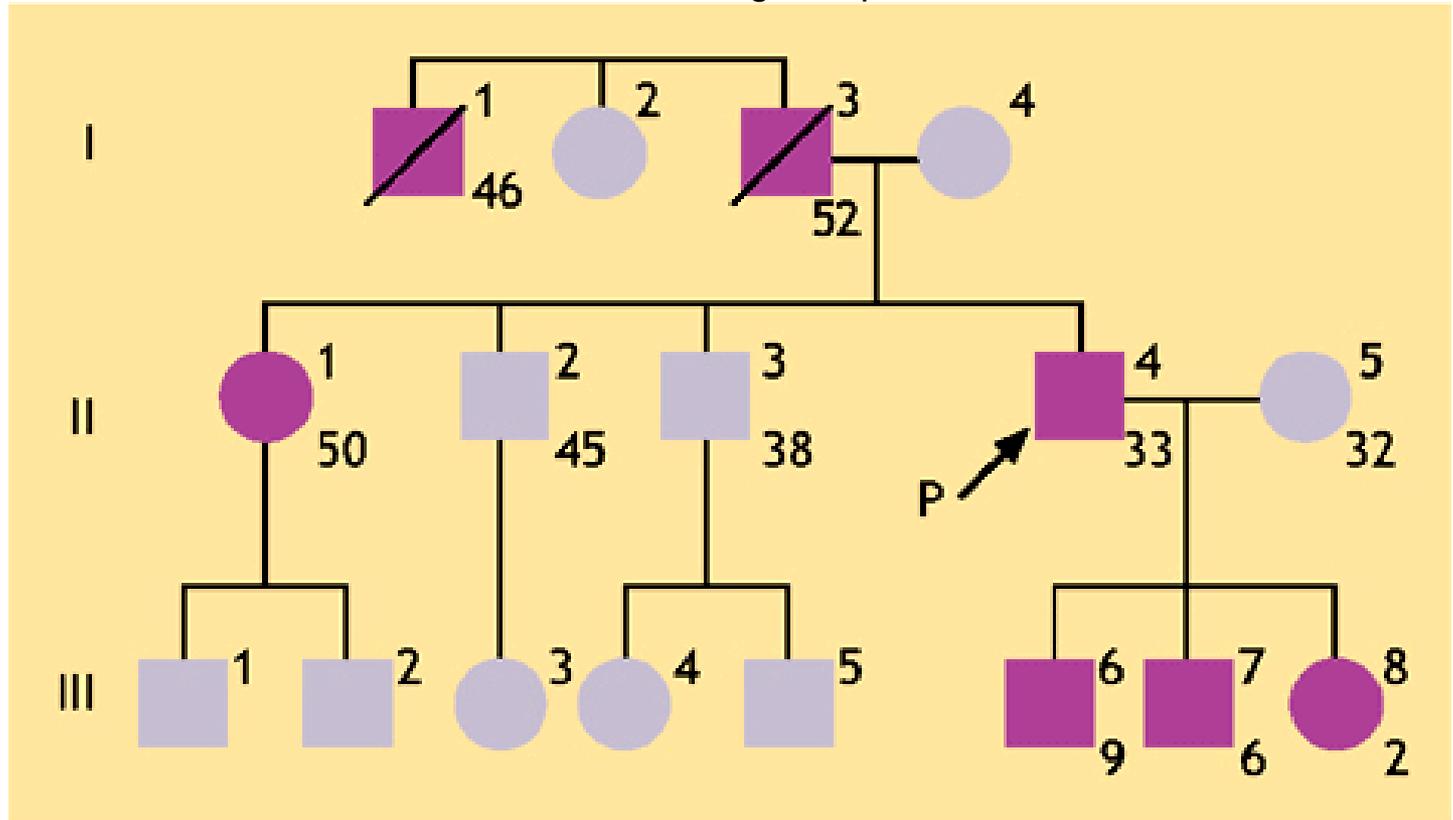


Figura 10.55 Albero genealogico di una famiglia con ipercolesterolemia familiare, malattia autosomica dominante.

L'ereditarietà mendeliana

Si definiscono **malattie mendeliane** quelle causate dalla **mutazione di un singolo gene** che ha un notevole effetto sul fenotipo e che sono ereditate in modo semplice simile o identico a quello descritto da Mendel per alcune caratteristiche individuali dei piselli da giardino.

L'ereditarietà mendeliana

Le malattie mendeliane sono:

1. **autosomiche**: se i geni coinvolti si trovano su una delle 22 coppie di cromosomi autosomi.
2. **X-linked**: se i geni coinvolti si trovano sul cromosoma X

Seguendo Mendel, definiamo **dominanti** quelle condizioni che sono espresse negli eterozigoti, cioè soggetti che hanno una copia di un allele normale, o selvatico, e **recessive** quelle condizioni che divengono clinicamente manifeste solo in individui omozigoti per l'allele mutante, cioè individui con una doppia dose di un gene anormale.

Occorre sottolineare che **dominanza e recessività si riferiscono ai caratteri**, o fenotipi e non ai geni. Sebbene qualche volta si parli di geni dominanti e recessivi, si tratta di una semplificazione e dobbiamo ricordare che ci riferiamo in realtà ai caratteri.

Ereditarietà mendeliana

Sino ad ora sono stati catalogati più di 5000 fenotipi umani, ereditati in maniera mendeliana. Più della metà sono tratti **autosomici dominanti**, il **36%** sono **autosomici recessivi** e **meno del 10%** sono **X-linked**.

Di questi 5000 caratteri, circa 4000 sono associati a malattie umane. Per quasi 600 di questi sono state identificate una o più mutazioni responsabili della malattia.

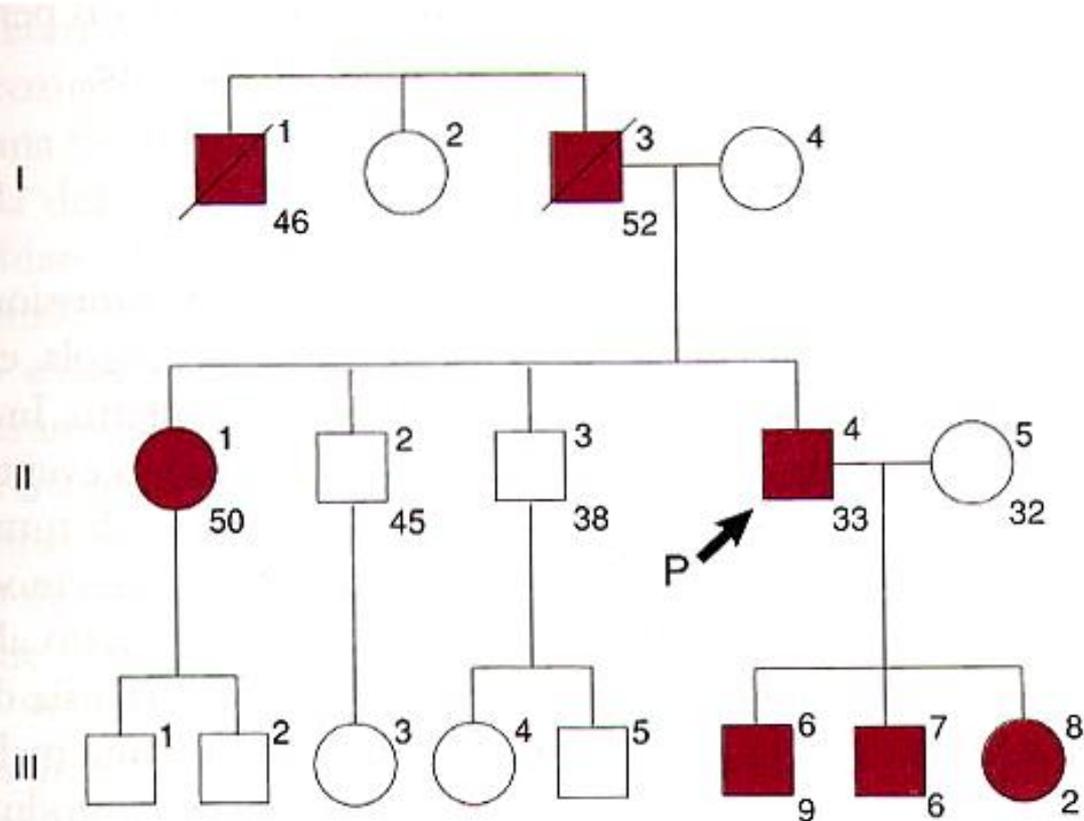
I modelli di trasmissione della maggior parte dei tratti mendeliani sono stati dedotti dalla segregazione (trasmissione) di questi tratti all'interno delle famiglie.

Questa informazione è espressa nella forma di un **pedigree**, termine derivato dal francese "pied de grue" o piede di gru, dal modo con cui si ramifica il diagramma.

Ereditarietà autosomica dominante

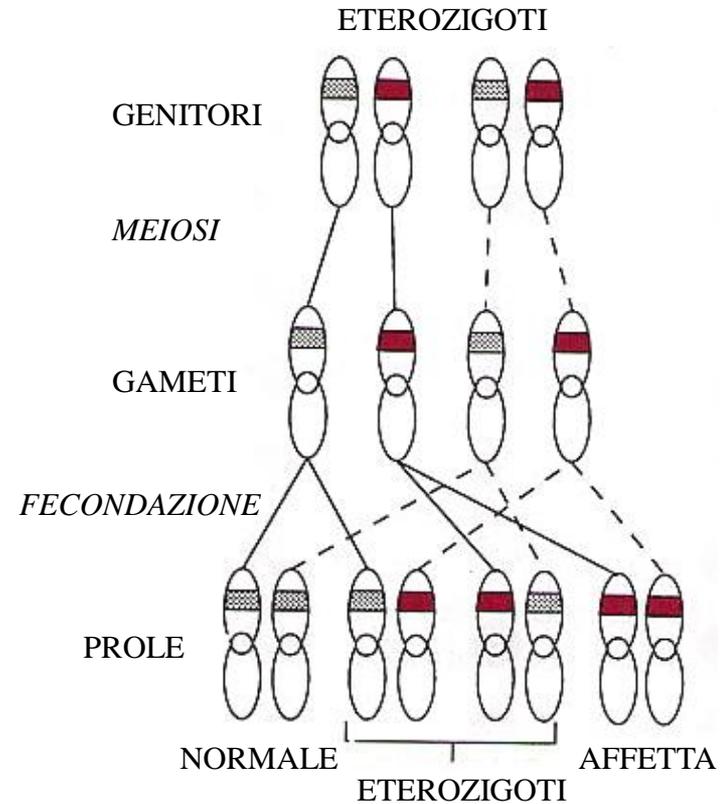
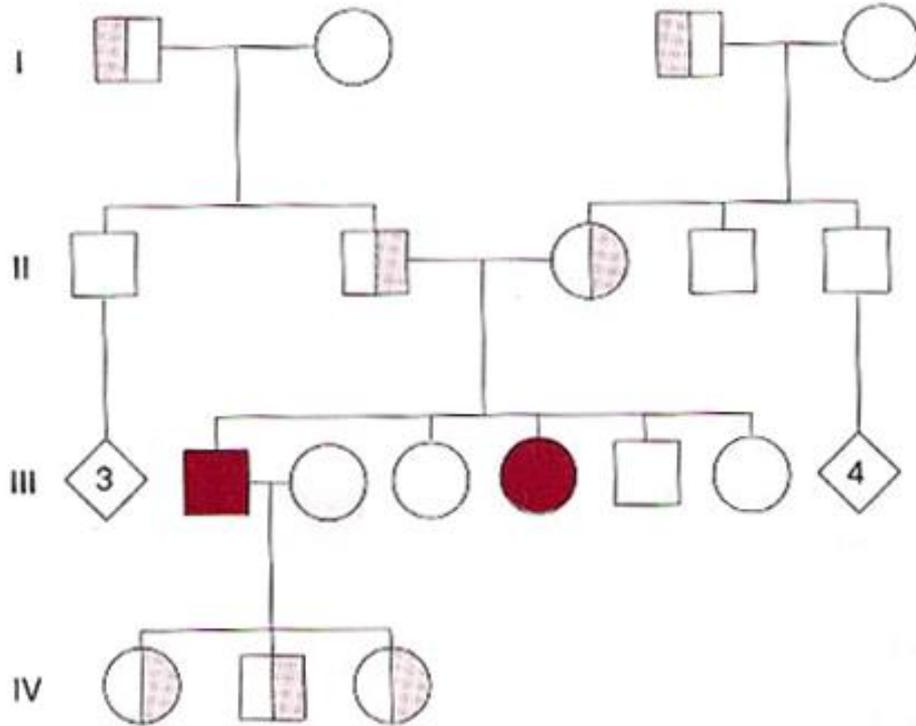
Le malattie autosomiche dominanti comprendono molte tra le più gravi e più comuni malattie genetiche dell'adulto, compresa l'ipercolesterolemia familiare, il tumore ereditario del colon, il rene policistico, la malattia di Huntington e la neurofibromatosi.

Il pedigree di una famiglia con ipercolesterolemia familiare autosomica dominante

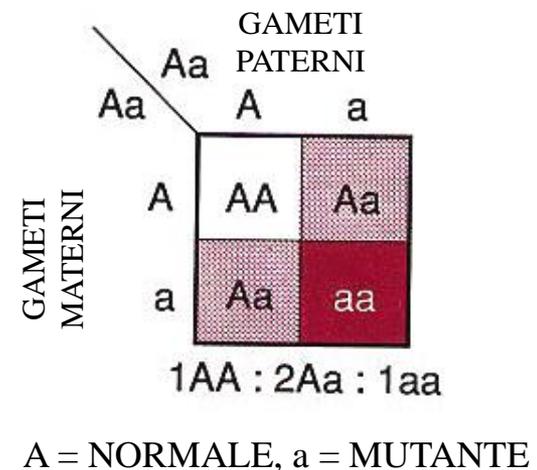


Ereditarietà autosomica recessiva

Anemia falciforme, malattia di Tay-Sachs,
Fibrosi cistica



Le malattie autosomiche recessive sono caratterizzate da manifestazioni cliniche soltanto negli individui omozigoti per il gene mutante. Il pedigree tipico è orizzontale in quanto gli individui affetti tendono a rimanere limitati ad una singola fratria e la malattia non si presenta nelle generazioni successive. i maschi e le femmine sono affetti con uguale probabilità.

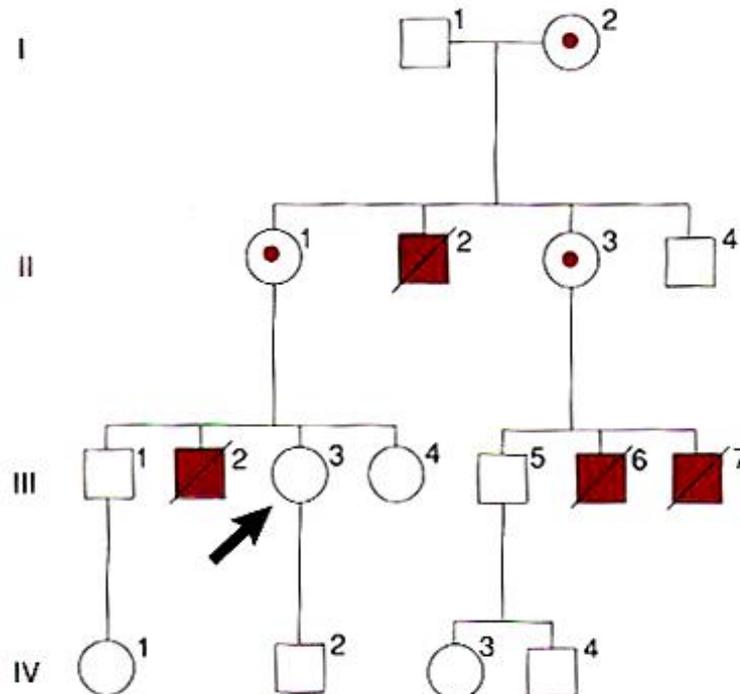


Ereditarietà X-linked

Le malattie X-linked sono provocate da geni mutanti sul cromosoma X. I geni mutanti X-linked sono completamente espressi nei maschi che hanno un solo cromosoma X e sono quindi **emizigoti** per i geni X-linked.

Una malattia prodotta da un gene mutante X-linked può essere o non essere espressa clinicamente nelle femmine eterozigoti (**fenomeno della lyonizzazione**). Le malattie che raramente hanno una espressione clinica nelle femmine eterozigoti sono **X-linked recessive**.

Tipiche malattie X-linked recessive sono l'emofilia A e la distrofia muscolare di Duchenne



Il pedigree di una famiglia con la distrofia muscolare di Duchenne

Le femmine sono portatrici obbligate

Ereditarietà X-linked

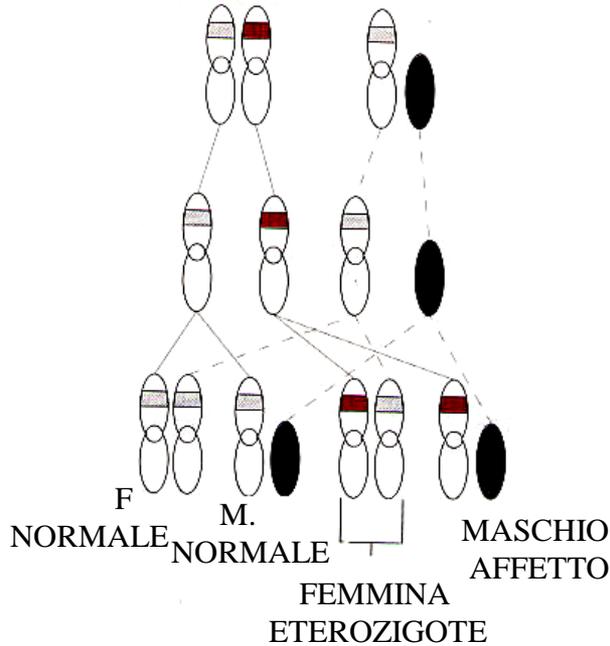
L'ereditarietà X-linked può essere meglio compresa seguendo il cromosoma X.

L'incrocio più comune è tra una donna portatrice eterozigote e un uomo normale

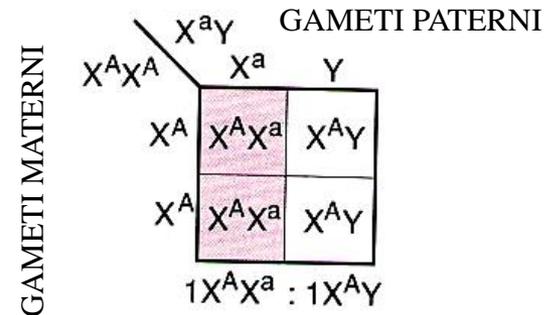
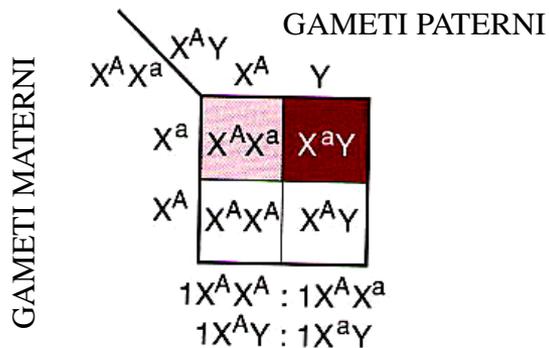
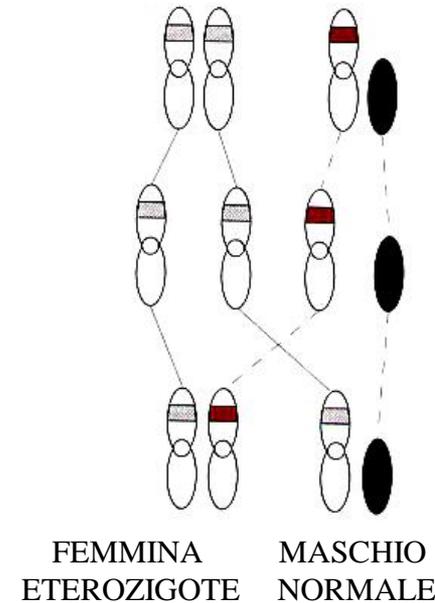
Un secondo incrocio tipico è tra un uomo affetto e una donna omozigote normale.

A. FEMMINA ETEROZIGOTE MASCHIO NORMALE

B. FEMMINA NORMALE MASCHIO AFFETTO



GENITORI
MEIOSI
GAMETI
FECONDAZIONE
PROLE



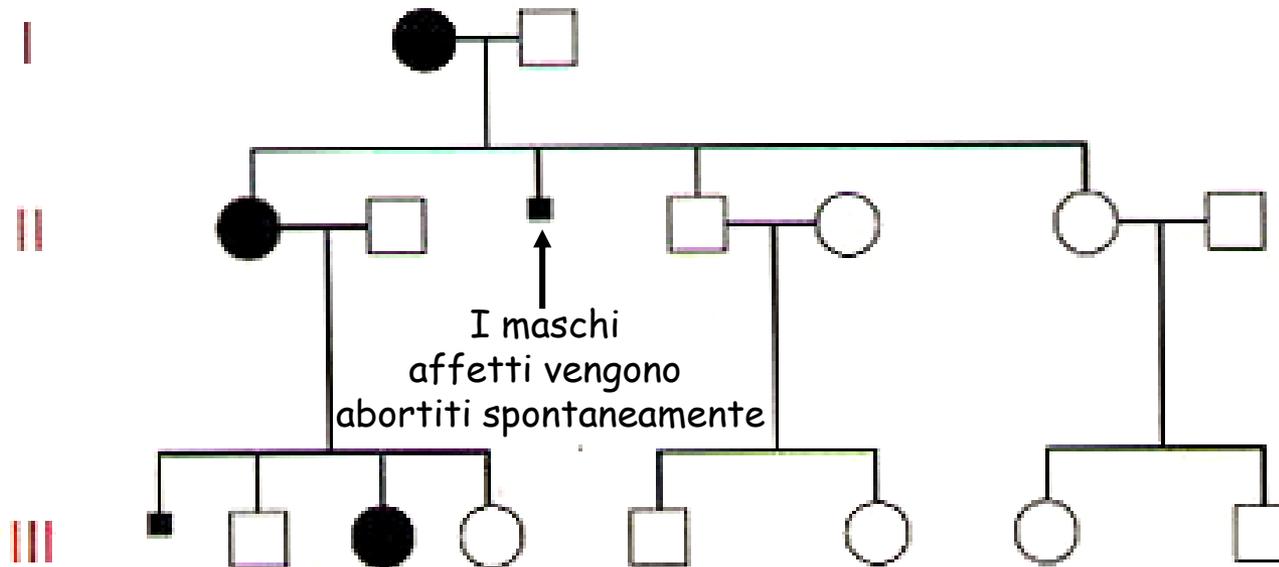
A = NORMALE, a = MUTANTE

Variazioni del modello di ereditarietà

La letalità dei maschi e la lyonizzazione possono complicare l'eredità dei caratteri legati all'X

Le condizioni legate all'X letali nei maschi

Per alcune condizioni dominanti legate all'X l'assenza dell'allele normale è letale prime della nascita. Quindi non nascono maschi affetti e si osserva la malattia solo nelle femmine, che la trasmettono a metà delle loro figlie femmine.



Variazioni del modello di ereditarietà

La letalità dei maschi e la lyonizzazione possono complicare l'eredità dei caratteri legati all'X

L'inattivazione dell'X (lyonizzazione)

L'inattivazione di uno dei due cromosomi X è casuale. Le femmine risultano eterozigoti a livello di organismo in *toto*, ma funzionalmente ciascuna cellula esprime o un allele o l'altro. Le portatrici di patologie recessive legate all'X spesso manifestano alcuni sintomi, mentre le eterozigoti per malattie dominanti solitamente sono affette in modo più lieve e variabile dei maschi affetti.

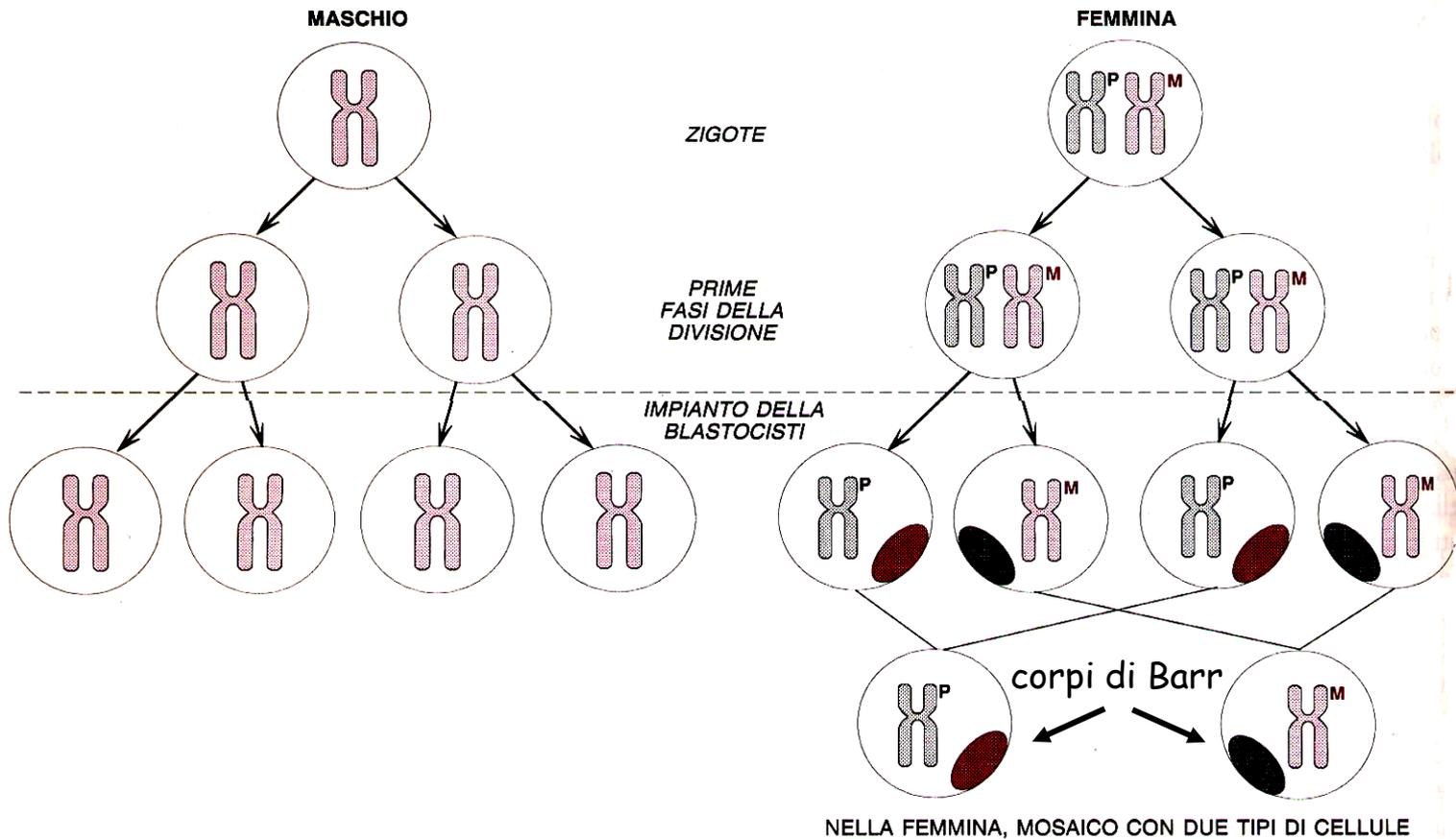
Non esistono malattie legate all'Y

I geni legati all'Y codificano caratteri non essenziali o funzioni strettamente maschili, ed è improbabile che loro difetti causino alterazioni patologiche, a parte l'infertilità maschile.

Il fenomeno della Lyonizzazione

L'ipotesi di Lyon stabilisce che nelle cellule **somatiche**:

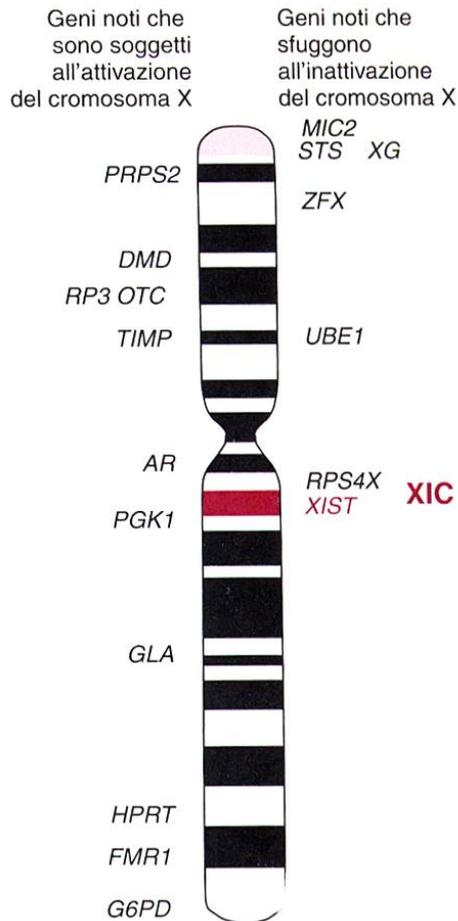
- L'inattivazione del cromosoma X si verifica **precocemente** durante la vita embrionale (stadio di blastocisti avanzata, nell'uomo).
- L'inattivazione è **casuale**.
- L'inattivazione dell'X è **completa**.
- L'inattivazione è **permanente** e si propaga **clonalmente**.



Il fenomeno della lyonizzazione

Eccezioni all'ipotesi di Lyon

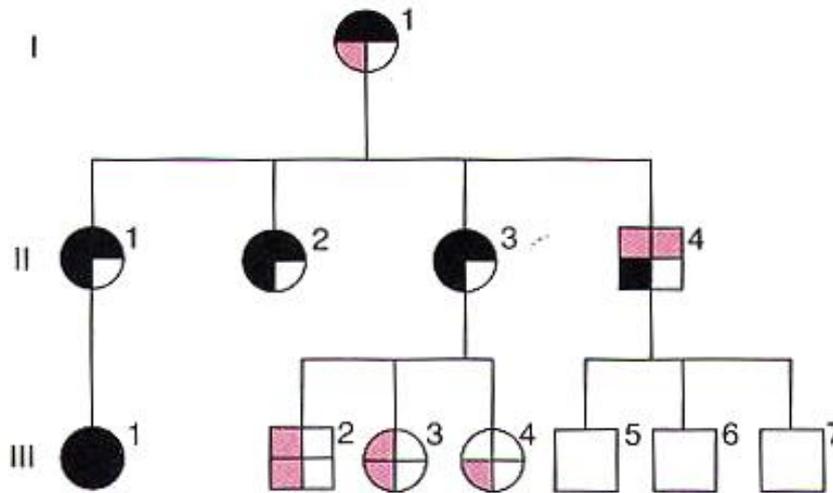
- Sebbene l'inattivazione sia solitamente casuale, un cromosoma X strutturalmente anomalo, ad es. delezione, viene inattivato preferenzialmente.
- Sebbene l'inattivazione della X sia estensiva, tuttavia non è completa; sono noti almeno 16 umani che sfuggono all'inattivazione.



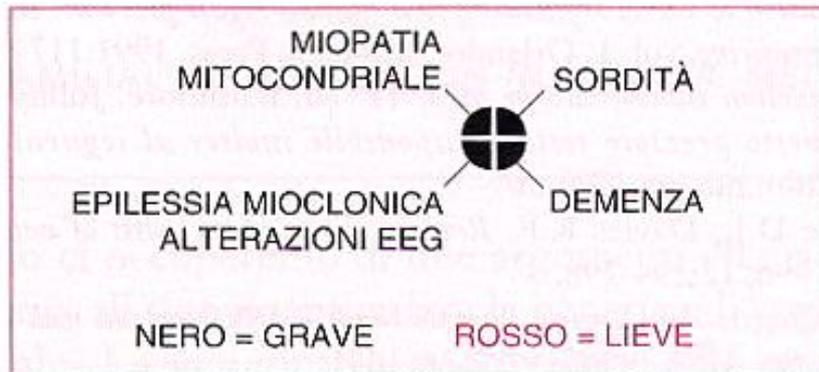
Ereditarietà mitocondriale

Soltanto le femmine possono trasmettere le malattie mitocondriali e passano la mutazione a tutti i figli di entrambi i sessi.

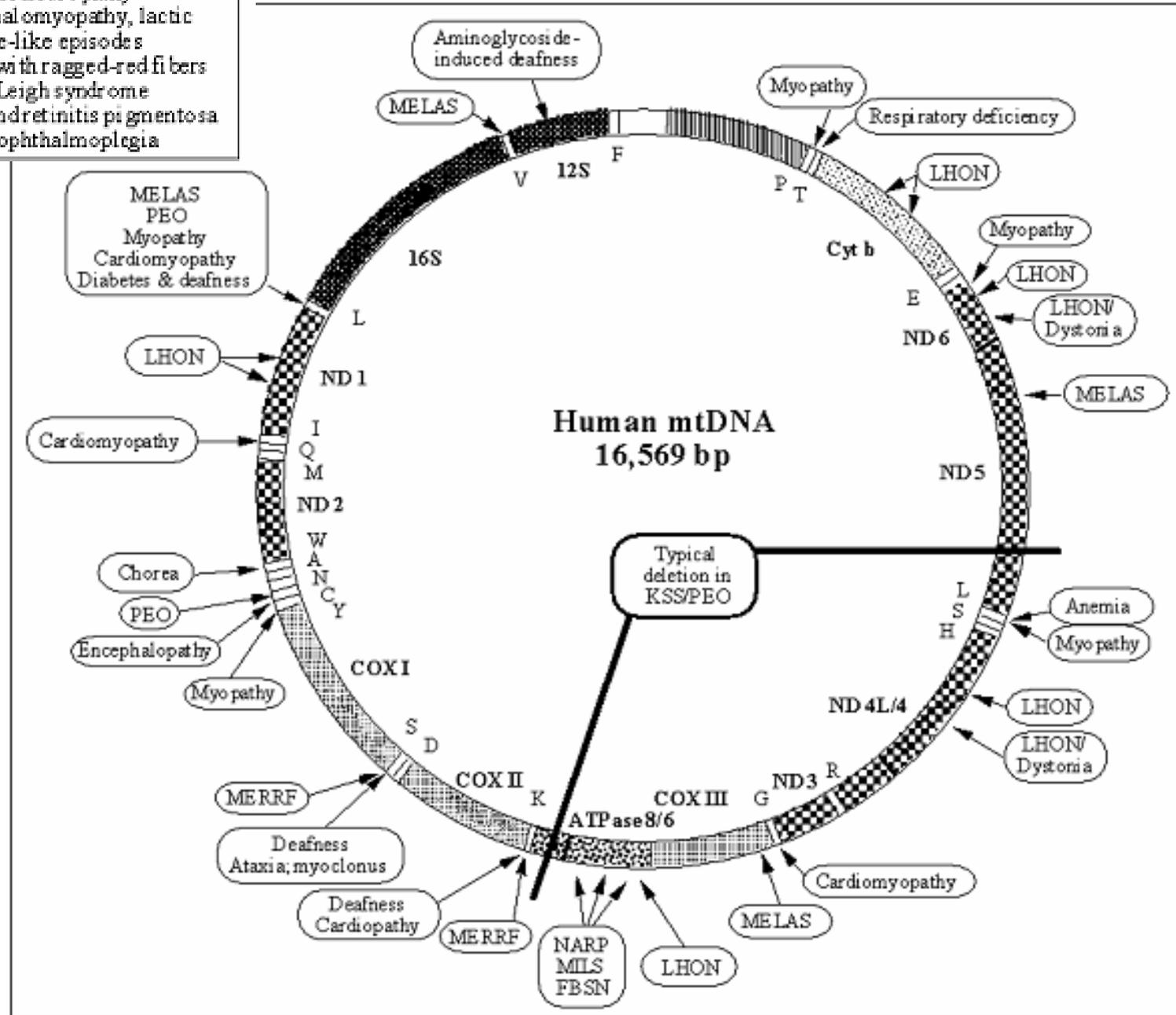
Le malattie mitocondriali sono spesso caratterizzate da miopatie ed encefalopatie (il cuore, i muscoli scheletrici e il sistema nervoso centrale dipendono maggiormente dalla fosforilazione ossidativa).



Il pedigree di una famiglia con una encefalopatia mitocondriale. Si osservi la trasmissione materna a tutti i figli maschi e femmine e l'assenza della trasmissione per via paterna.

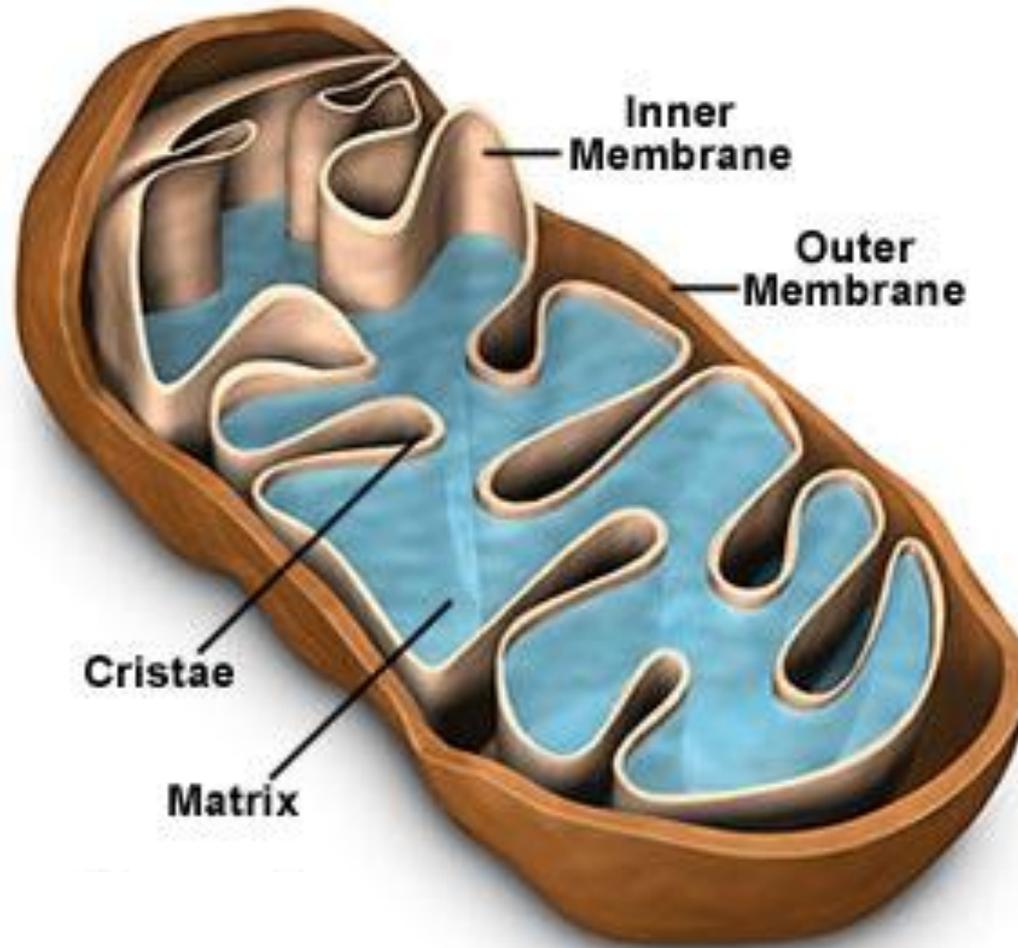


- FBSN: familial bilateral striatal necrosis
- KSS: Kearns-Sayre syndrome (sporadic)
- LHON: Leber's hereditary optic neuropathy
- MELAS: mitochondrial encephalomyopathy, lactic acidosis, and stroke-like episodes
- MERRF: myoclonus epilepsy with ragged-red fibers
- MILS: maternally-inherited Leigh syndrome
- NARP: neuropathy, ataxia, and retinitis pigmentosa
- PEO: progressive external ophthalmoplegia

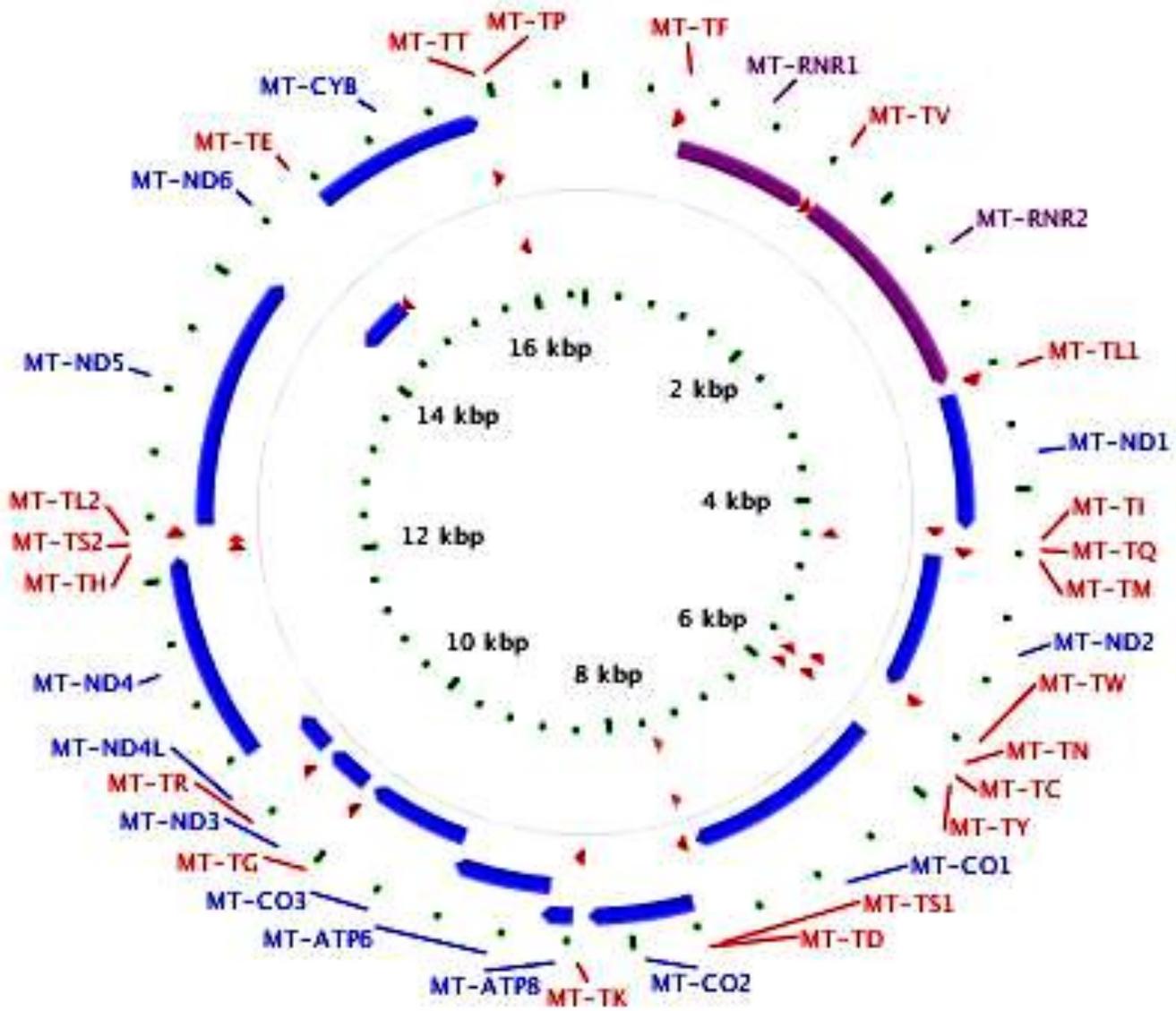


Ereditarietà mitocondriale

Mitochondria Inner Structure



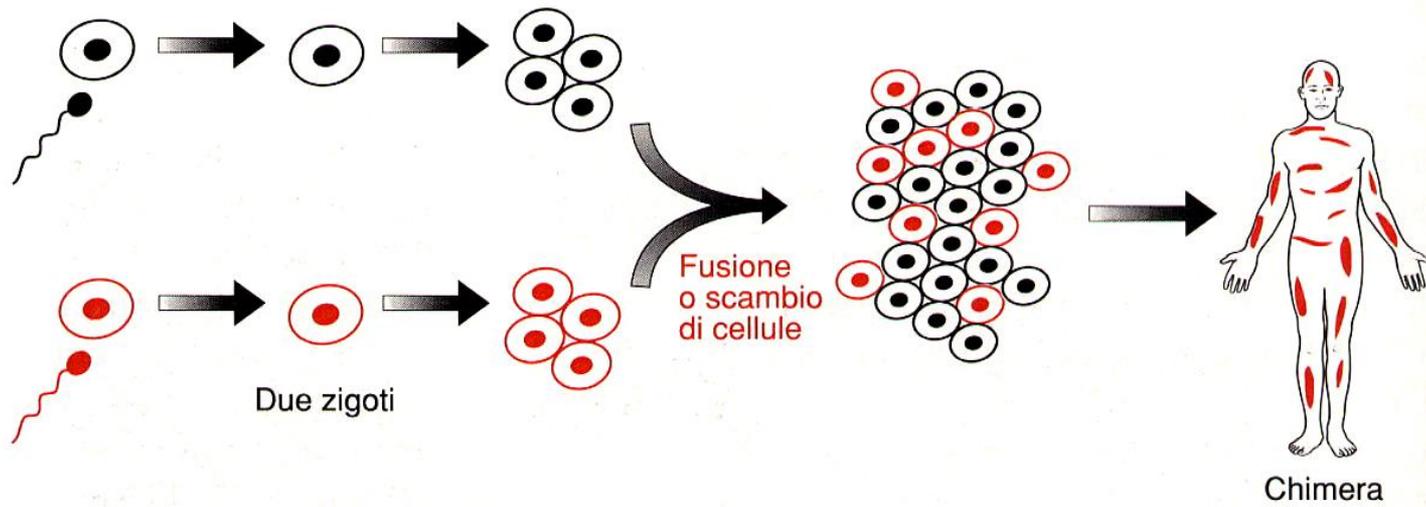
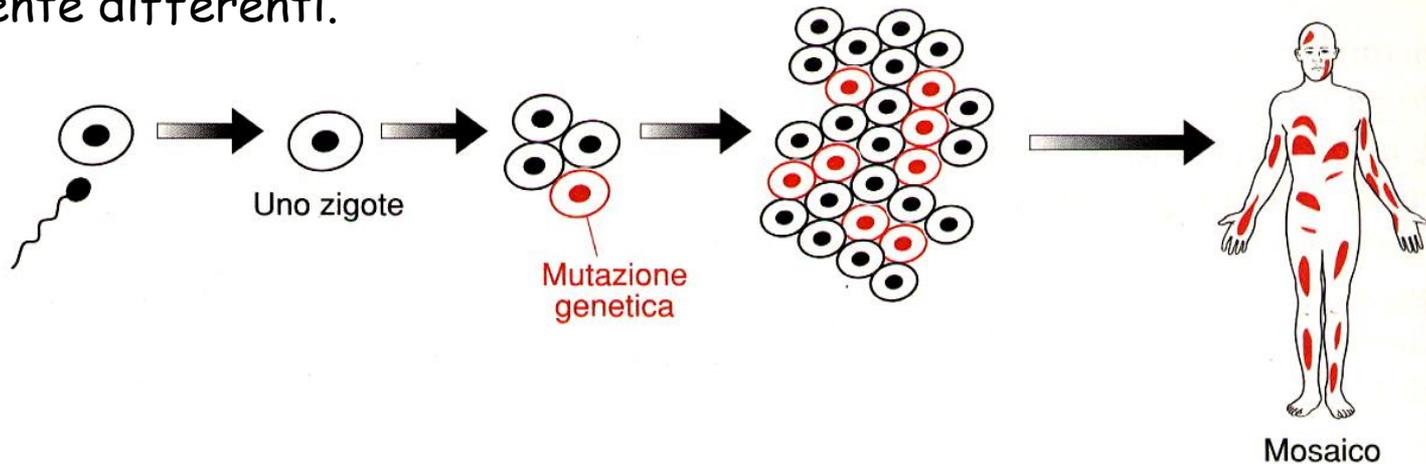
Geni mitocondriali



Mosaicismo e chimere

I mosaici posseggono due o più linee cellulari geneticamente differenti, che derivano da un unico zigote. La mutazione genetica indicata può essere una mutazione genica, una mutazione cromosomica numerica o strutturale o, nel caso particolare della lyonizzazione, l'inattivazione dell'X.

Una chimera deriva da due zigoti, che solitamente sono entrambi normali, ma geneticamente differenti.



Mosaicismo della pelle

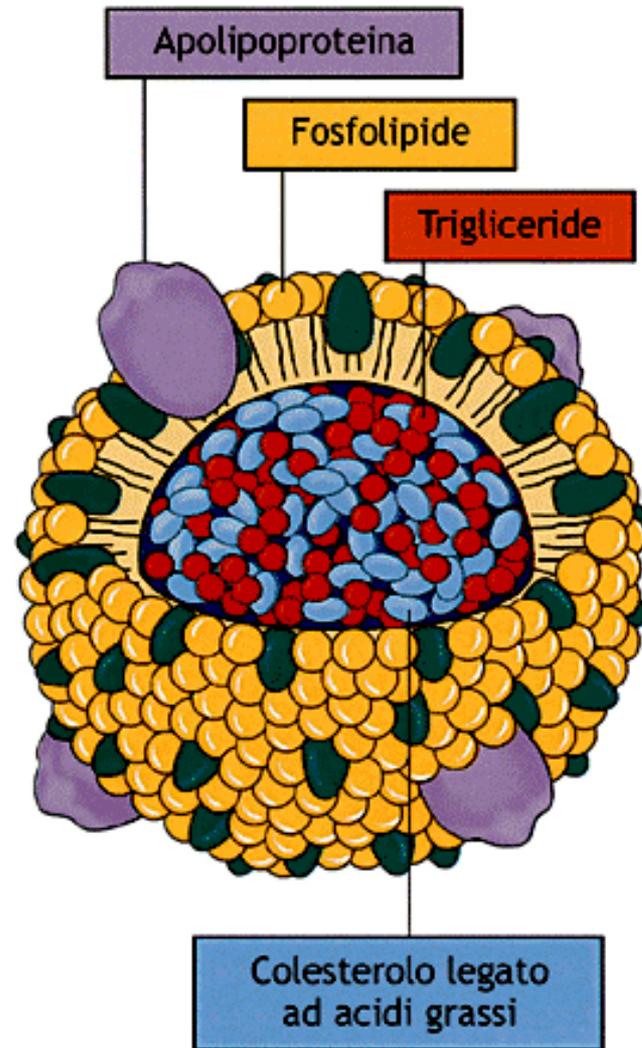
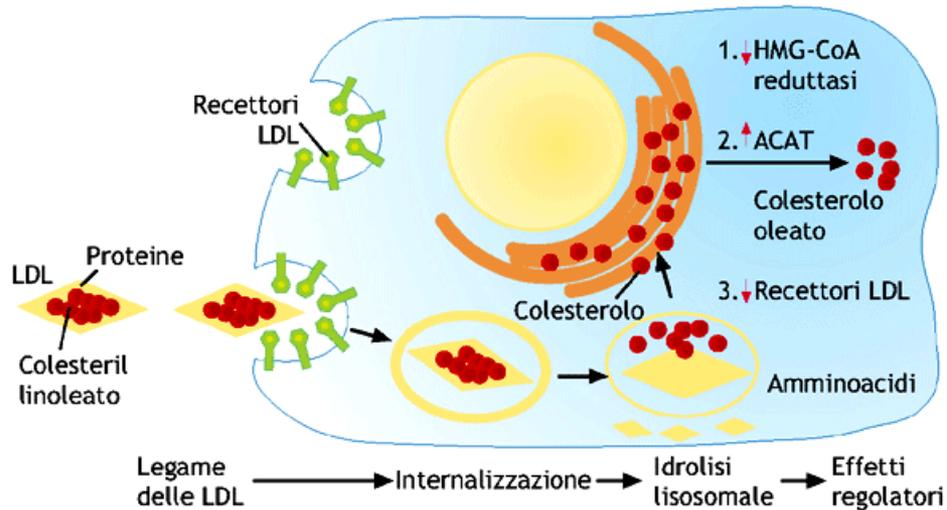


Mosaicismo dell'occhio



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante: Ipercolesterolemia familiare

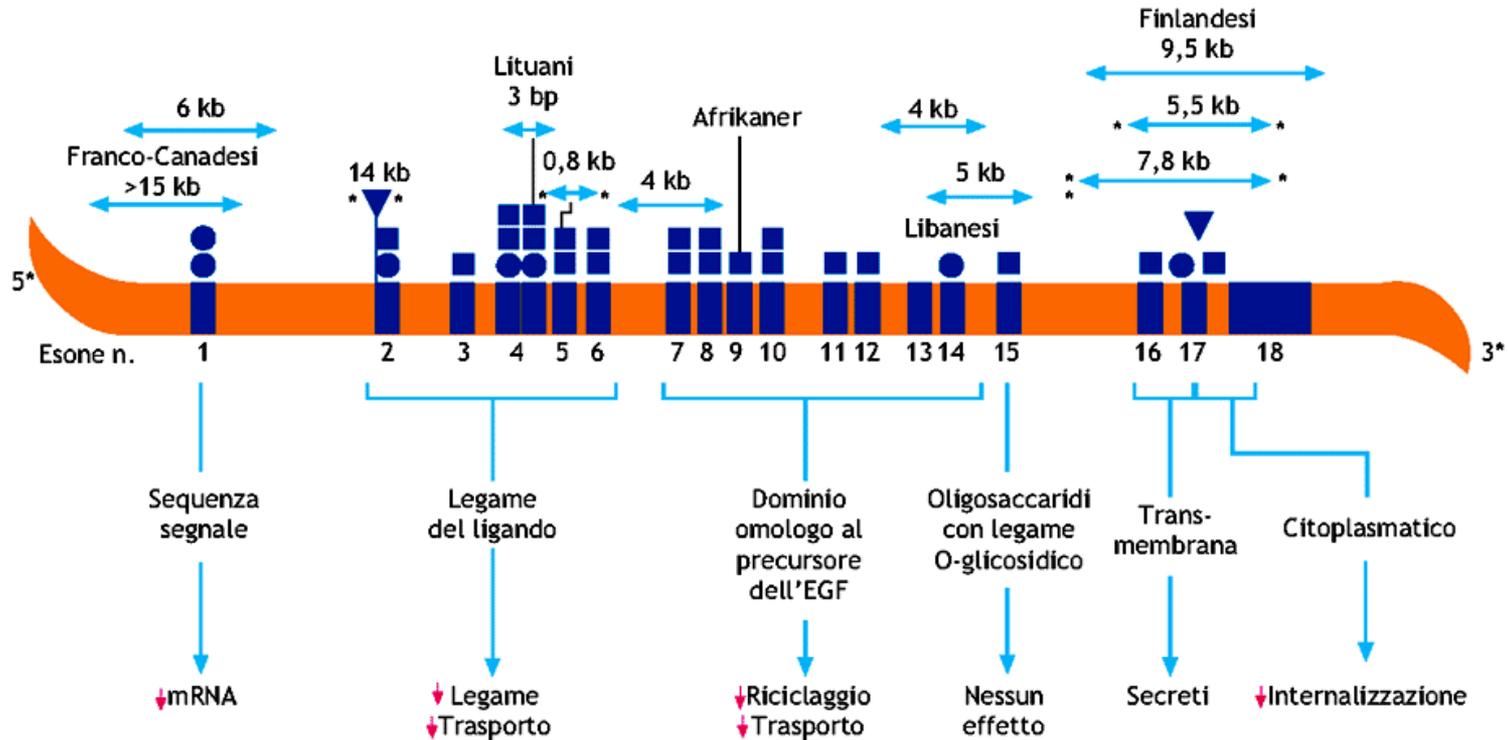


■ **Figura 10.56** Modello che illustra le lipoproteine che veicolano il colesterolo nel sangue.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante: Ipercolesterolemia familiare

- Il gene che codifica il recettore LDL mappa sul cromosoma 19 e occupa una regione di 45Kb. Codifica per un RNAm di 5,3 Kb.
- Sono state caratterizzate 150 mutazioni indipendenti nel gene che codifica il recettore LDL.
- le mutazioni responsabili della malattia possono causare la produzione di un recettore difettivo oppure la sua mancata sintesi.
- sono stati individuati diversi tipi di recettori difettivi, tra cui uno che non può legare le LDL, uno che ha bassa affinità di legame con le LDL e un terzo che non riesce ad internalizzare le LDL..



▽ Inserzione ↔ Delezione ● Non-senso ■ Missenso * Alu ripetute

■ **Figura 10.58** Gene del recettore LDL. Sono indicate le possibili numerose mutazioni puntiformi che lo interessano (nelle varie etnie) e le relative conseguenze fenotipiche e funzionali che causano la malattia.

Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica dominante

Corea di Huntington (1/10.000)

La **malattia di Huntington (MH)** è una malattia ereditaria caratterizzata dalla presenza di movimenti involontari, modificazioni della personalità e danni psichici progressivi. La malattia generalmente compare tra i **30 e i 45 anni di età**, ma **in casi più rari** può esistere in una forma giovanile, con esordio **prima dei 20 anni**. E' molto raro che una persona manifesti la MH dopo i 55 anni.

I primi sintomi della MH sono spesso subdoli e difficili da riconoscere. A volte le persone affette da MH cominciano a manifestare irritabilità, stanchezza, difficoltà di concentrazione, instabilità emotiva molto prima dell'apparizione dei sintomi motori più tipici. In seguito la malattia progredisce molto lentamente e porta a morte 15-20 anni dopo la comparsa dei primi sintomi. La gravità della malattia varia da paziente a paziente, anche nell'ambito della stessa famiglia; ed è tanto più grave quanto più l'esordio è precoce.

Il gene responsabile della MH è stato identificato nel 1993 e si trova sul cromosoma 4, ed è stato chiamato con una sigla: **IT-15**.

Questo gene contiene le informazioni per la produzione di una proteina che è stata chiamata **huntingtina**. La funzione dell'huntingtina è ancora ignota, anche se è dimostrato che si tratta di una proteina indispensabile per la vita. Le persone affette da MH possiedono delle alterazioni nel gene della huntingtina, e per questo le loro cellule producono una forma anomala di questa proteina, che in qualche modo provoca la degenerazione dei neuroni.

Nel gene della huntingtina, oltre a numerose altre sequenze, è presente una "**tripletta**" di 3 basi nucleotidiche (per la precisione **CAG-glutamina**), che può susseguirsi un certo numero di volte. Negli individui **normali** il gene della huntingtina contiene corte ripetizioni della tripletta: da poche copie fino a circa 30. Nelle persone **affette** da MH, la tripletta è ripetuta per un numero molto più alto di volte, da 35-40 fino a più di un centinaio. Queste ripetizioni (dette anche *espansioni*) eccessive della tripletta provocano delle modificazioni ancora non chiare nella huntingtina, e presumibilmente alterano la sua funzione.

La presenza di una sola copia alterata del gene (su due che ognuno di noi possiede) è sufficiente a far sì che un individuo sviluppi la malattia.

In alcune persone il gene della huntingtina ha un numero di triplette *intermedio* (30-35 ripetizioni). Questa condizione genetica si chiama **premutazione**. Le persone con la premutazione non sviluppano la malattia, ma rischiano di trasmetterla ai figli. Questo perchè durante la formazione dei gameti (spermatozoi e ovuli) si può verificare l'espansione ulteriore delle triplette (con un meccanismo ancora sconosciuto). I figli rischiano perciò di ritrovarsi con un numero maggiore di ripetizioni, sviluppando così la malattia.

Si è anche osservato che l'espansione delle triplette è molto più probabile durante la formazione degli spermatozoi, rispetto a quella degli ovuli. Perciò, l'espansione delle triplette avviene preferibilmente da parte paterna. Se è la madre ad avere la premutazione, è molto più difficile che i figli sviluppino la malattia.

La MH si trasmette con una modalità **autosomica dominante**. Questo significa che i figli di una persona affetta hanno il **50%** di probabilità di sviluppare a loro volta la malattia, indipendentemente dal sesso. In generale, però i figli di un padre affetto dal MH hanno espansioni maggiori e manifestano i sintomi più precocemente e in modo più grave rispetto al genitore, mentre i figli di una madre ammalata non presentano significative modificazioni nella gravità dei sintomi rispetto alla madre. Questo perchè, come si è detto, l'espansione delle triplette avviene preferibilmente per via paterna.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante: Corea di Huntington

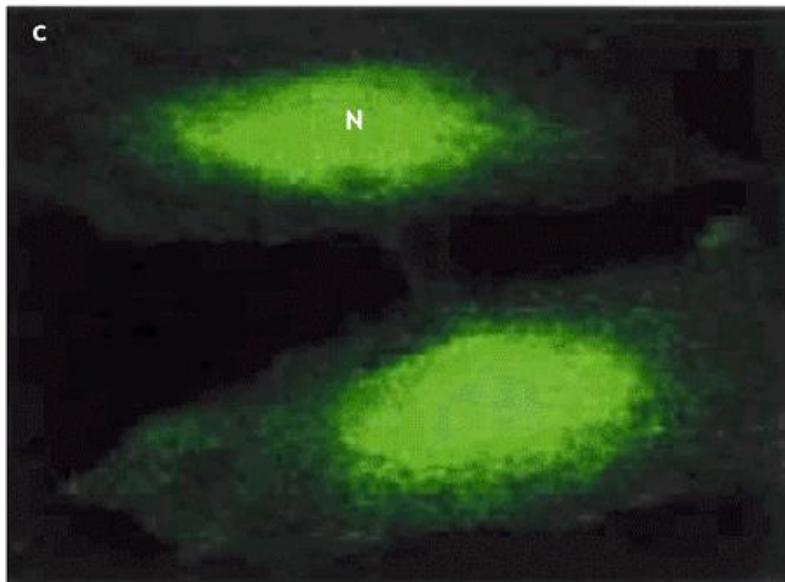
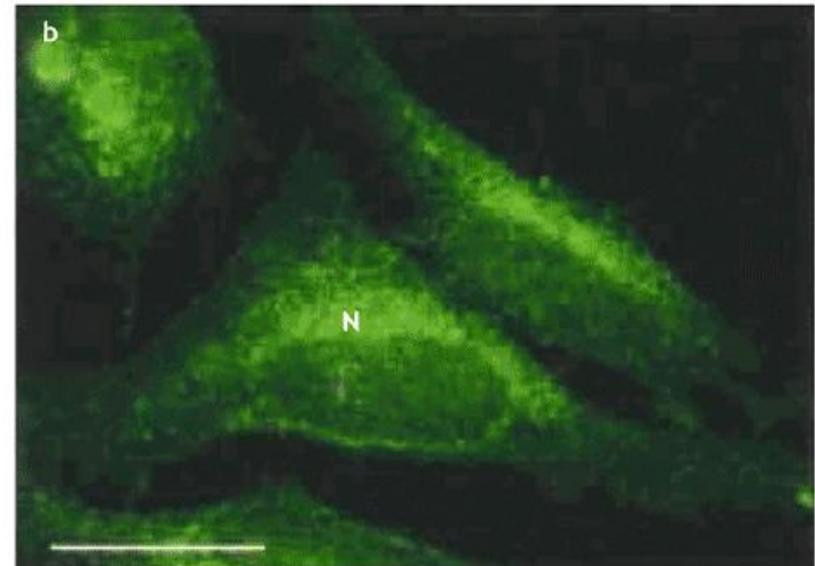
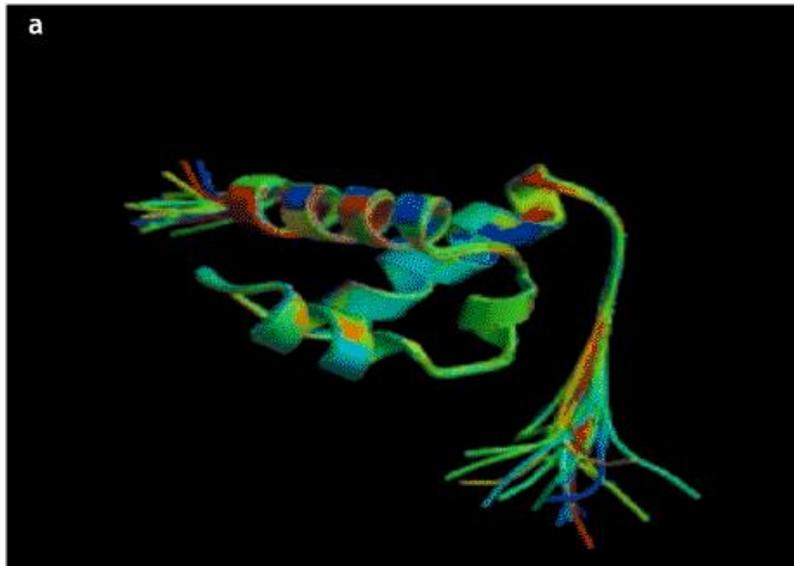


Figura 10.60 Huntingtina. (a) Modello ricostruito al computer della proteina "huntingtina" nella forma normale (normale/wild-type); (b) micrografia al microscopio ottico in cui la colorazione evidenzia la normale proteina huntingtina accumulata, principalmente, nel citoplasma cellulare aderente al nucleo; (c) la proteina huntingtina mutata risulta accumulata soprattutto all'interno del nucleo della cellula.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante: Corea di Huntington



■ **Figura 10.61** Comparazione tra immagini di sezioni del cervello. Cervello affetto da malattia di Huntington (*a sinistra*) e cervello normale (*a destra*).

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante: Osteogenesi imperfetta

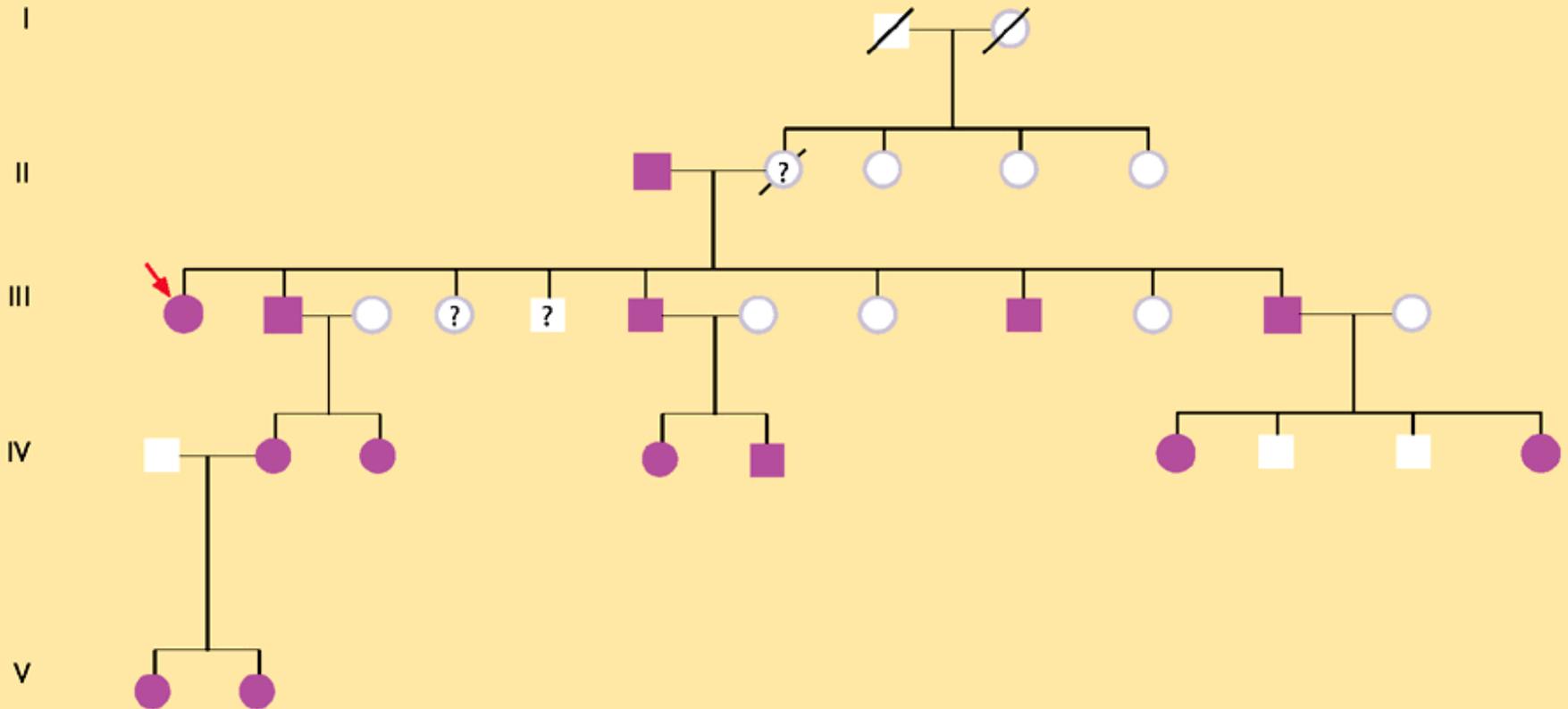


Figura 10.63 Albero genealogico di una famiglia, con presenza di soggetti affetti da osteogenesi imperfetta, che mostra la tipica modalità di trasmissione ereditaria autosomica dominante.

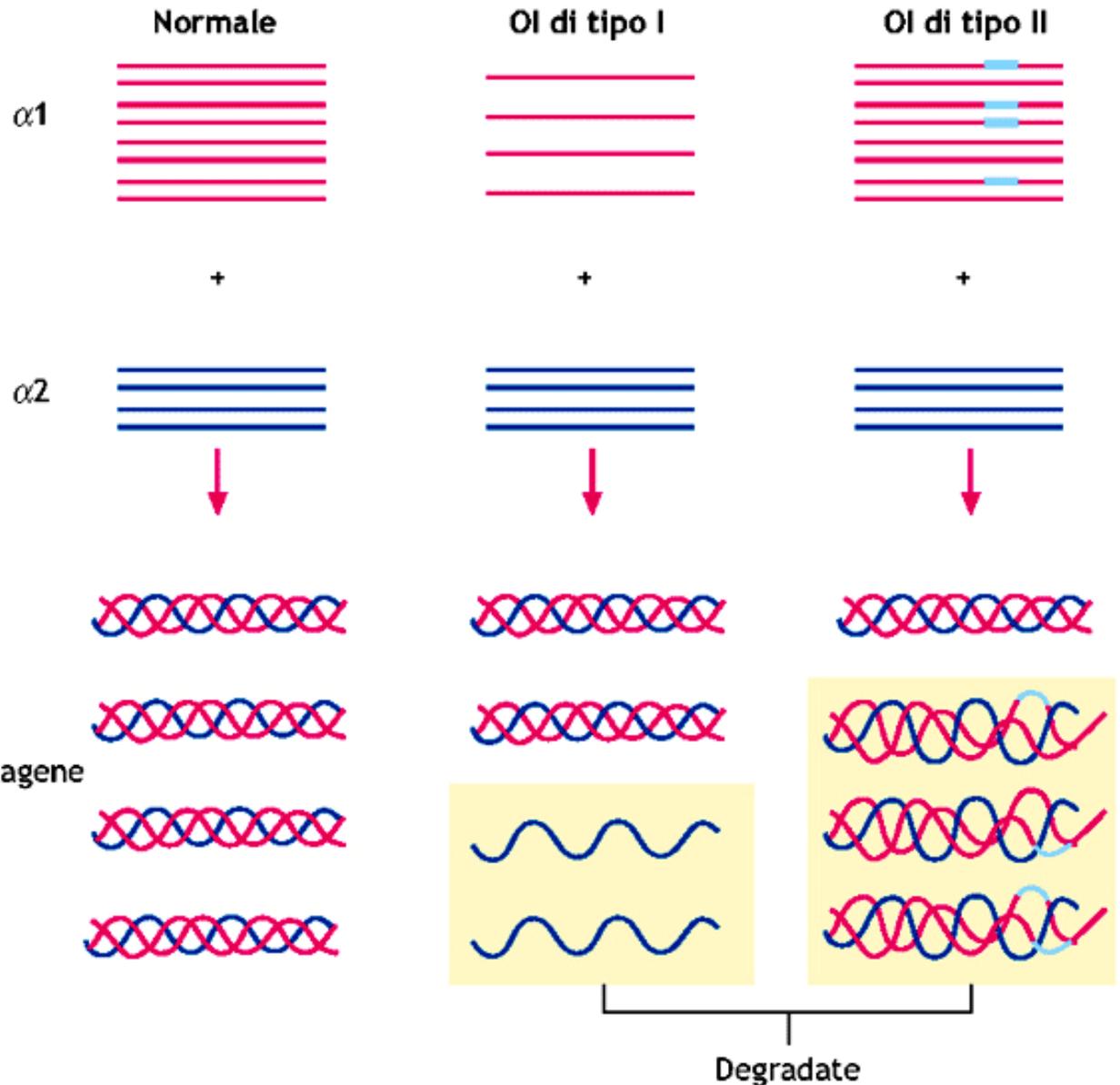
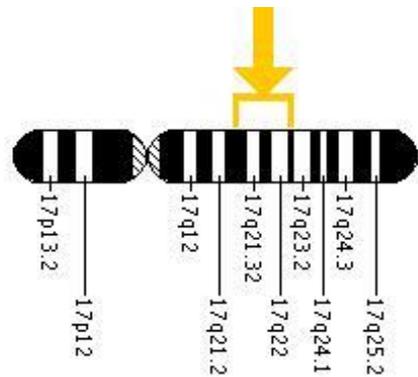
La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica dominante: Osteogenesi imperfetta

Cytogenetic Location COL1 α 1: 17q21.3-q22.1

1/15.000 tipo 1 (più frequente)
 Oltre al fenotipo patologico legato all'espressione dell'allele mutato: frattura frequente delle ossa lunghe, costole, ossa brevi delle dita delle mani e piedi, alterazioni delle ossa dell'orecchio che porta a sordità) anche effetto pleiotropico cioè colorazione della sclera blu.

La tipo II più grave incompatibile con la vita.



Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica dominante
Osteogenesi imperfetta



Trasmissione mendeliana dei caratteri ereditari: trasmissione autosomica recessiva

Tabella. Alcuni tratti recessivi autosomici

Carattere	Fenotipo	Numero MIM/OMIM
Albinismo	Assenza di pigmento nella pelle, negli occhi, nei capelli	203100
Atassia telangettasia	Progressiva degenerazione del sistema nervoso	208900
Sindrome di Bloom	Nanismo; eruzioni cutanee; aumento dell'incidenza del cancro	210900
Fibrosi cistica	Produzione di muco che blocca i dotti di alcune ghiandole e le vie aeree polmonari; spesso letale nella prima età adulta	219700
Anemia di Fanconi	Crescita lenta; difetti cardiaci; alto tasso di leucemia	227650
Galattosemia	Accumulo di galattosio nel fegato; ritardo mentale	230400
Fenilchetonuria	Eccesso di accumulo di fenilalanina nel sangue; ritardo mentale	261600
Anemia falciforme	Emoglobina anormale; blocco dei vasi sanguigni; morte precoce	141900
Talassemia	Produzione impropria di emoglobina; i sintomi variano da leggeri a fatali	141900/141800
Xeroderma pigmentoso	Mancanza di enzimi riparatori del DNA; elevata sensibilità ai raggi UV; cancro della pelle; morte precoce	278700
Malattia di Tay-Sachs	Metabolismo alterato dei gangliosidi nelle cellule nervose; morte precoce	272800

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva

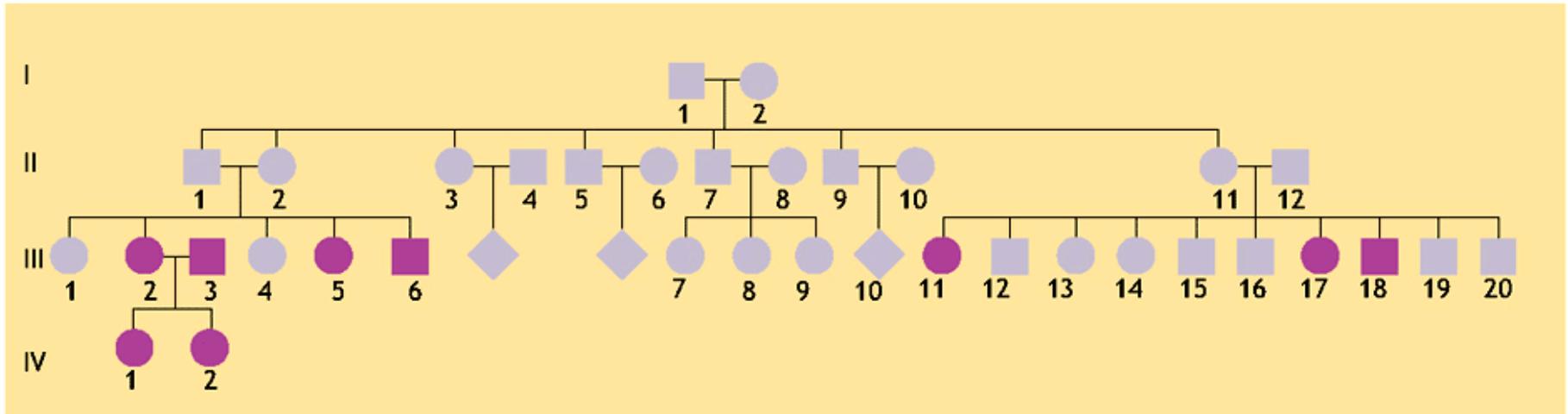
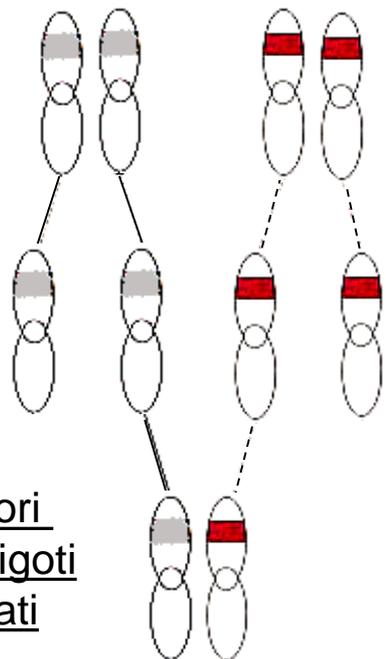


Figura 10.65 Albero genealogico che mostra le tipiche caratteristiche della modalità di trasmissione ereditaria autosomica recessiva.

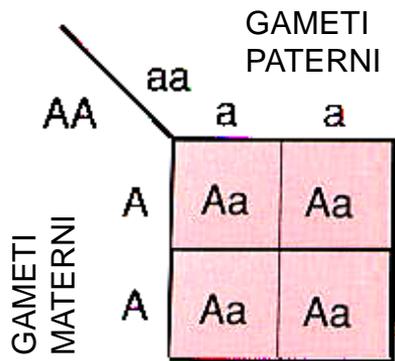
Ereditarietà autosomica recessiva altre possibili combinazioni

A. NORMALE AFFETTO



Portatori
eterozigoti
obbligati

ETEROZIGOTE



Tutti Aa

A = NORMALE, a = MUTANTE

B. ETEROZIGOTE AFFETTO

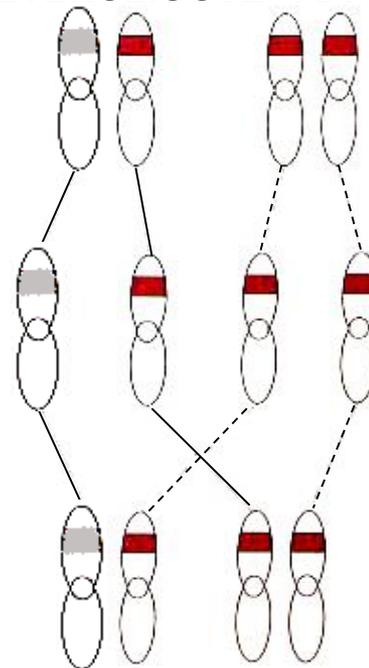
GENITORI

MEIOSI

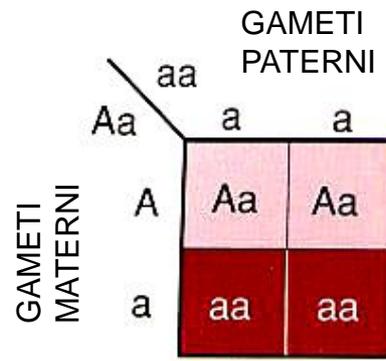
GAMETI

FECONDAZIONE

PROLE



ETEROZIGOTI AFFETTI

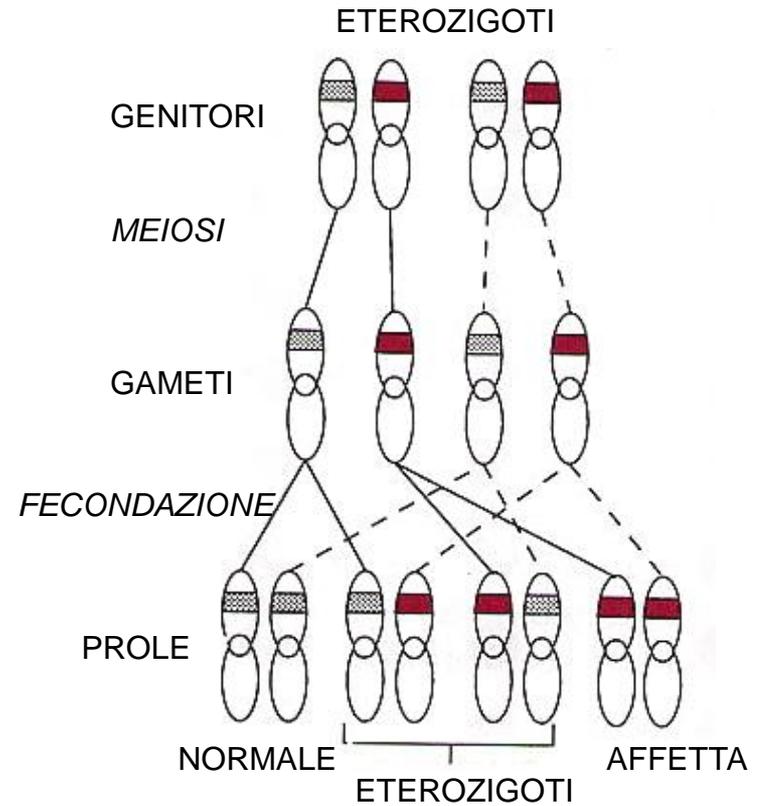
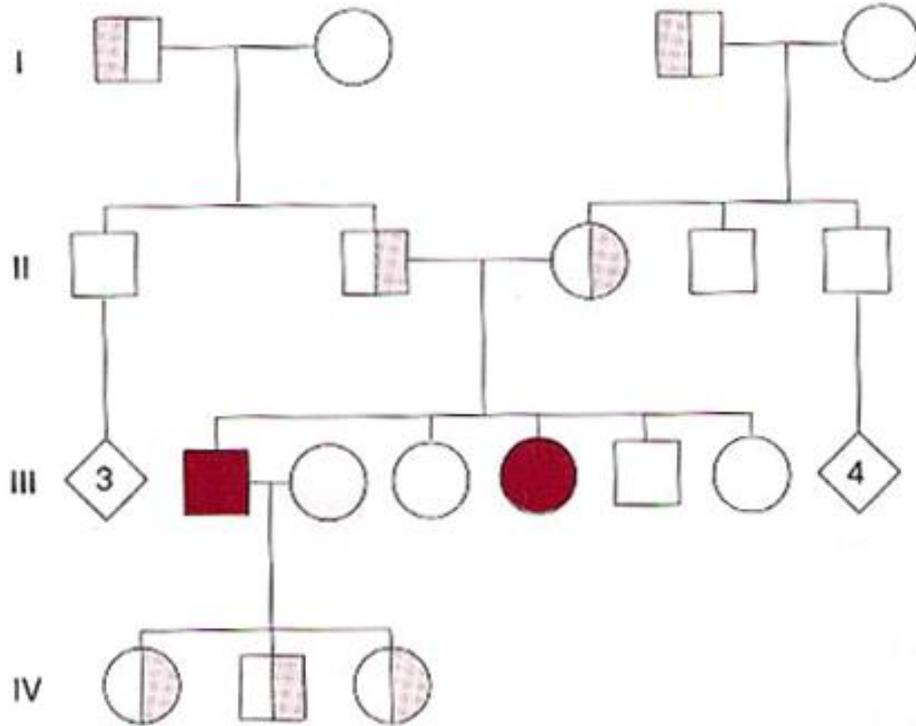


1 Aa : 1 aa

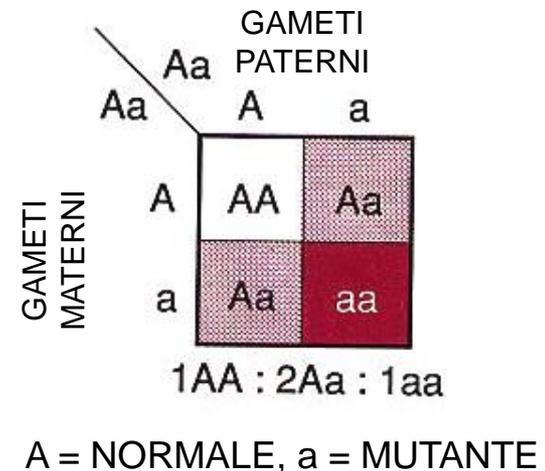
A = NORMALE, a = MUTANTE

Ereditarietà autosomica recessiva

Fibrosi cistica,
Anemia falciforme, Talassemie,



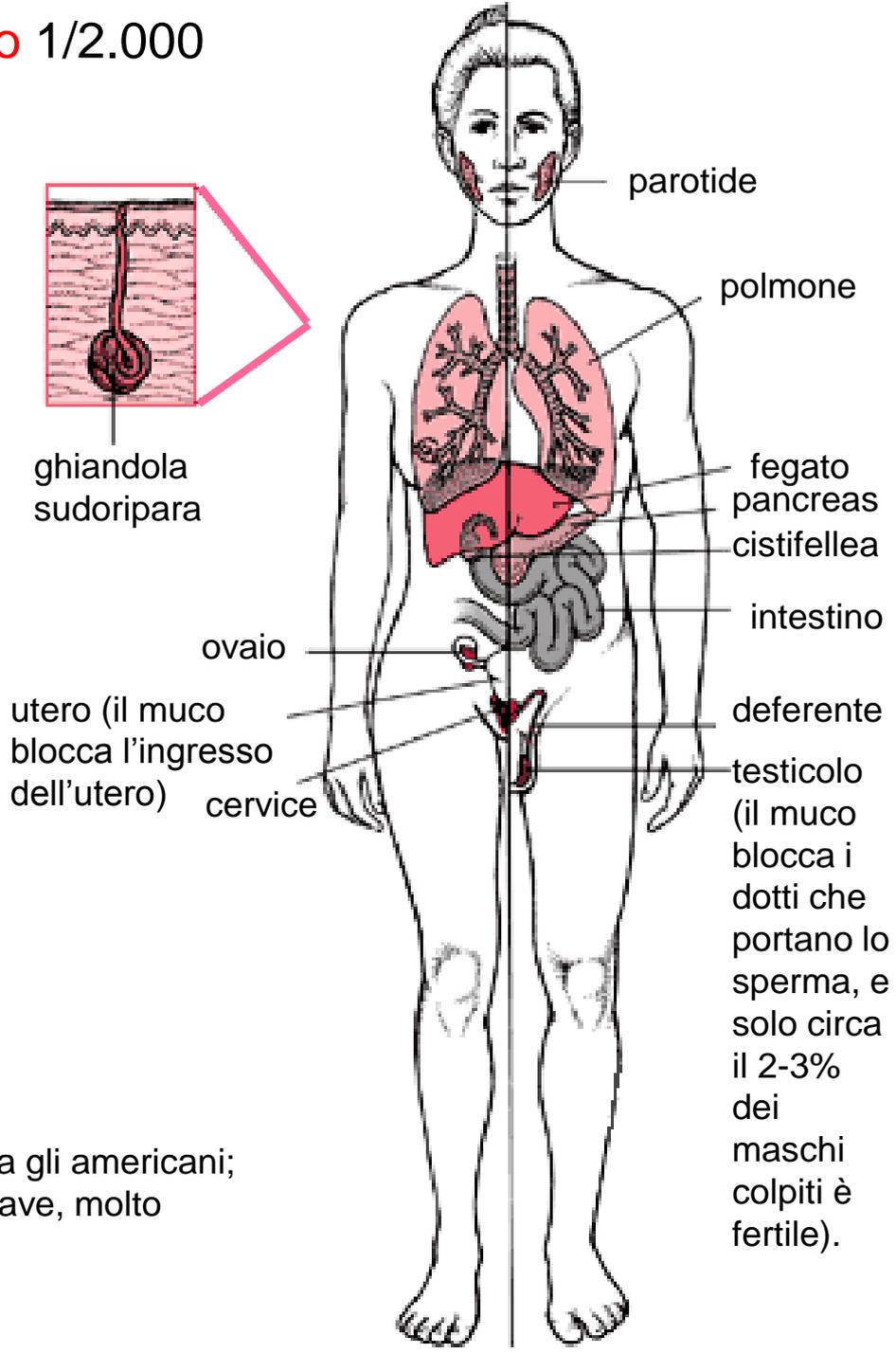
Le malattie autosomiche recessive sono caratterizzate da manifestazioni cliniche soltanto negli individui omozigoti per il gene mutante. Il pedigree tipico è orizzontale in quanto gli individui affetti tendono a rimanere limitati ad una singola fratria e la malattia non si presenta nelle generazioni successive. **I maschi e le femmine sono affetti con uguale probabilità.**



La fibrosi cistica è un carattere recessivo 1/2.000

La fibrosi cistica (CF, Cystic Fibrosis) (MIM/OMIM 219700) è una patologia genetica disabilitante e letale che si eredita come carattere autosomico recessivo; **colpisce le ghiandole che producono muco, gli enzimi della digestione e il sudore**. Se le ghiandole del sudore non funzionano bene rilasciano una quantità eccessiva di sale. La malattia viene spesso diagnosticata analizzando la quantità di sale nel sudore. In base ad alcune leggende popolari, le nutrici un tempo leccavano la fronte dei neonati: se il sudore aveva un sapore troppo salato, predicevano che il bambino sarebbe morto prematuramente di congestione polmonare. La malattia ha effetti ad ampio spettro perché le ghiandole colpite svolgono alcune importanti funzioni vitali. La CF comporta la produzione di un muco spesso, che **ostruisce i dotti che portano gli enzimi della digestione dal pancreas all'intestino tenue**, riducendo gli effetti della digestione. Come conseguenza, i bambini colpiti spesso soffrono di malnutrizione, nonostante un aumento di appetito e di quantità di cibo consumato. Col progredire della malattia, si formano delle cisti nel pancreas e la ghiandola degenera in una struttura fibrosa, che dà il nome alla malattia. Dal momento che il muco spesso provocato dalla CF blocca anche le vie aeree dei polmoni, la maggior parte dei pazienti colpiti da fibrosi cistica sviluppa patologie ostruttive dei polmoni e infezioni, che portano a morte prematura. Quasi tutti i casi di CF si registrano in figli di genitori fenotipicamente normali, eterozigoti.

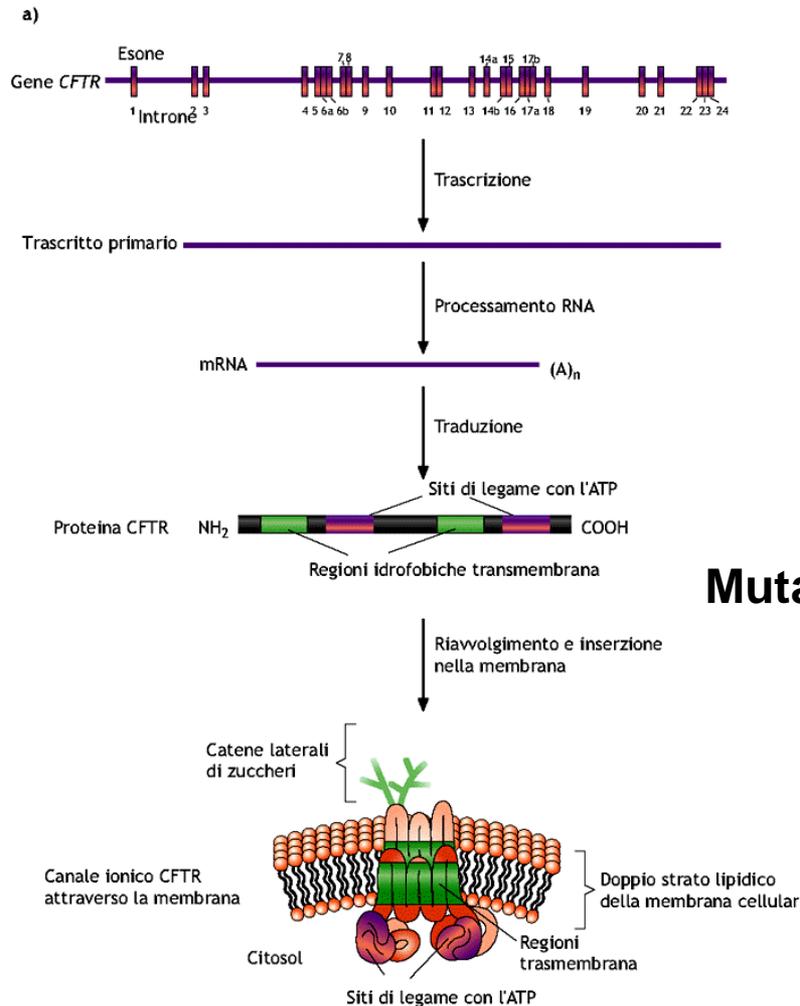
Ha una frequenza molto alta: 1/2000
Diversa incidenza tra le popolazioni: 1/25 portatori sani tra gli americani; 1/46 ispanici; 1/65 afroamericani; 1/150 asiatici. Molto grave, molto debilitante, invalidante e porta alla morte.



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: fibrosi cistica o mucoviscidosi

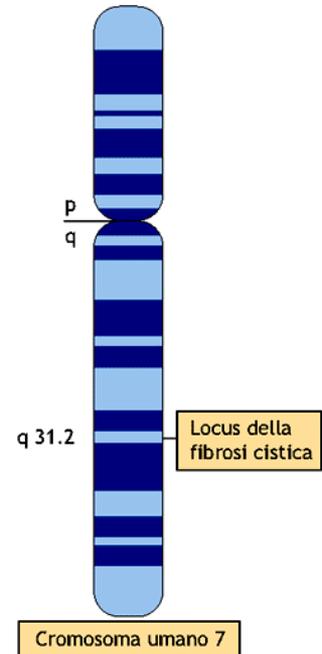
Il prodotto del gene CF è una proteina che si inserisce nella membrana plasmatica di alcune cellule ghiandolari. La proteina è chiamata *regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica* o CFTR. Il CFTR regola il flusso di ioni cloro attraverso la membrana plasmatica della cellula. Negli individui affetti da CF la proteina CFTR è assente o difettosa. Dal momento che i fluidi si muovono attraverso le membrane del plasma in risposta a movimenti degli ioni, una proteina CFTR difettosa comporta una diminuzione dei fluidi che devono aggiungersi alla secrezione delle ghiandole. Le secrezioni ispessite provocano i sintomi caratteristici della CF.



Le mutazioni identificate sono missenso, frame-shift, delezioni, inserzioni

Una delezione CTT nell'esone 10 causa la perdita di una fenilalanina nella posizione 508 della proteina costituita da 1480 aa. La isoleucina nella posizione 507 rimane inalterata perché **ATC** e **ATT** entrambi codificano per una isoleucina.

Mutazione $\Delta 508$ (70% dei casi)



■ **Figura 10.67** Cromosoma umano 7. È indicato il locus 7.q31.2 - 32.3 per la fibrosi cistica.

b)

NORMALE	
DNA	...GAA AAT ATC ATC TTT GGT GTT TCC...
PROTEINA	Glu Asn Ile Ile Phe Gly Val Ser
POSIZIONE	504 505 506 507 508 509 510 511
FIBROSI CISTICA	
DNA	...GAA AAT ATC ATT GGT GTT TCC...
PROTEINA	Glu Asn Ile Ile Gly Val Ser

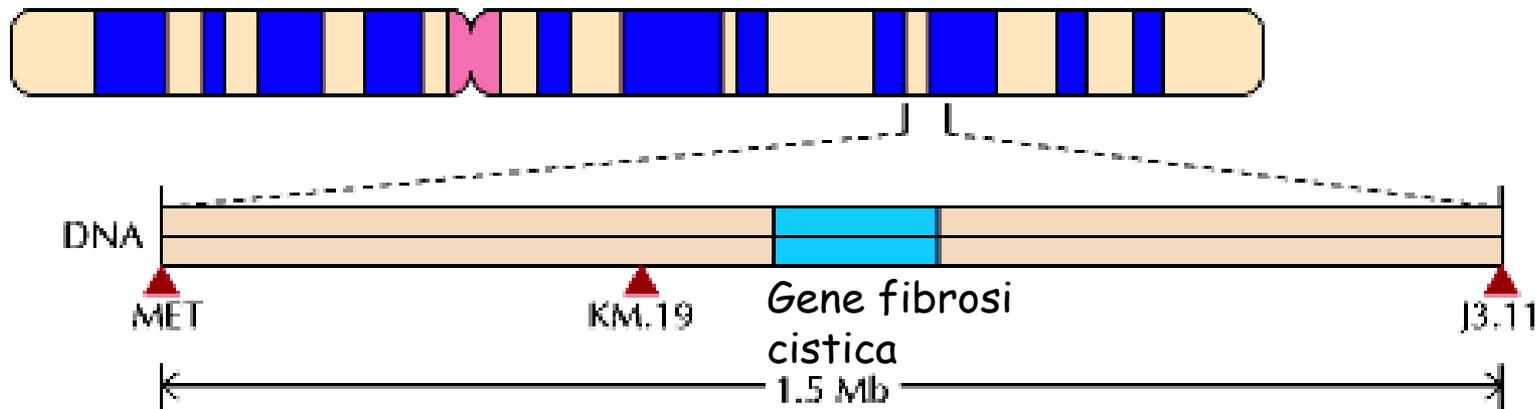
■ **Figura 10.66** Gene codificante la proteina regolatore del trasporto transmembrana (CFTR). (a) Dal gene alla proteina; (b) paragone tra proteina selvatica e mutata.

La fibrosi cistica è un carattere recessivo

Il difetto che provoca la CF fu identificato nel 1989 da un team di ricercatori guidati da Lapchee Tsui e Francis Collins. Furono usate tecniche di ricombinazione del DNA per mappare il gene nella regione q31 del cromosoma 7. Questa regione fu esplorata usando numerosi metodi di mappatura genetica e il gene della CF fu identificato confrontando l'organizzazione molecolare di un piccolo segmento del cromosoma 7 tra individui normali e individui colpiti da CF.

Cromosoma 7

q31.2 locus della CF



Il linkage con gli RFLP di MET e di J3.11 ha mappato il gene nella regione indicata del cromosoma 7, che è stata ulteriormente delineata da una ulteriore RFLP denominato KM.19. Il gene della fibrosi cistica, che occupa 250 kb, è stato poi clonato e sequenziato.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: fibrosi cistica o mucoviscidosi

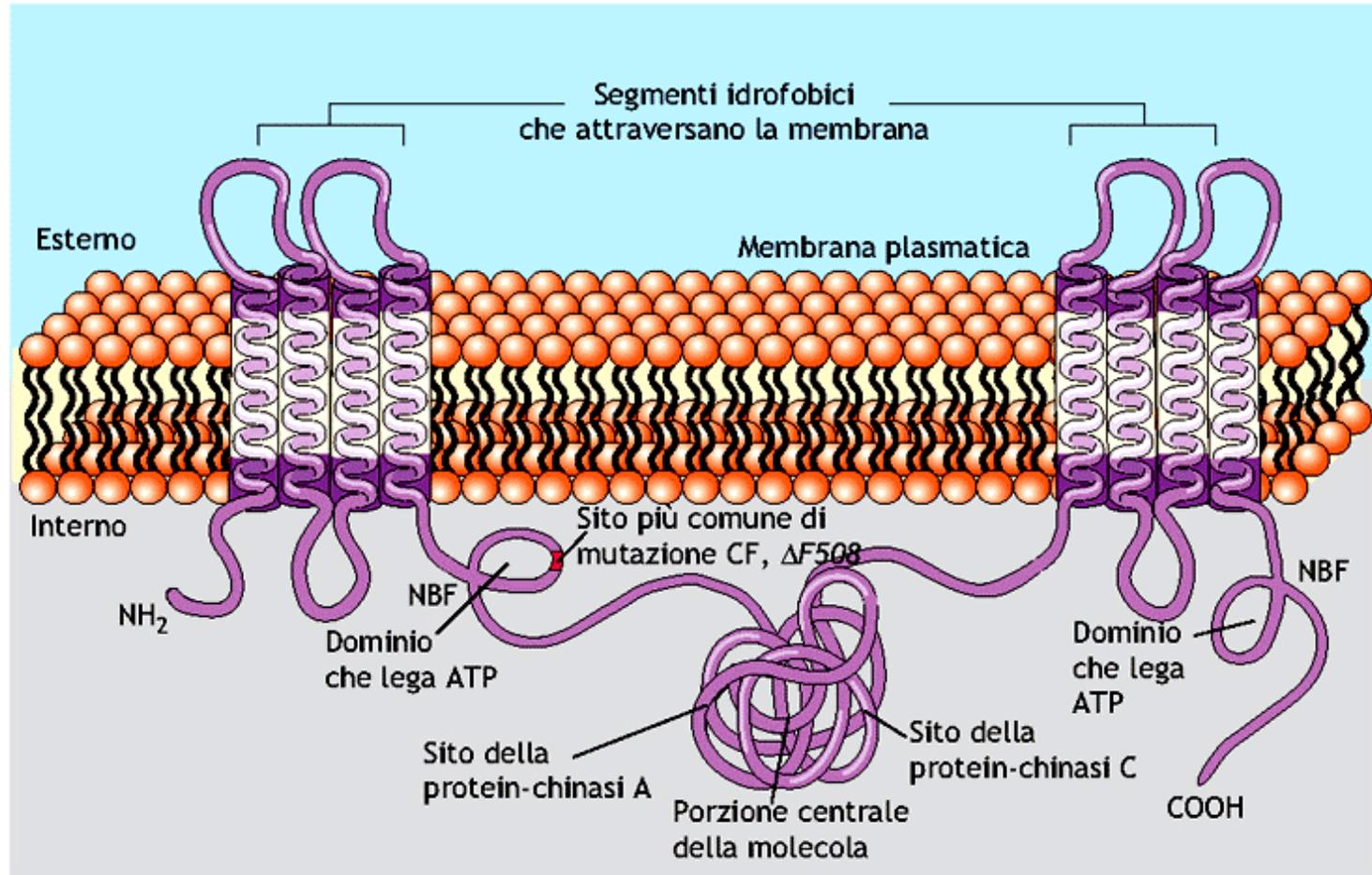
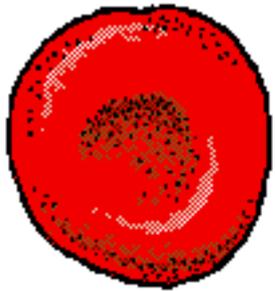
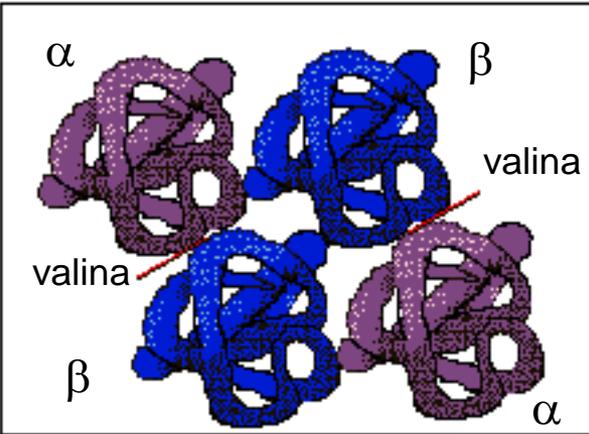


Figura 10.68 Ipotetica struttura della proteina regolatore della conduttanza transmembrana (CFTR). Sono presenti due domini idrofobici transmembranari ed uno, che lega ATP, il Nucleotide-Binding Fold (NBF). Nella porzione amminica dell'NBF è indicato il sito in cui si ha perdita di un amminoacido a causa della mutazione $\Delta F508$ (delezione di una tripletta) che determina la forma grave della malattia; nella sua regione mediana sono presenti i siti fosforilati dalle protein-chinasi A e C.

L'anemia falciforme è un carattere recessivo 1/400

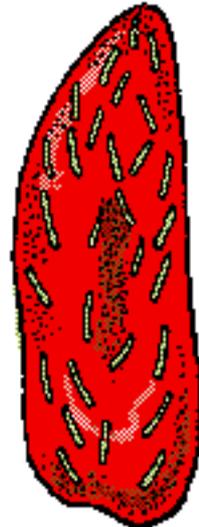
Gli americani i cui antenati vivevano in alcune parti dell'Africa occidentale, nelle pianure paludose attorno al Mediterraneo o in alcune aree del sub continente indiano presentano una alta frequenza di casi di anemia falciforme (MIM/OMIM 141900). Gli individui colpiti da questa patologia genetica recessiva producono un tipo anormale di emoglobina, una proteina che si trova nei globuli rossi. Normalmente questa proteina trasporta ossigeno dai polmoni ai tessuti del corpo. Ogni globulo rosso contiene milioni di molecole di emoglobina.



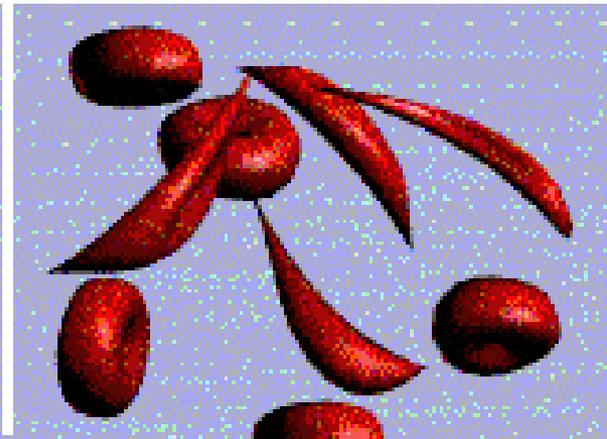
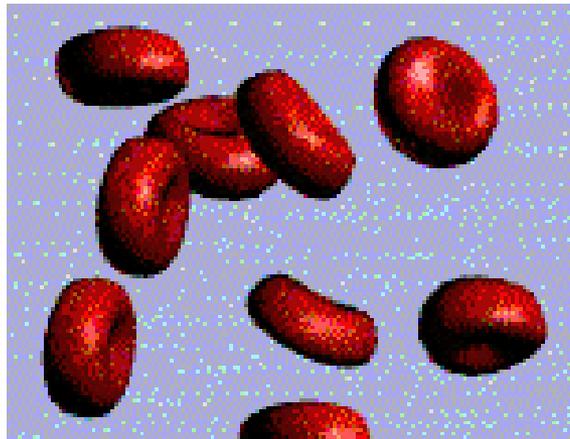
Globulo rosso



Formazione di cellula falciforme

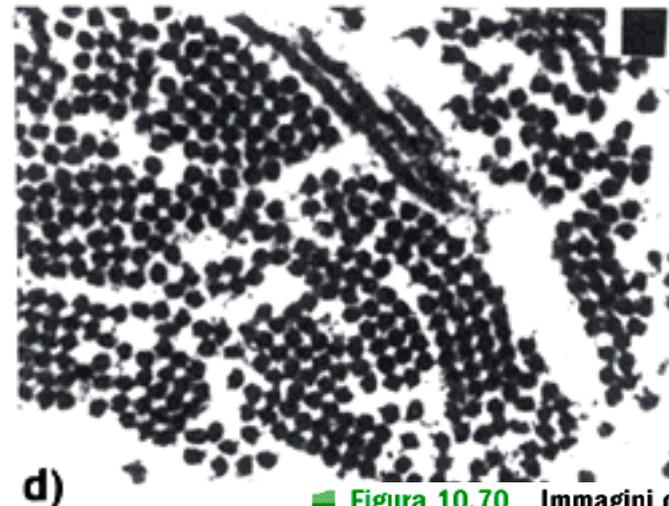
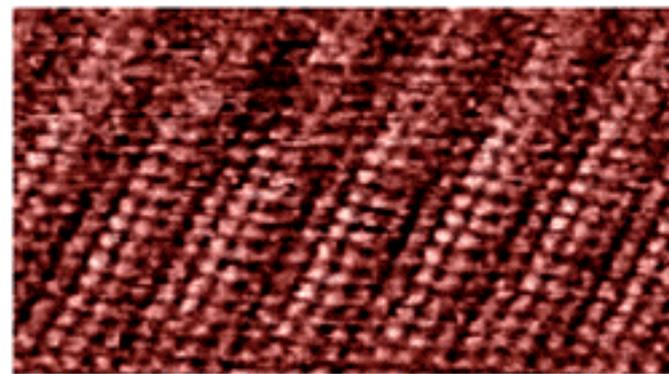
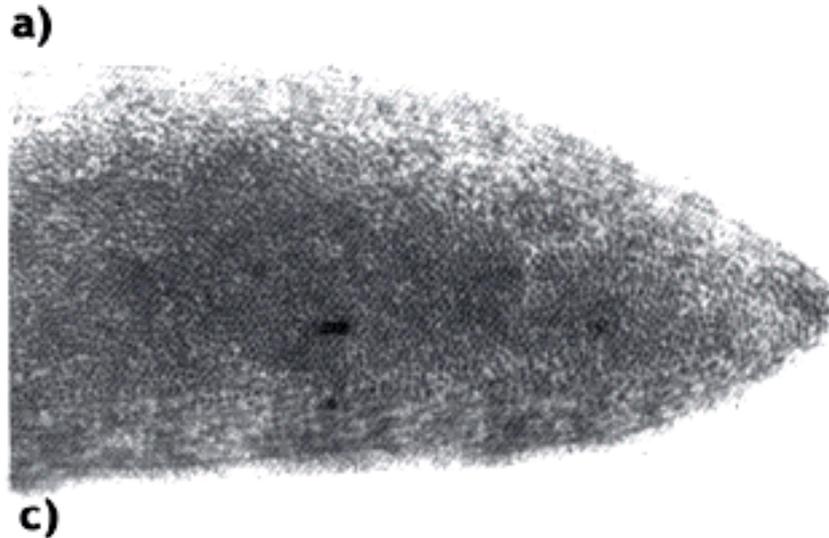
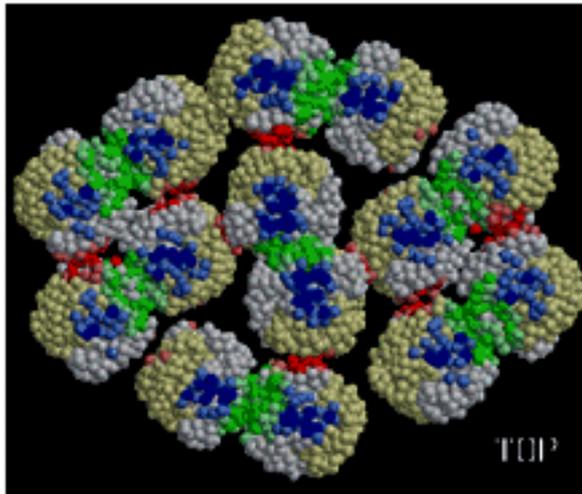


Cellula falciforme



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

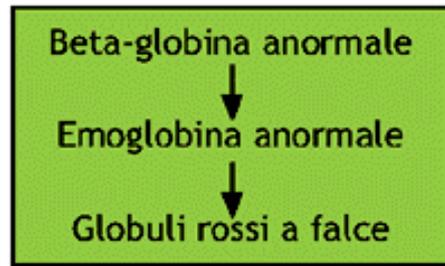
Eredità autosomica recessiva: anemia falciforme



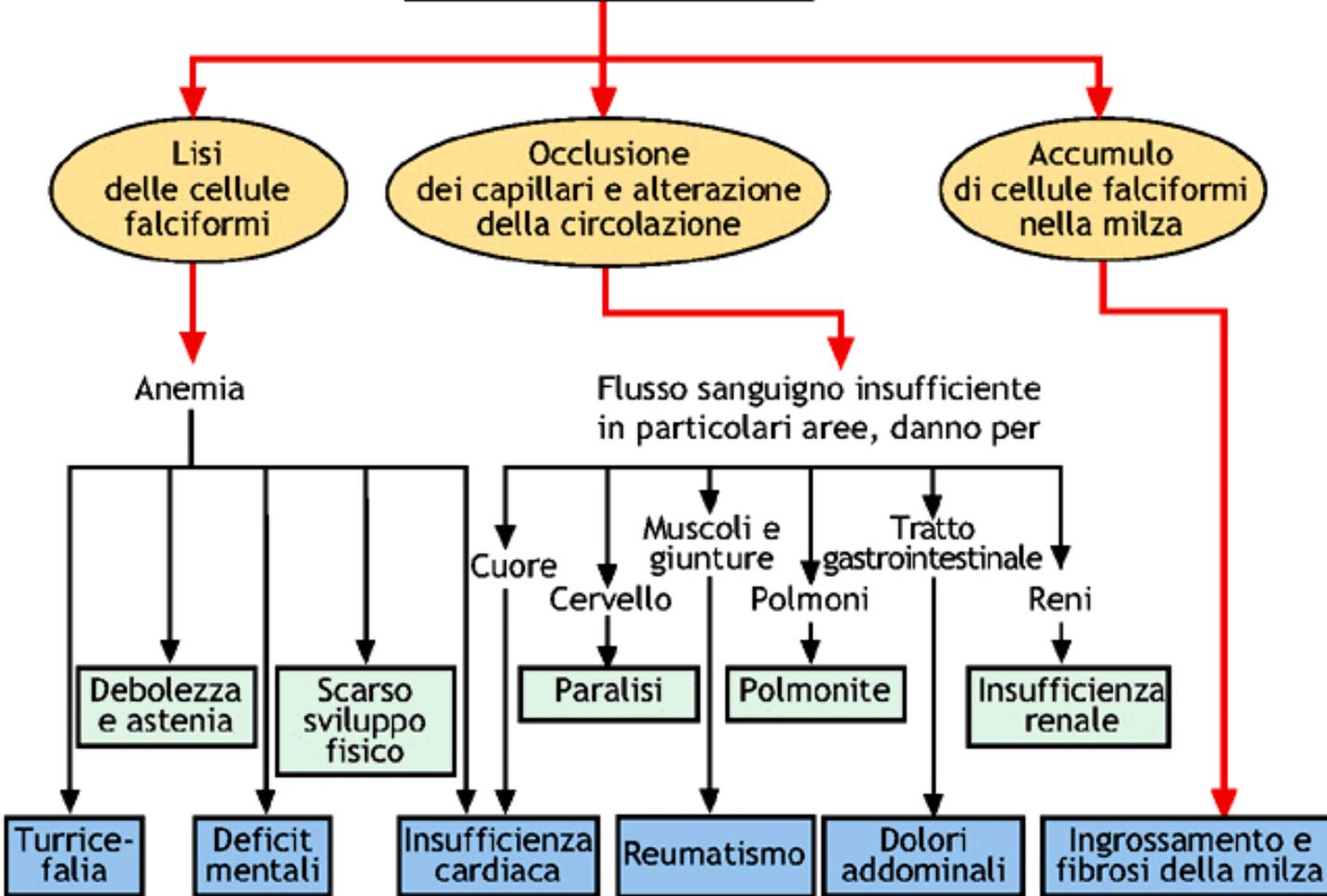
■ **Figura 10.70** Immagini delle fibre costituite da aggregati di molecole HbS negli eritrociti di soggetti con anemia falciforme. (a) Ricostruzione virtuale al computer di molecole di HbS che si aggregano per la presenza di siti “appiccicosi”; (b) micrografia al TEM a forte ingrandimento di un fascio di fibre polimerizzate; (c) aspetto al TEM, dei tattoidi in sezione trasversale di un globulo rosso falcizzato; (d) maggiore ingrandimento di (c).

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: anemia falciforme



■ **Figura 10.71 Anemia falciforme.** Il diagramma illustra gli effetti pleiotropici del difetto molecolare.



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: anemia falciforme

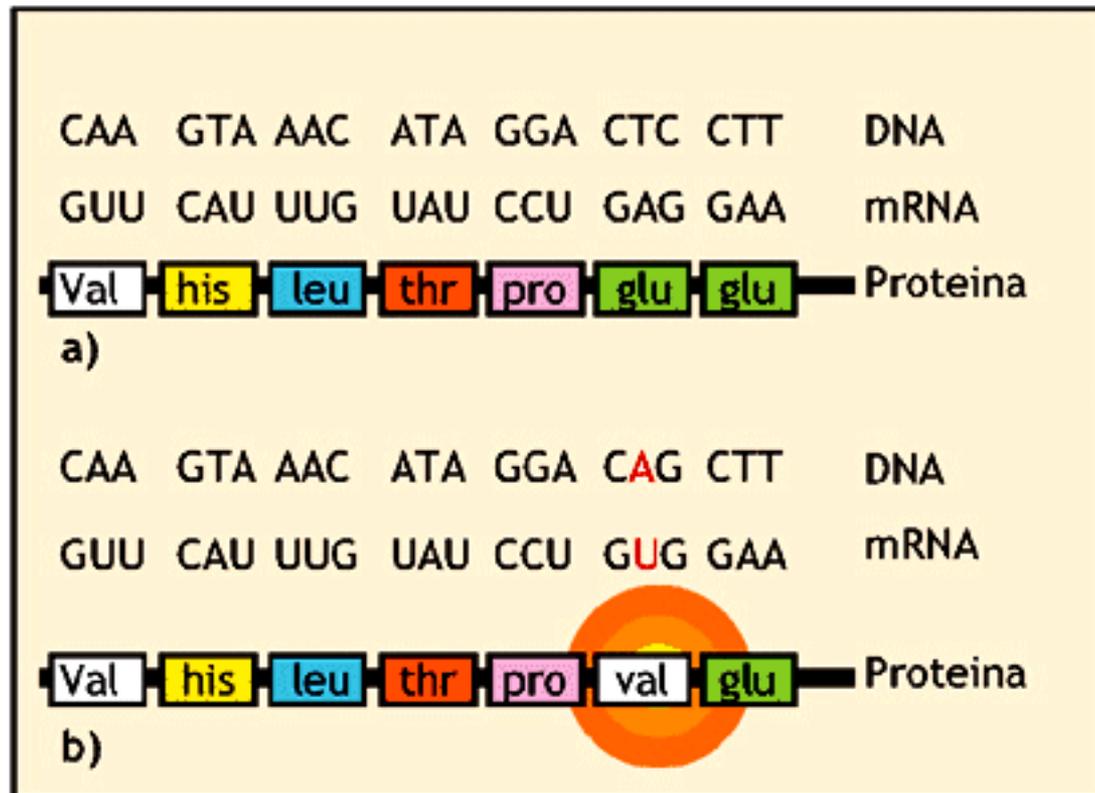
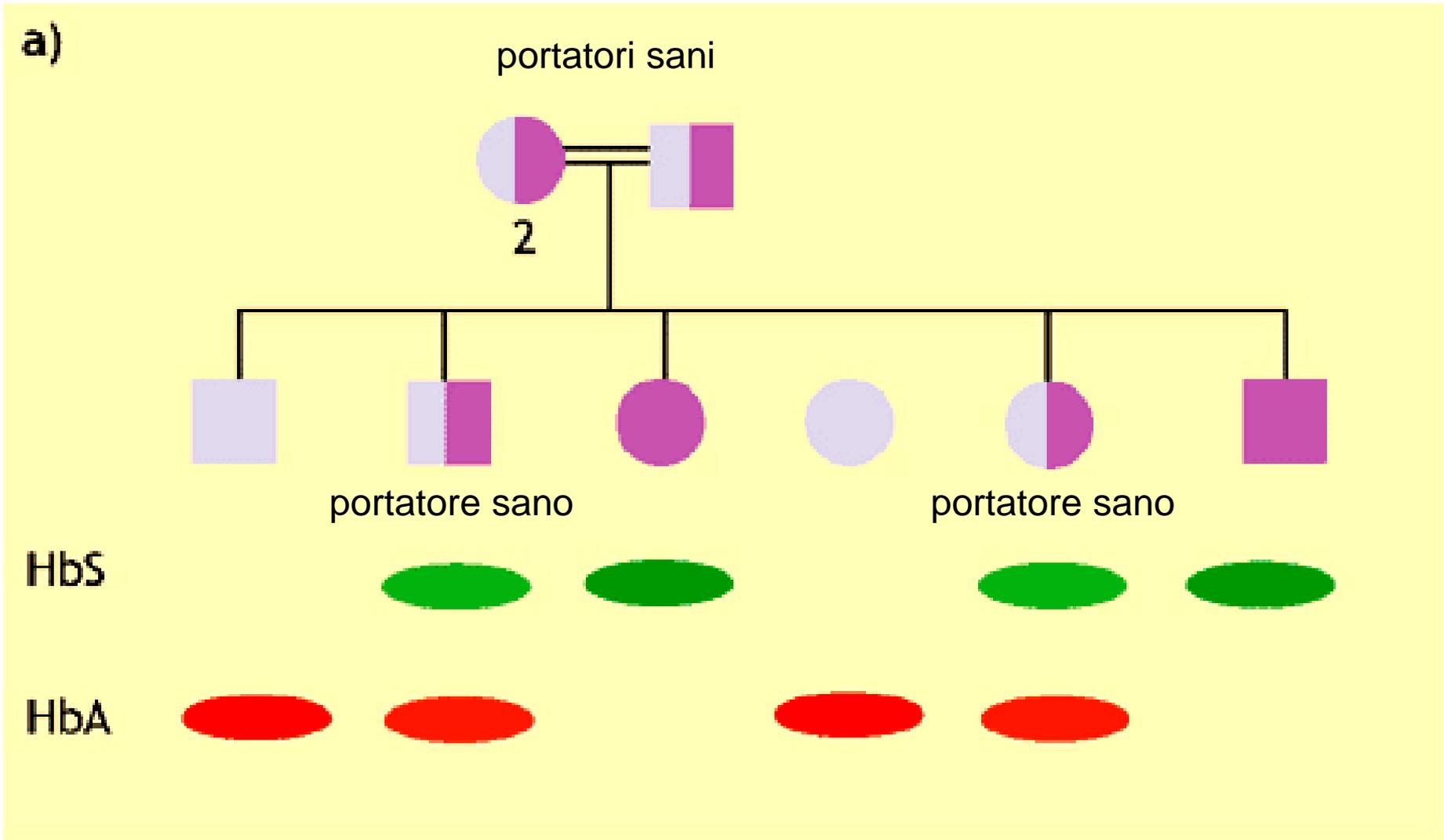


Figura 10.72 Mutazione che causa l'anemia falciforme. (a) Gene normale per la globina β , con corrispondente mRNA e proteina. (b) Nel gene mutato vi è una sostituzione nel sesto codone del primo esone del gene per la globina β , che porta nella proteina alla sostituzione dell'acido glutammico con la valina.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

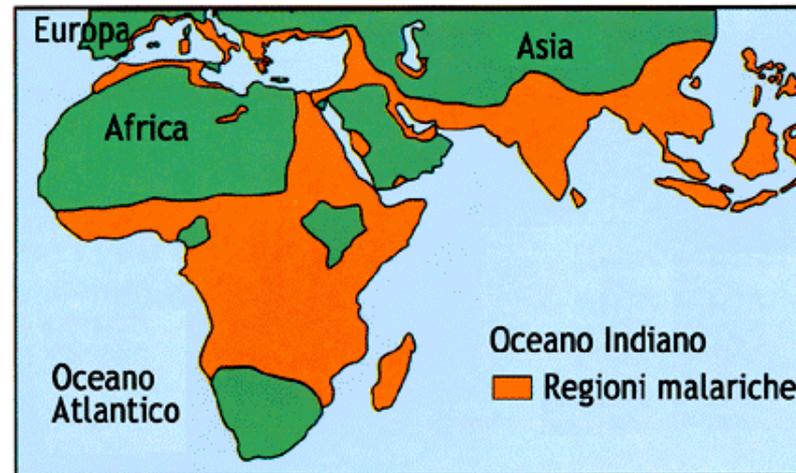
Eredità autosomica recessiva: anemia falciforme



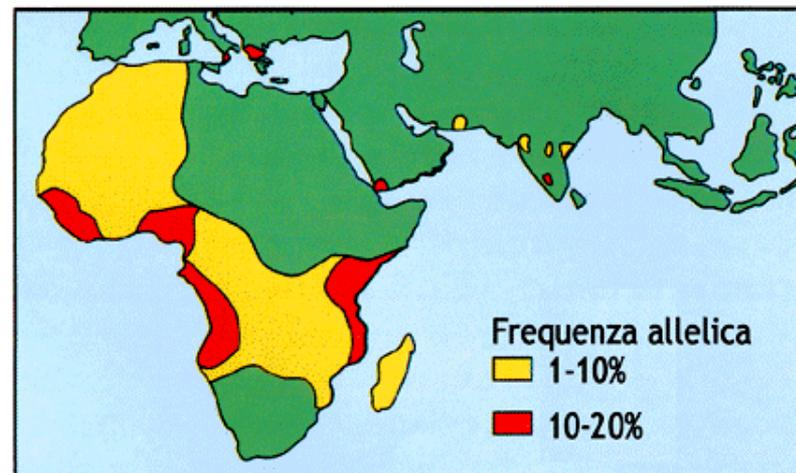
portatori sani = sono generalmente sani ma possono avere problemi clinici in particolari condizioni (montagna, sott'acqua, anestesia).

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: anemia falciforme



a)



b)

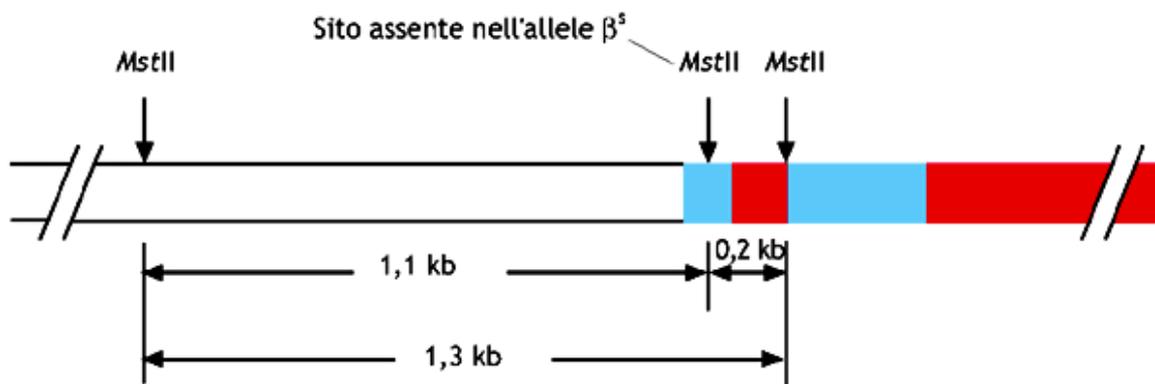
■ **Figura 10.74** Correlazione tra malaria e vantaggio dell'eterozigote portatore di anemia falciforme. (a) Distribuzione del *Plasmodium falciparum*, quindi della malaria, e (b) della HbS nell'Africa e nel bacino del mare Mediterraneo.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: anemia falciforme

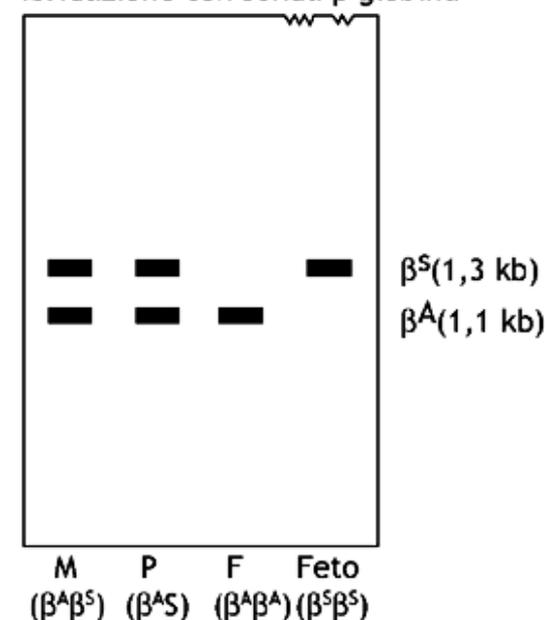
Tipo di emoglobina	Sequenza amminoacidica e sequenza del DNA e dell'RNA
HbA	- Pro - Glu - Glu - - GGA - CTC - CTT - Sito <i>Mst</i> II - CCU - GAG - GAA -
HbS	- Pro - Val - Glu - - CCU - CAC - CTT - Assenza sito <i>Mst</i> II - CCU - GUG - GAA -

Sostituzione dell'amminoacido n.6, acido glutammico, con valina per la sostituzione di T con A



a)

Taglio del DNA con *Mst*II e ibridazione con sonda β globina

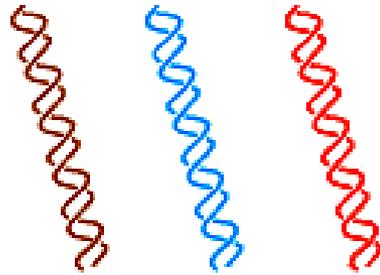


b)

■ **Figura 10.75** Frammenti di restrizione delle catene globiniche β normale e mutata. (a) Siti di restrizione per *Mst*II; (b) corsa elettroforetica che mostra: genitori eterozigoti, prole 50% normale e 50% malata.

Ibridazione di acidi nucleici

Miscela di molecole a doppio filamento di DNA cellulare totale

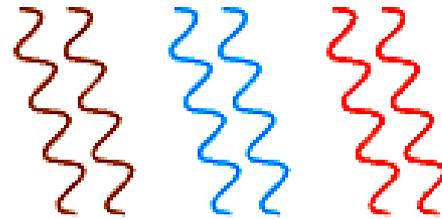


Si usa per rivelare sequenze specifiche di acidi nucleici accoppiandoli alle basi di filamenti complementari di DNA o RNA.

Denaturazione a 95°C



Separazione dei filamenti



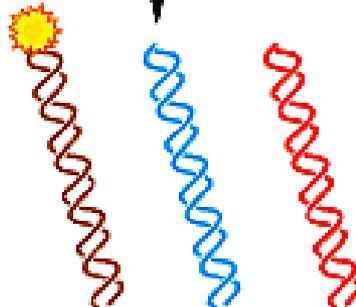
Aggiunta di una sonda radioattiva di DNA complementare ad una sequenza specifica di DNA cellulare



Rinaturazione a 65°C

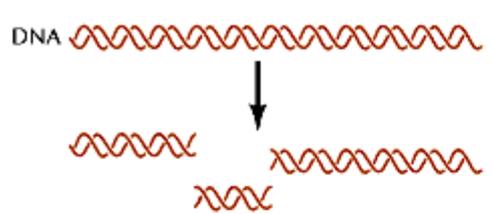


Ibridazione della sonda radioattiva con sequenze complementari presenti nel DNA cellulari

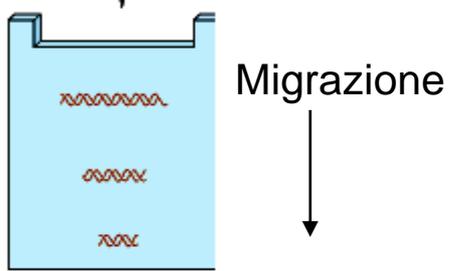


Ibridazione di acidi nucleici

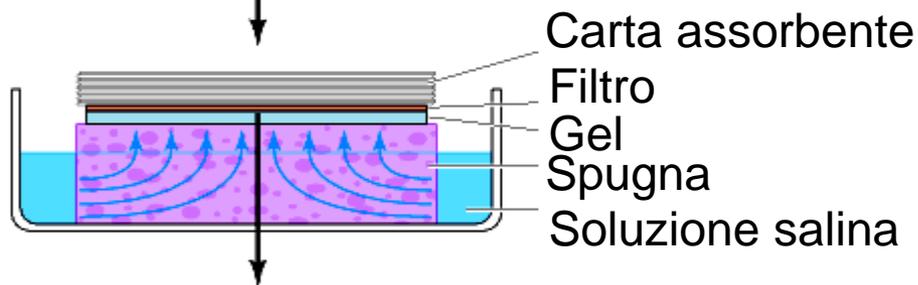
Utilizzando una sonda marcata con radioattivo è possibile individuare DNA o geni di interesse in un pool di DNA totale attraverso l'ibridazione.



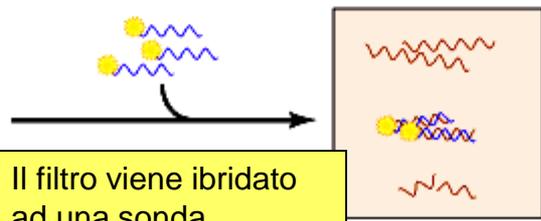
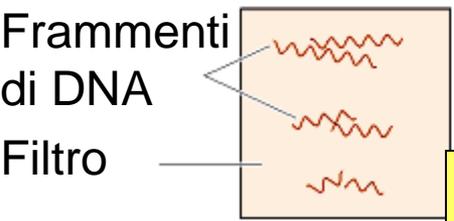
Il DNA è digerito con una endonucleasi di restrizione



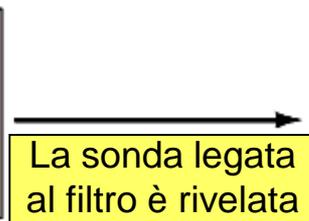
I frammenti di restrizione di dimensione diverse sono separati mediante elettroforesi su gel.



Il DNA viene denaturato e trasferito su di un filtro mediante passaggio di una soluzione attraverso il gel



Il filtro viene ibridato ad una sonda radioattiva, che si lega a sequenze complementari di DNA



La sonda legata al filtro è rivelata in autoradiografia



Lastra autoradiografica

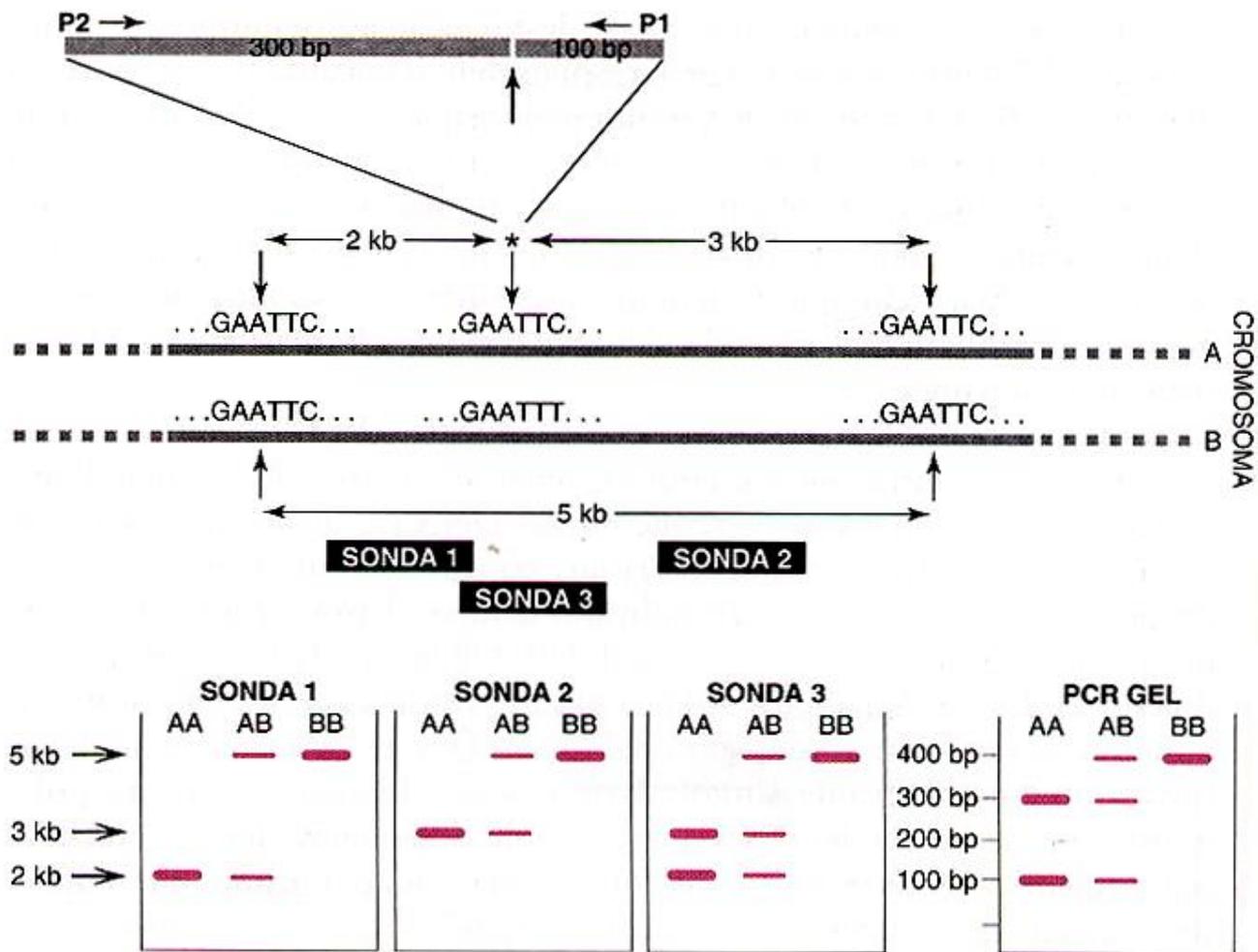


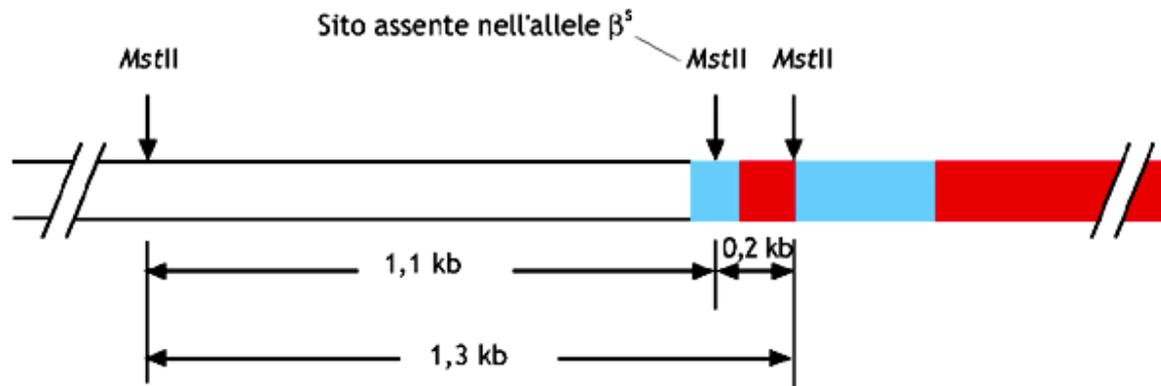
Figura 5.18. Polimorfismi di lunghezza dei frammenti di restrizione (RFLP), analisi con Southern blotting e PCR. I cromosomi omologhi A e B differiscono nella sequenza indicata dall'asterisco, che introduce nel cromosoma A, ma non nel B, un sito di restrizione per *EcoRI*; *EcoRI* riconosce la sequenza GAATTC. I primers per PCR P1 e P2 sono stati sintetizzati per amplificare il DNA genomico intorno al sito di *EcoRI*. Il DNA genomico è stato digerito con *EcoRI*. Le bande visibili nel Southern blotting dipendono da quale sonda è stata usata poiché i frammenti sono identificati soltanto se la sonda si appaia almeno parzialmente. Il gel all'estrema destra mostra l'analisi dei prodotti di PCR che sono stati amplificati utilizzando i primers P1 e P2 e successivamente digeriti con *EcoRI*. AA è omozigote per il cromosoma A, AB è eterozigote e BB è omozigote per il cromosoma B.

Tecnologia DNA Ricombinante

Enzimi di restrizione

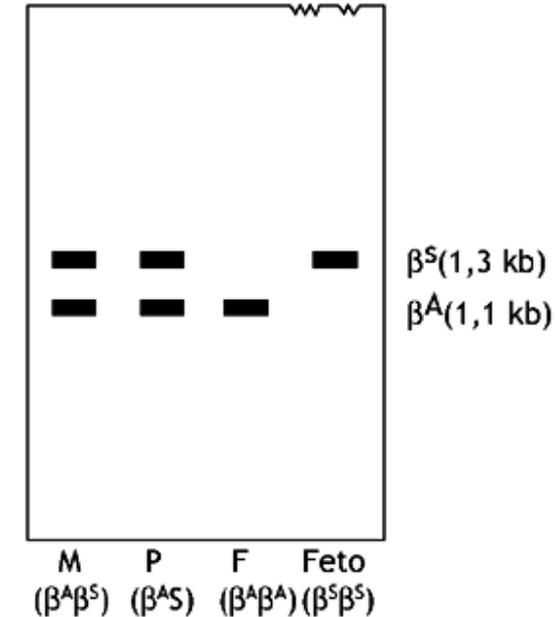
Tipo di emoglobina	Sequenza amminoacidica e sequenza del DNA e dell'RNA
HbA	- Pro - Glu - Glu- - GGA - CTC - CTT- Sito <i>Mst</i> II - CCU - GAG - GAA-
HbS	- Pro - Val - Glu- - CCU - CAC - CTT- Assenza sito <i>Mst</i> II - CCU - GUG - GAA-

Sostituzione dell'amminoacido n.6, acido glutammico, con valina per la sostituzione di T con A



a)

Taglio del DNA con *Mst*II e ibridazione con sonda β globina



b)

■ **Figura 10.75 Frammenti di restrizione delle catene globiniche β normale e mutata.** (a) Siti di restrizione per *Mst*II; (b) corsa elettroforetica che mostra: genitori eterozigoti, prole 50% normale e 50% malata.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: anemia falciforme

(a)	Tipo di emoglobina	Sequenza amminoacidica e sequenza dei nucleotidi del DNA
	A	- P r o - G l u - G l u - - C C T - G A G - G A G - Sito <i>Mst</i> II
	C	- P r o - L i s - G l u - - C C T - A A G - G A G -

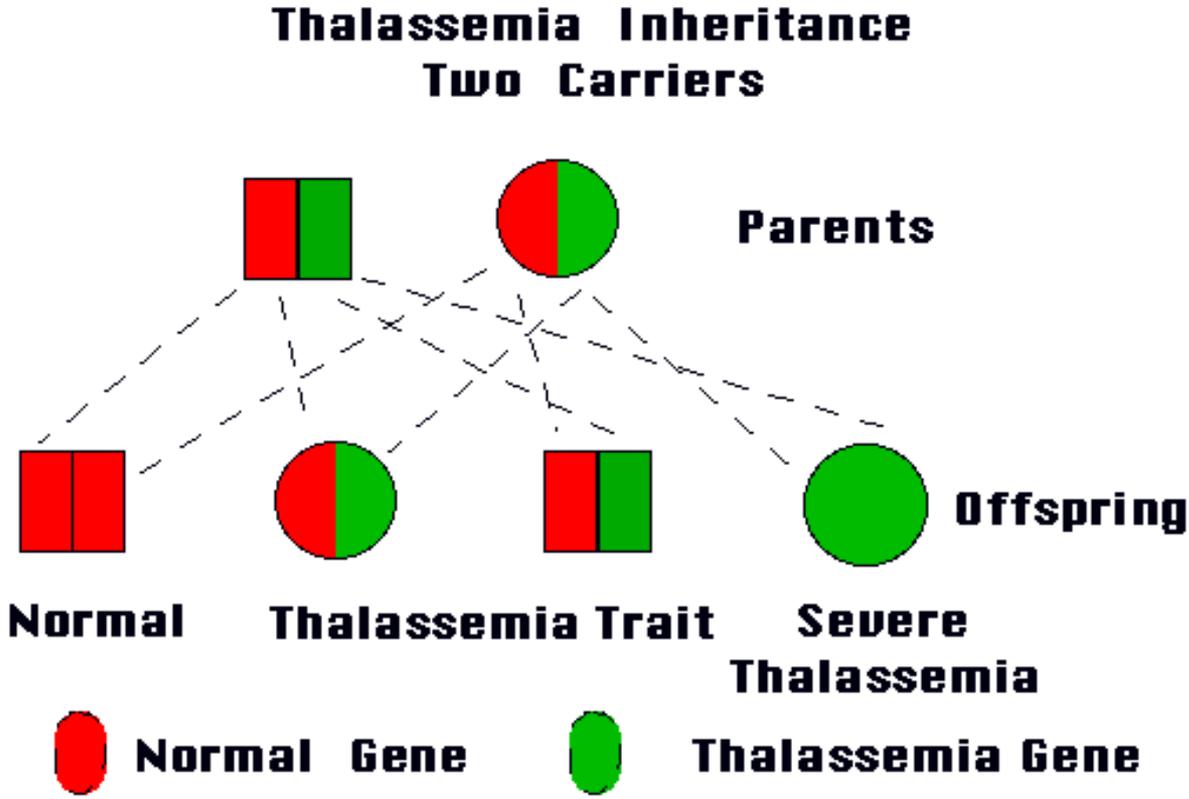
Varianti Hb:

Hb-S	Val	His	Leu	Val	Glu	Glu	His	Val	Glu	His
Hb-C	Val	His	Leu	Lys	Glu	Glu	His	Val	Glu	His
Hb-G San Jose	Val	His	Leu	Glu	Gly	Glu	His	Val	Glu	His
Hb-E	Val	His	Leu	Glu	Glu	Lys	His	Val	Glu	His
Hb-M Saskatoon	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	Tyr	Val	Glu	His
Hb Zurich	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	Arg	Val	Glu	His
Hb-M Milwaukee-1	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	His	Glu	Glu	His
Hb-D β Punjaba	Val	His	Leu	Glu	Glu	Glu	His	Val	Gln	His

■ **Figura 10.76** Possibili varianti emoglobiniche e relativo schema delle sostituzioni amminoacidiche nelle catene α e β .

Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica recessiva. Talassemie

Sono un gruppo di malattie ereditarie determinate da anomalie nell'emoglobina, nelle quali il fenotipo deriva da un'alterazione del rapporto reciproco tra globine alfa e beta. La sintesi di una delle globine può essere ridotta o anche assente, causando la formazione di molecole di emoglobina aberranti con uno squilibrio tra le subunità. Questo tipo di molecole non lega l'ossigeno efficientemente e determina effetti gravi se non addirittura fatali.

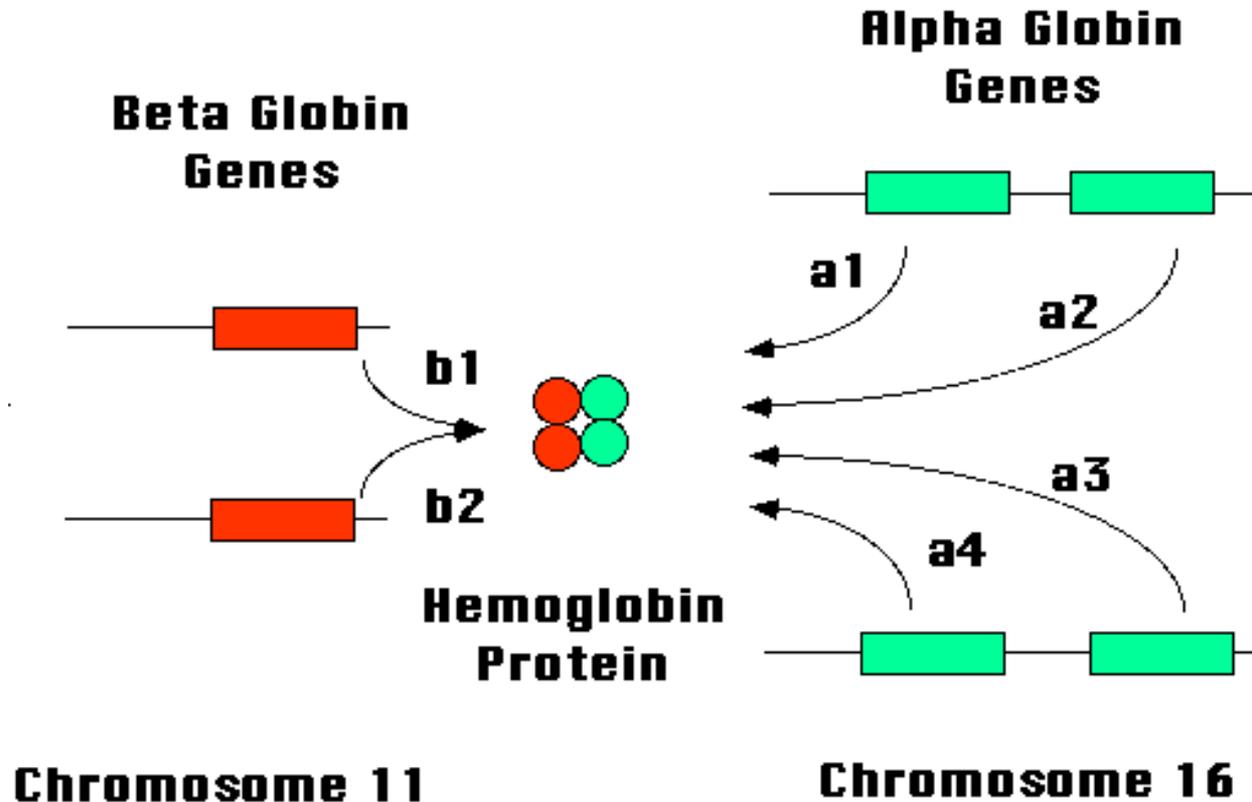


Le talassemie sono comuni in diverse aree del mondo, soprattutto nel Mediterraneo e nel Sud Ovest asiatico, dove il 20-30% della popolazione risulta affetta. Il nome "talassemia" deriva dal greco *thalassa*, ovvero mare, quindi il nome della malattia enfatizza una condizione caratteristica di individui del bacino del Mediterraneo.

Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica recessiva. Talassemie

- Ci sono due tipi di Talassemie: 1. **Talassemia alfa**, in cui la sintesi della globina alfa è ridotta o assente;
2. **Talassemia beta**, che riguarda la sintesi ridotta o assente della globina beta.

In entrambi i casi vi possono essere cause differenti e benché queste condizioni siano ereditabili come caratteri autosomici recessivi, entrambe le forme di talassemia danno effetti fenotipici in eterozigosi.

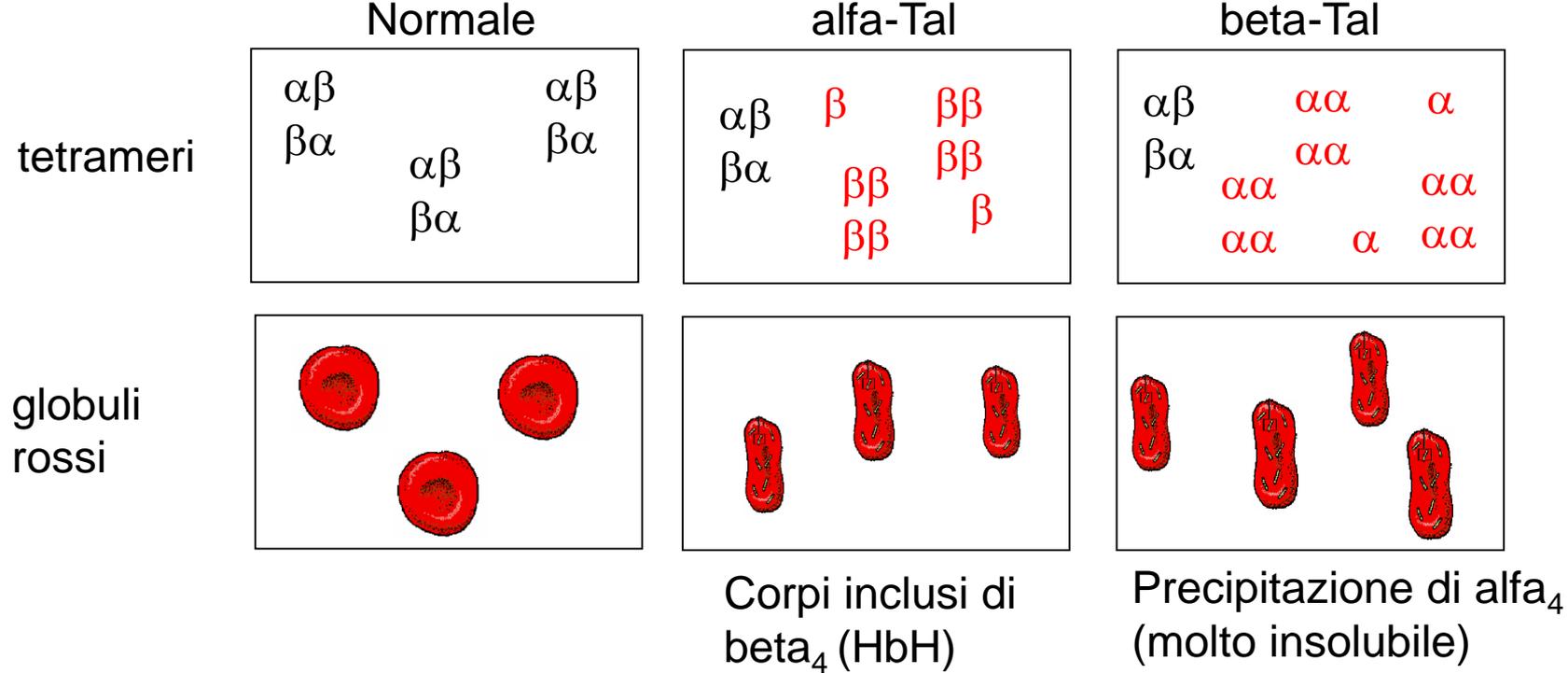


Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica recessiva. Talassemie

Le talassemie sono anomalie ereditarie della produzione di emoglobina in cui il problema principale è un difetto quantitativo della alfa-globina (alfa Talassemia) o della beta-globina (beta Talassemie). Come nel caso dell'anemia falciforme la distribuzione della Talassemia coincide con quella della malaria.

L'alfa Talassemia è caratterizzata da un difetto relativo di sintesi delle catene alfa-globiniche, con normale produzione di catene beta. Se alcune catene alfa possono ancora essere prodotte, si formerà una piccola quantità di tetrameri normali, ma ci sarà un forte eccesso di catene beta. In queste circostanze beta è in grado di formare omotetrameri (beta₄). Questa emoglobina detta emoglobina H (HbH), può essere visualizzata sotto forma di corpi inclusi all'interno dei globuli rossi degli individui affetti da alfa-Talassemia. La HbH ha una capacità marcatamente ridotta di trasportare ossigeno. La conseguenza di questo eccesso di catene beta e del difetto di catene alfa è che i globuli rossi hanno dimensioni e numero ridotti, con conseguente anemia.

Nella beta-Talassemia c'è un difetto delle catene beta. In queste circostanze l'alfa globina è in eccesso forma degli omotetrameri che precipitano in aggregati molto insolubili. Gli eritrociti vengono distrutti precocemente distruzione nel midollo osseo e milza.

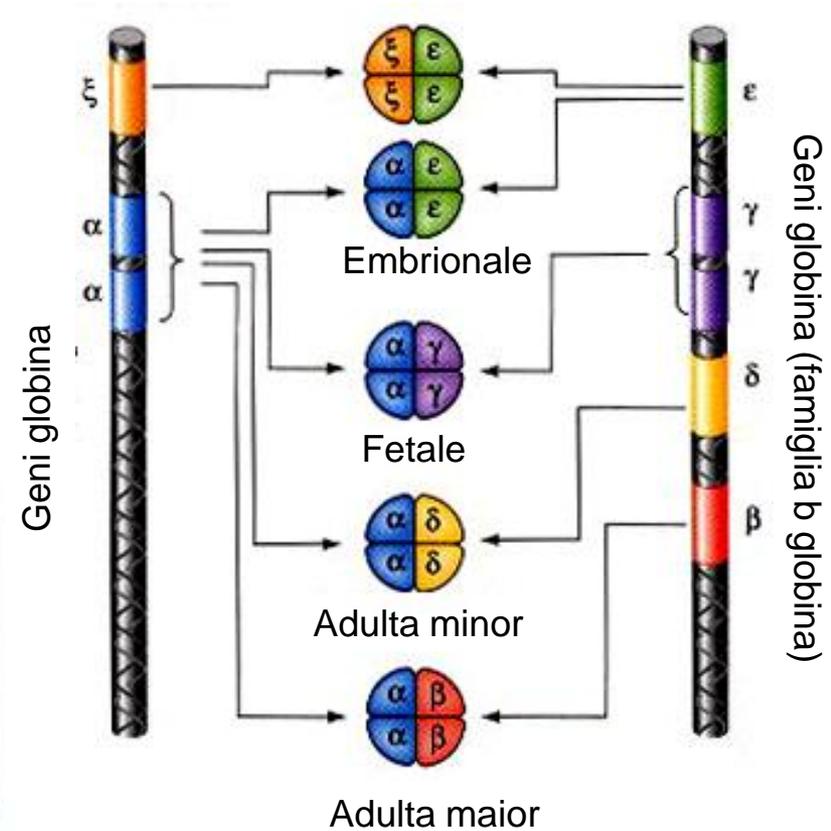


ACIDI NUCLEICI

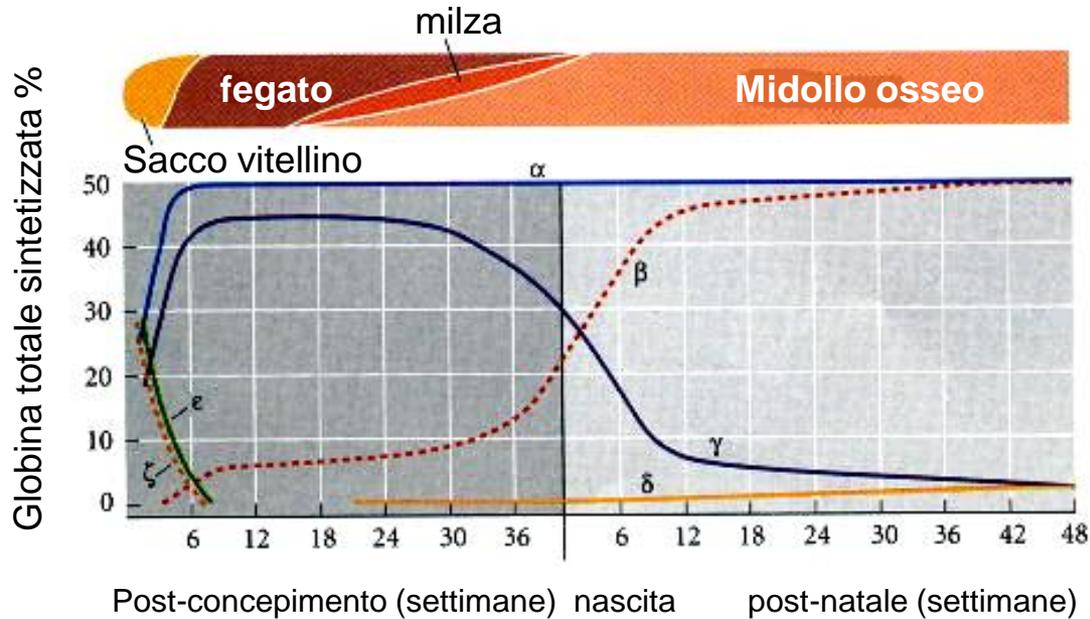
Le emoglobine umane

Le classi del DNA

Cromosoma 16 Globine Cromosoma 11

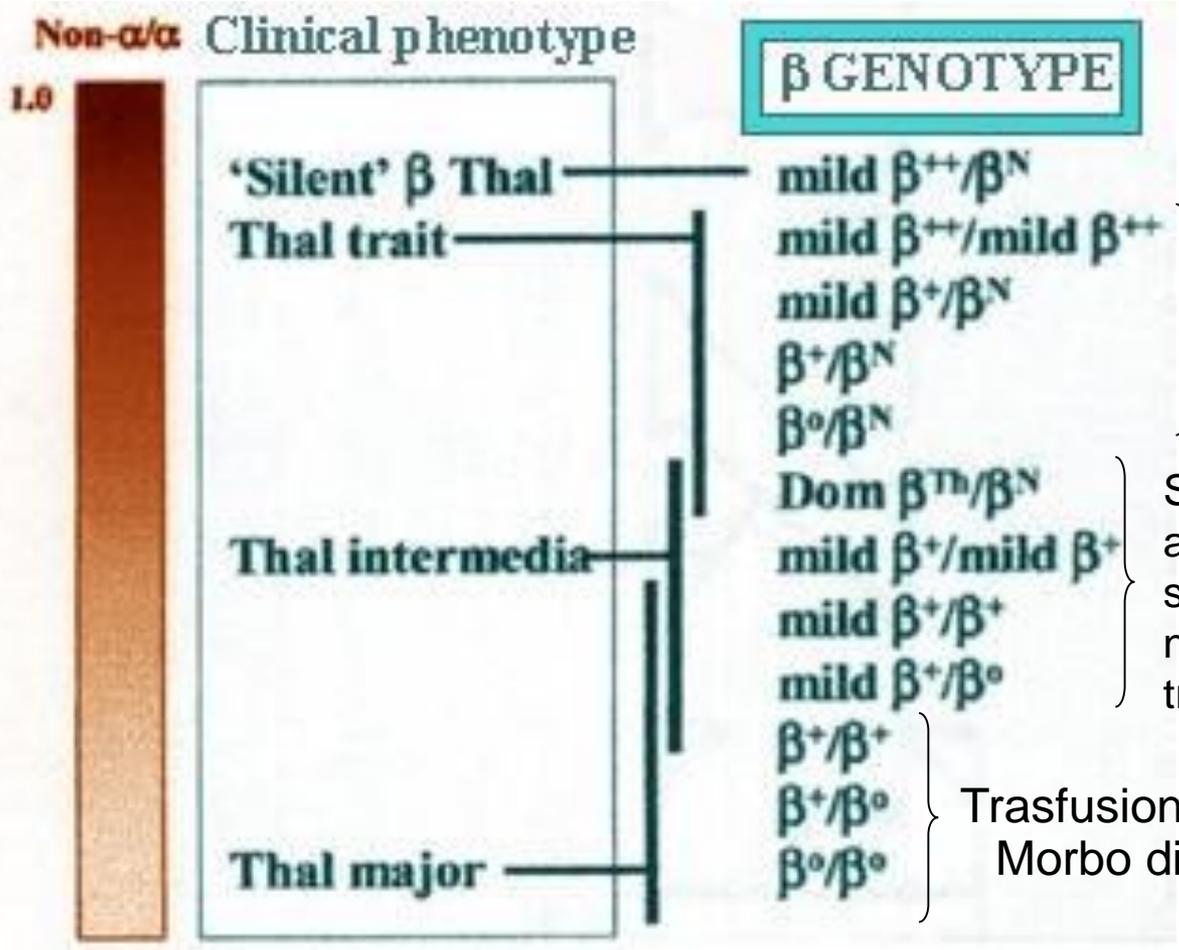


Siti di eritropoiesi



Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica recessiva. Beta-talassemie

Nelle beta Talassemie si riscontra un deficit delle catene beta.

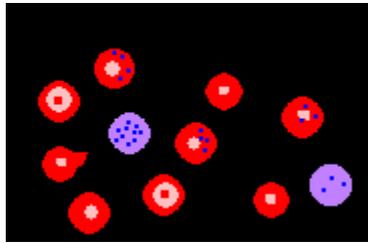


Tal-minor
asintomatici

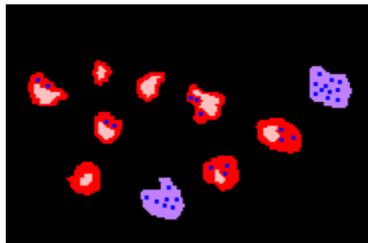
Sintomatica,
anemia
significativa ma
non richiede
trasfusioni

Trasfusione dipendenti
Morbo di Cooley (precipitazione tetrameri)

Minor



Major



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: Talassemie β major

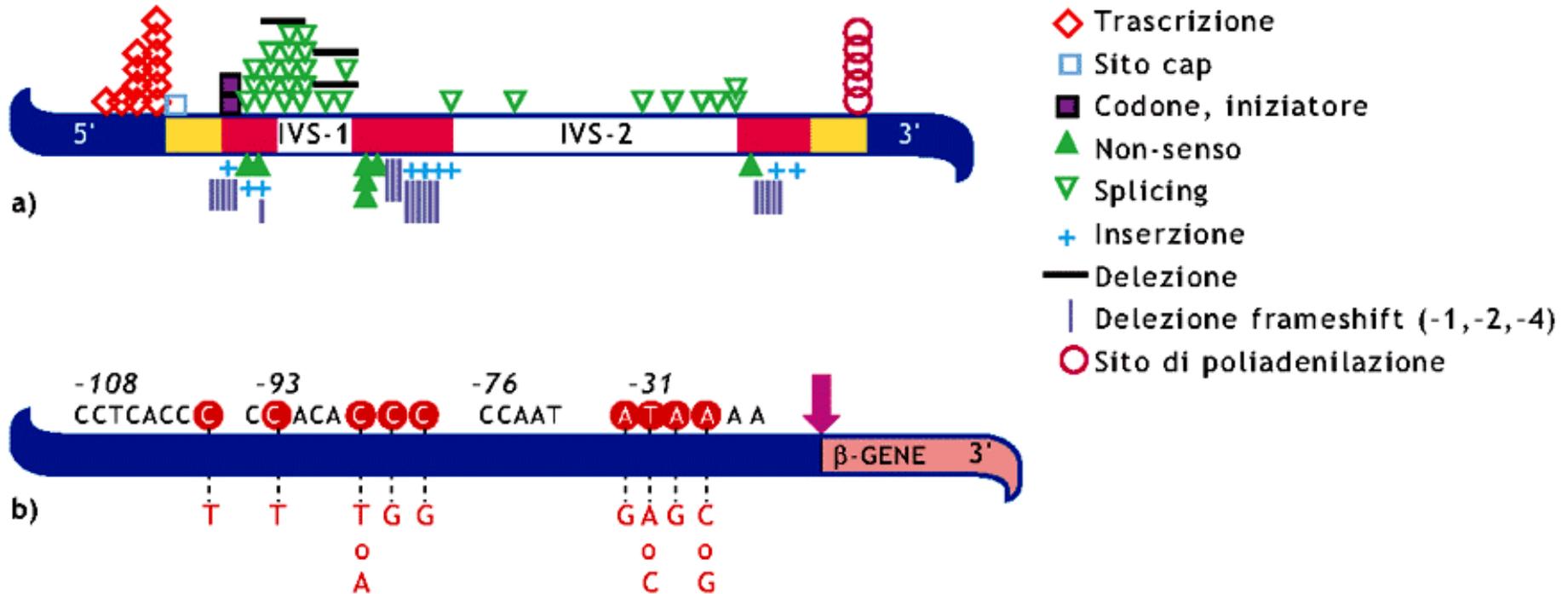


Figura 10.79 β -talassemia. (a) Rappresentazione schematica delle possibili mutazioni; (b) mutazioni puntiformi nel promotore del gene β che causano β^+ -talassemia.

Mutazione comune in Sardegna e Sicilia T39
 CAG glutamina con TAG stop

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità autosomica recessiva: Talassemie β

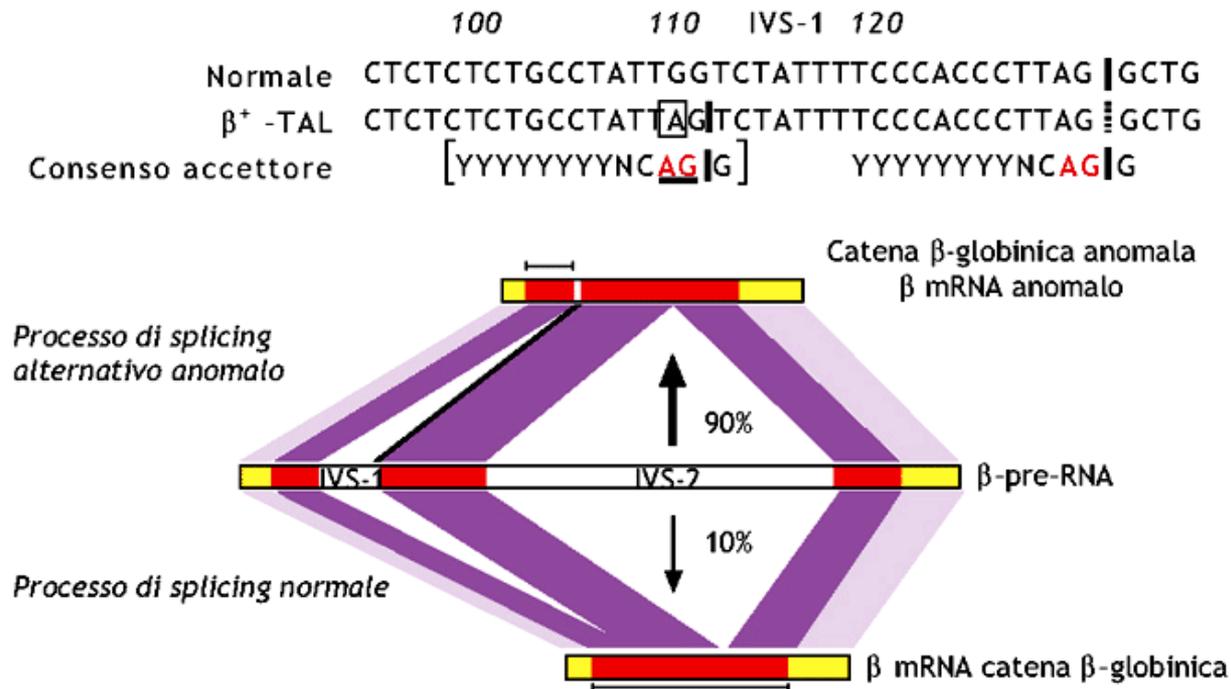


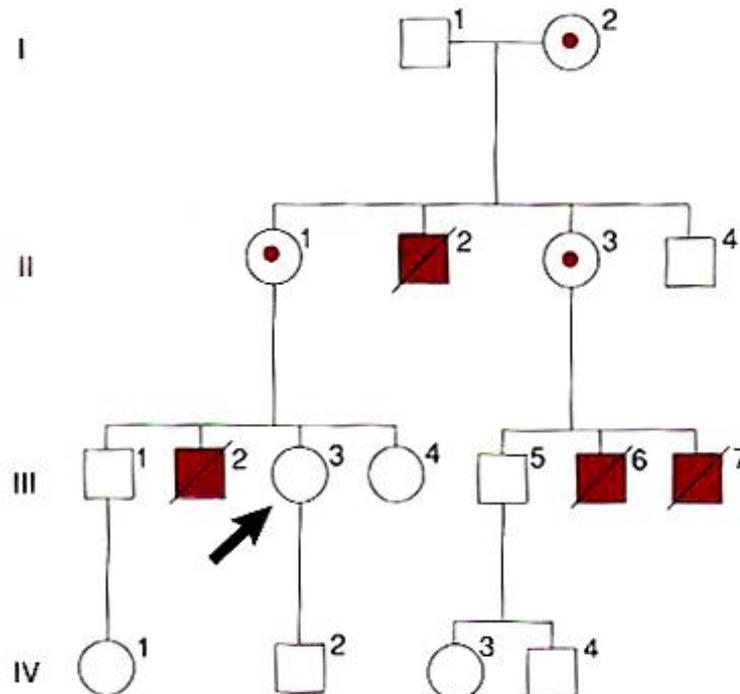
Figura 10.80 β^+ -talassemia. La sostituzione di una G con A, in posizione 110 del primo introne, causa la costituzione di un sito anomalo di splicing. Una parte soltanto dei messaggeri codifica per normali globine β (10%), mentre la maggior parte (90%) produrrà globine non funzionali. Y = C o T; N = qualsiasi nucleotide; nella sequenza in alto, i tratti verticali indicano i punti di splicing, mentre il sottolineato la sequenza AG del sito di accettore.

Ereditarietà X-linked

Le malattie X-linked sono provocate da geni mutanti sul cromosoma X. I geni mutanti X-linked **sono completamente espressi nei maschi** che hanno un solo cromosoma X e sono quindi **emizigoti** per i geni X-linked.

Una malattia prodotta da un gene mutante X-linked può essere o non essere espressa clinicamente nelle femmine eterozigoti (**fenomeno della lyonizzazione**). Le malattie che raramente hanno una espressione clinica nelle femmine eterozigoti sono **X-linked recessive**.

Tipiche malattie X-linked recessive sono l'emofilia A e la distrofia muscolare di Duchenne

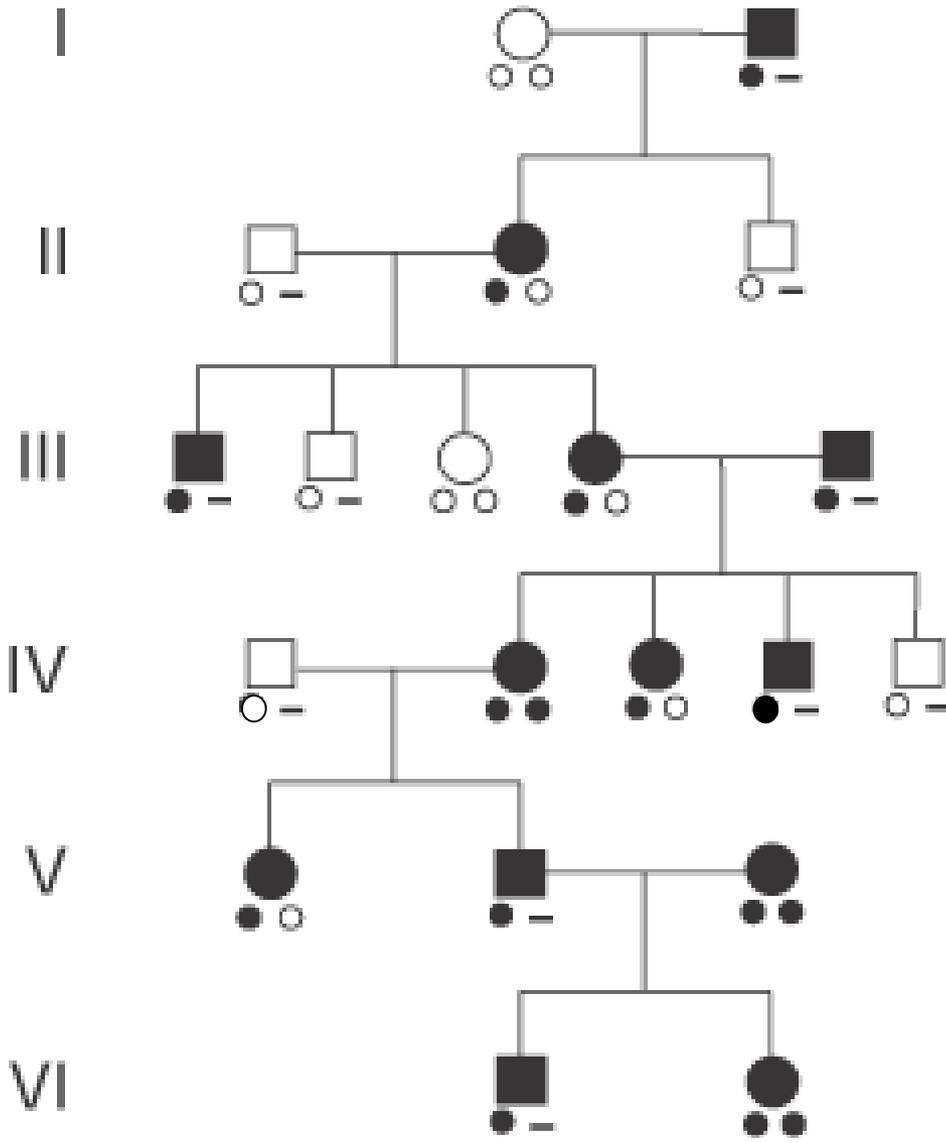


Il pedigree di una famiglia con la distrofia muscolare di Duchenne

Le femmine sono portatrici obbligate

Ereditarietà X-linked dominante: es. Ipofofosfatemia = bassi livelli di fosfato nel sangue = deformità dello scheletro: rachitismo

1. Gli individui maschi affetti generano solo figlie femmine affette e nessun figlio maschio affetto:



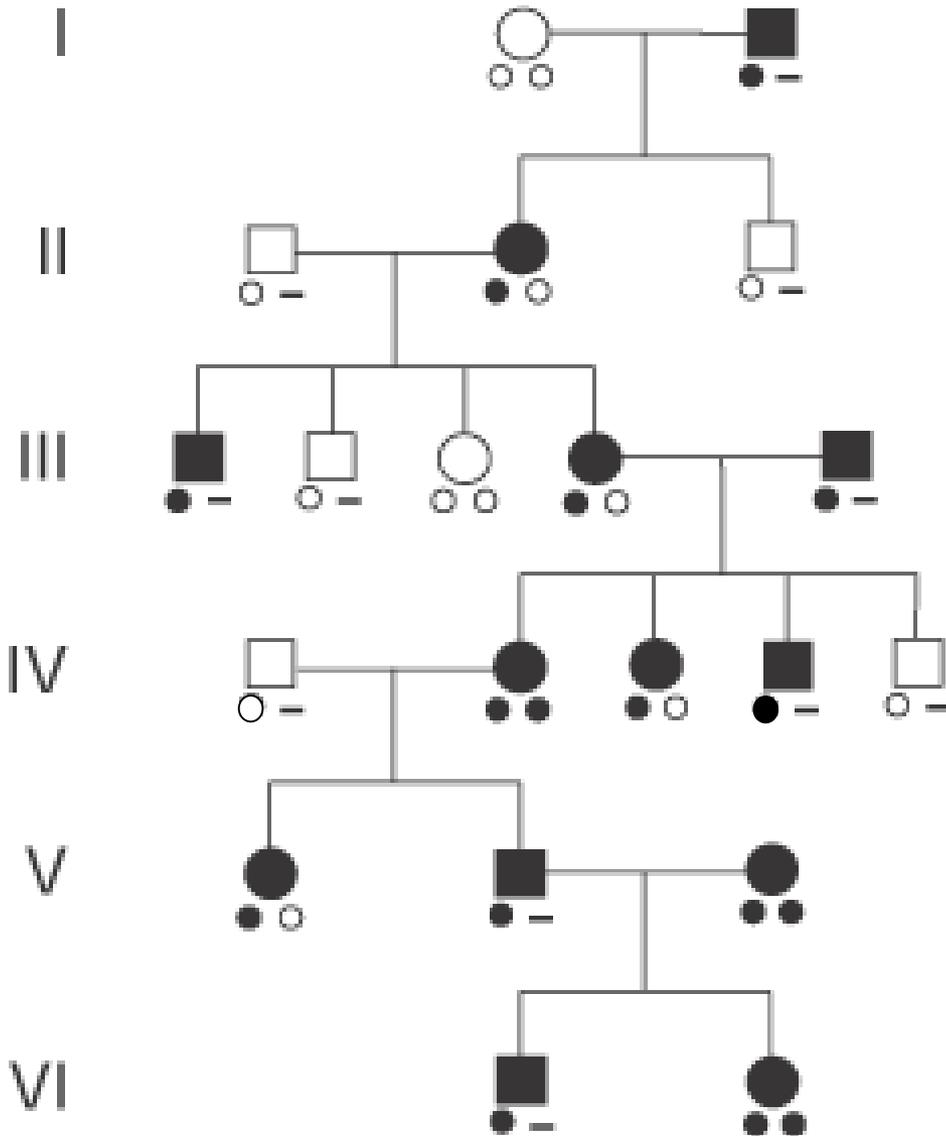
	♀ X	♂ X	Y
X	XX ○	XY □	
X	XX ○	XY □	

2. Una femmina eterozigote affetta trasmetterà il carattere a metà dei suoi figli e maschi e femmine ne saranno ugualmente affetti

	♀ X	♂ X	Y
X	XX ○	XY □	
X	XX ○	XY □	

Ereditarietà X-linked dominante

3. Come atteso una femmina omozigote trasmetterà il carattere a tutti i suoi figli



	♂ X	Y
♀ X	X ⁺ X ⁻ ○	X ⁻ Y □
X ⁺	X ⁺ X ⁻ ○	X ⁻ Y □

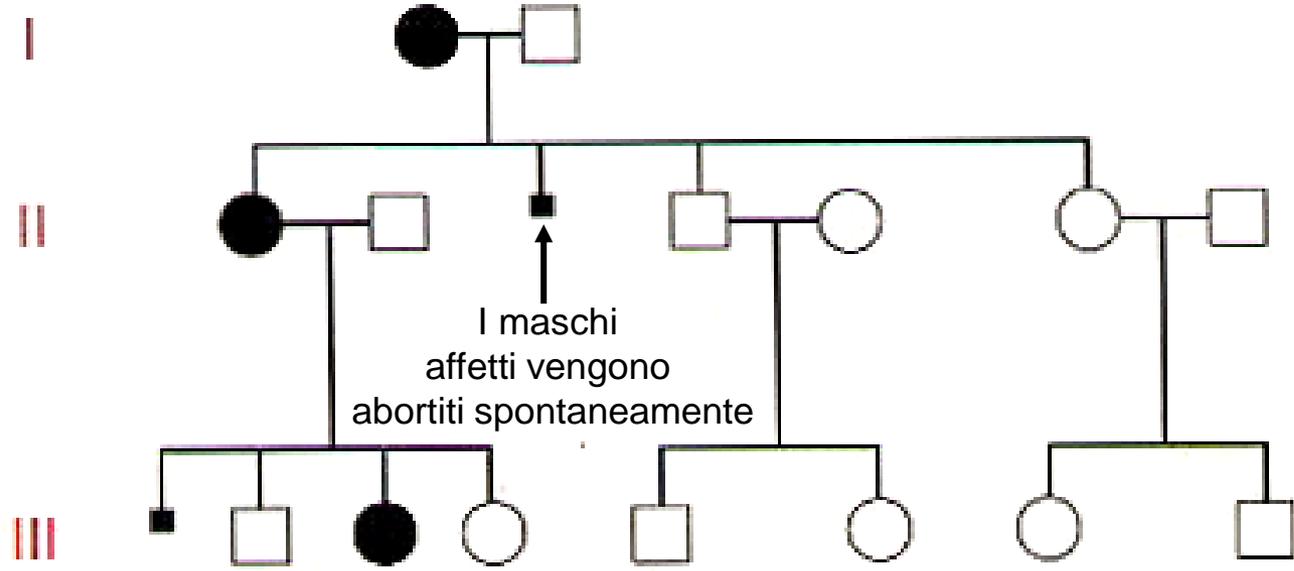
Variazioni del modello di ereditarietà

La letalità dei maschi

Le condizioni legate all'X letali nei maschi

Per alcune condizioni dominanti legate all'X l'assenza dell'allele normale è letale prime della nascita. Quindi non nascono maschi affetti e si osserva la malattia solo nelle femmine, che la trasmettono a metà delle loro figlie femmine.

2. Una femmina eterozigote affetta trasmetterà il carattere a metà dei suoi figli e maschi e femmine ne saranno ugualmente affetti



	♂ X	Y
♀ X	XX ○	XY □
X	XX ○	XY □

Variazioni del modello di ereditarietà

La letalità dei maschi e la lyonizzazione possono complicare l'eredità dei caratteri legati all'X

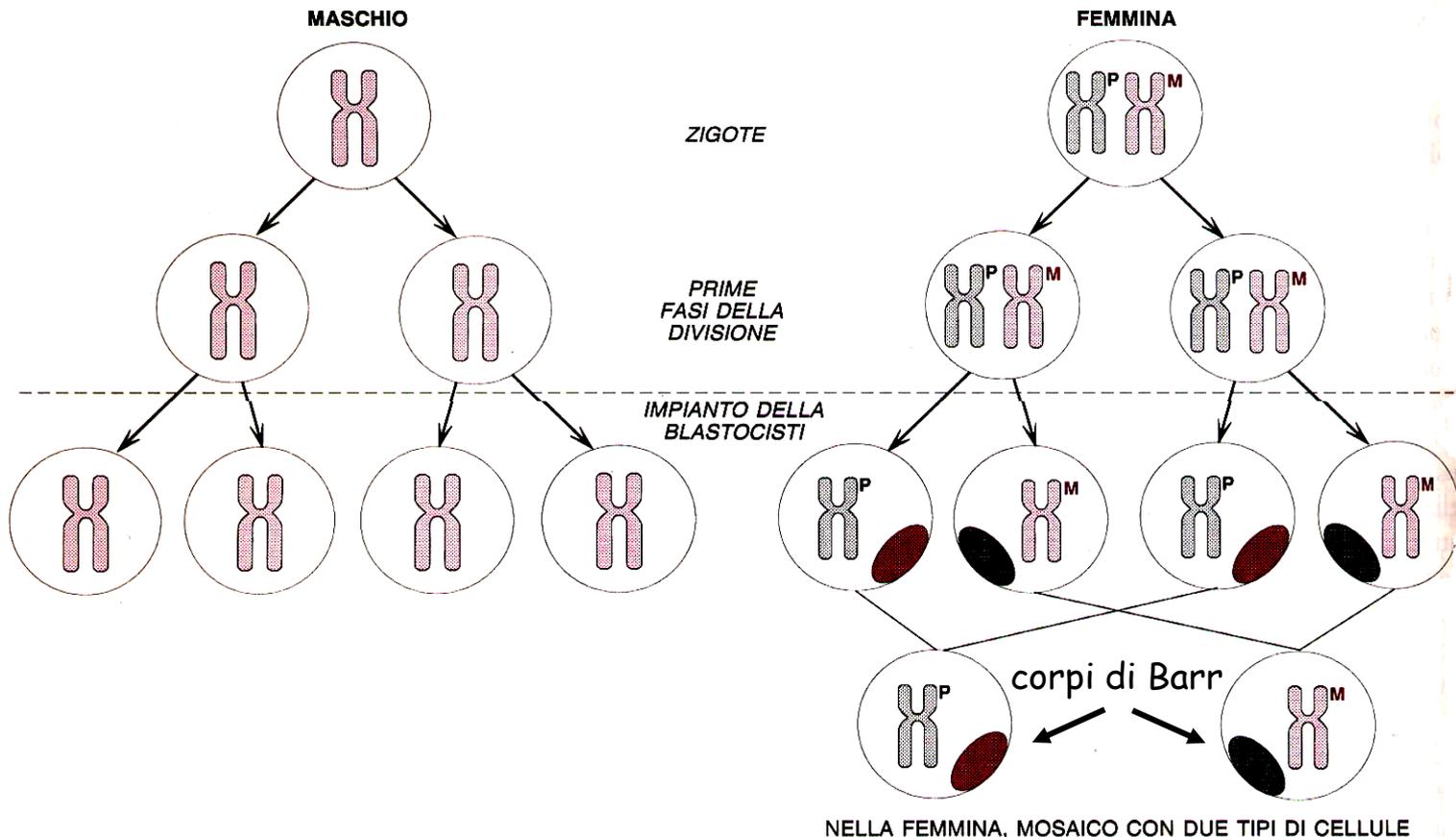
L'inattivazione dell'X (lyonizzazione)

L'inattivazione di uno dei due cromosomi X è casuale. Le femmine risultano eterozigoti a livello di organismo in *toto*, ma funzionalmente ciascuna cellula esprime o un allele o l'altro. Le portatrici di patologie recessive legate all'X spesso manifestano alcuni sintomi, mentre le eterozigoti per malattie dominanti solitamente sono affette in modo più lieve e variabile dei maschi affetti.

Il fenomeno della lyonizzazione

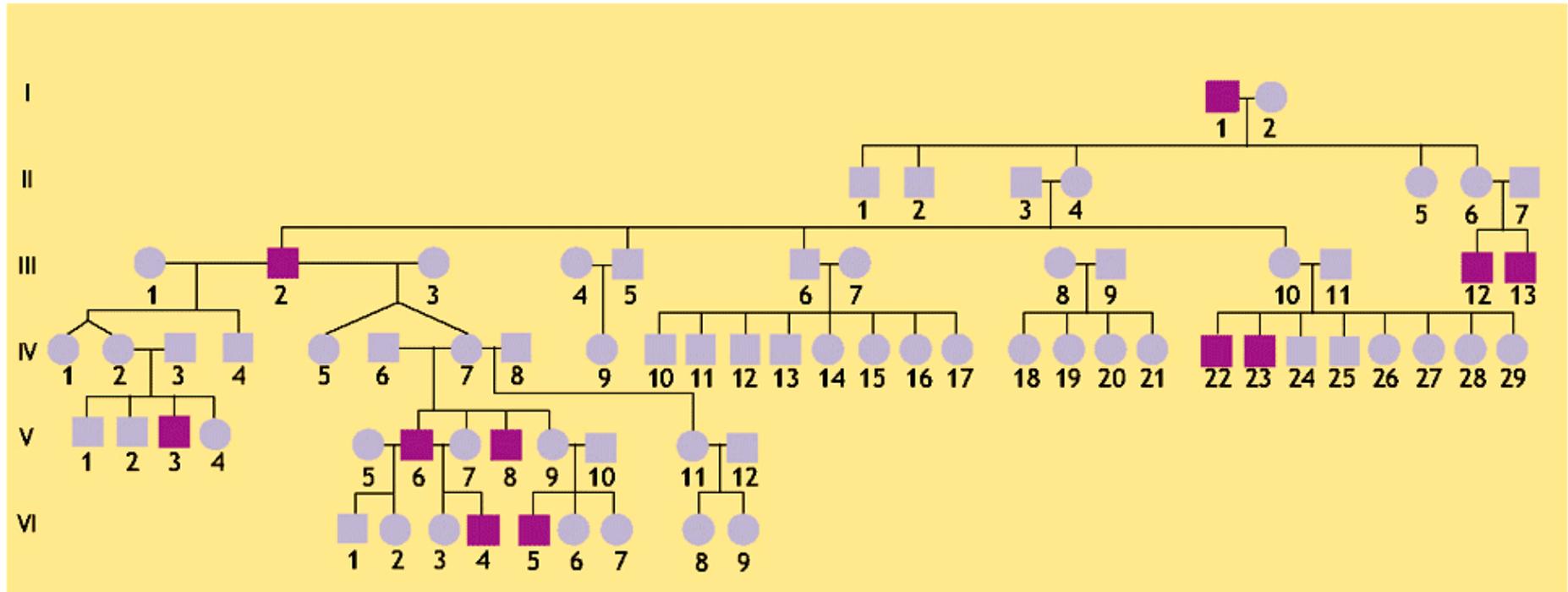
L'ipotesi di Lyon stabilisce che nelle cellule **somatiche**:

- L'inattivazione del cromosoma X si verifica **precocemente** durante la vita embrionale (stadio di blastocisti avanzata, nell'uomo).
- L'inattivazione è **casuale**.
- L'inattivazione dell'X è **completa**.
- L'inattivazione è **permanente** e si propaga **clonalmente**.



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità legata al cromosoma X e recessiva



■ **Figura 10.94** Albero genealogico di una famiglia in cui si osserva la modalità di trasmissione ereditaria di un carattere recessivo “legato” al cromosoma X. Tipicamente il carattere avanza come il cavallo degli scacchi, salta una generazione (la II) e si manifesta nei soggetti maschi figli di donne che non lo presentano (II4 e II6; III10; IV2 e IV7; V7 e V9); questa condizione è ulteriormente “confermata” dal fatto che alcuni soggetti maschi hanno rapporti di I e II letto (per esempio III2) determinando nelle due famiglie analogo distribuzione del carattere.

Ereditarietà X-linked recessiva

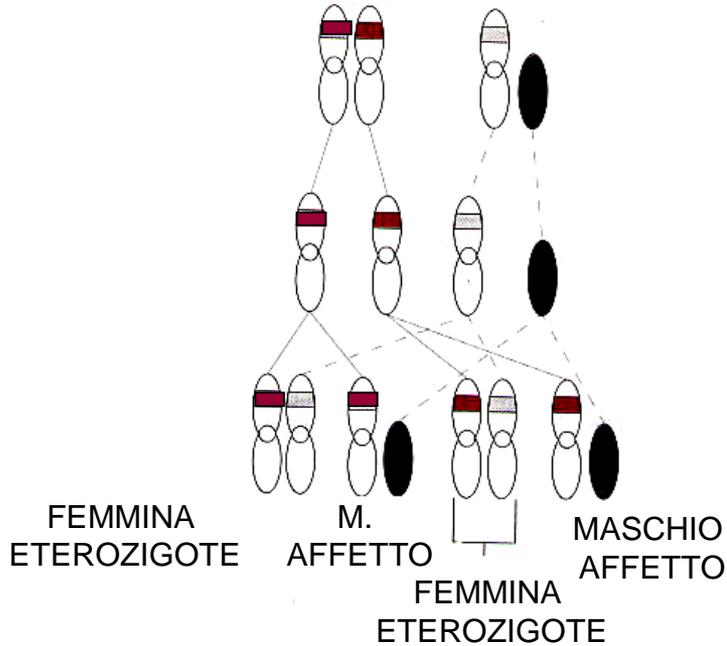
L'ereditarietà X-linked può essere meglio compresa seguendo il cromosoma X.

L'incrocio meno comune è tra una donna omozigote e un uomo normale

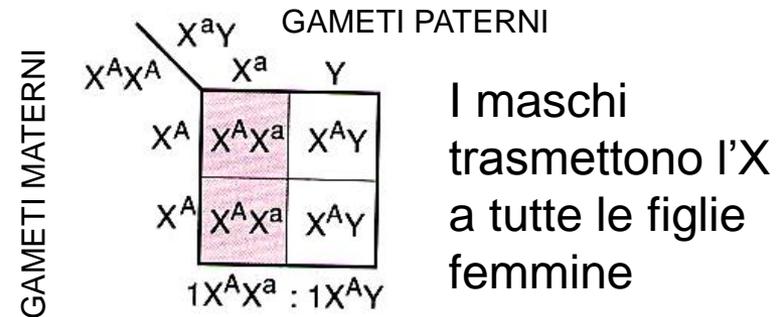
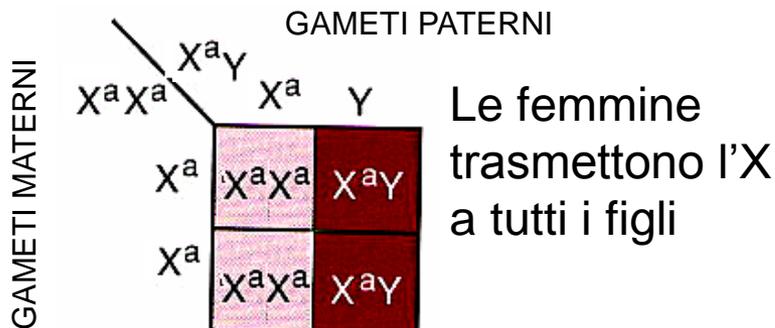
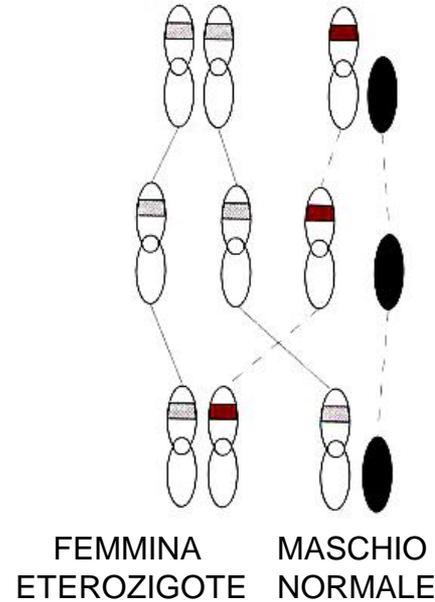
Un secondo incrocio tipico è tra un uomo affetto e una donna omozigote normale.

A. FEMMINA OMOZIGOTE MASCHIO NORMALE

B. FEMMINA NORMALE MASCHIO AFFETTO



GENITORI
MEIOSI
GAMETI
FECONDAZIONE
PROLE



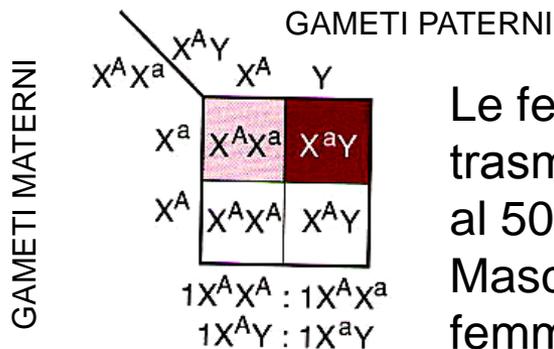
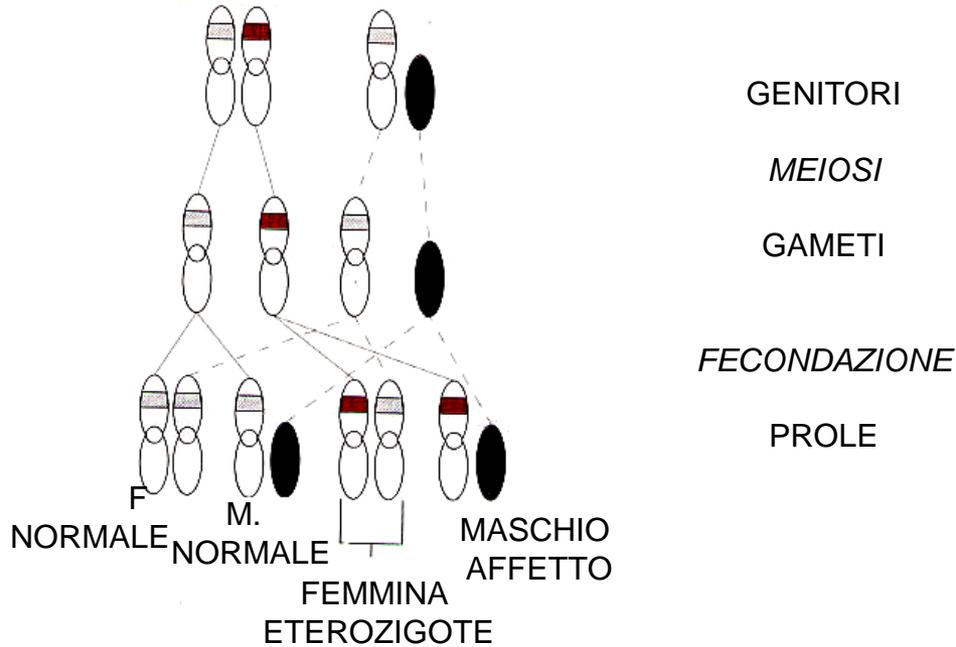
A = NORMALE, a = MUTANTE

Ereditarietà X-linked recessiva

L'ereditarietà X-linked può essere meglio compresa seguendo il cromosoma X.

L'incrocio più comune è tra una donna portatrice eterozigote e un uomo normale

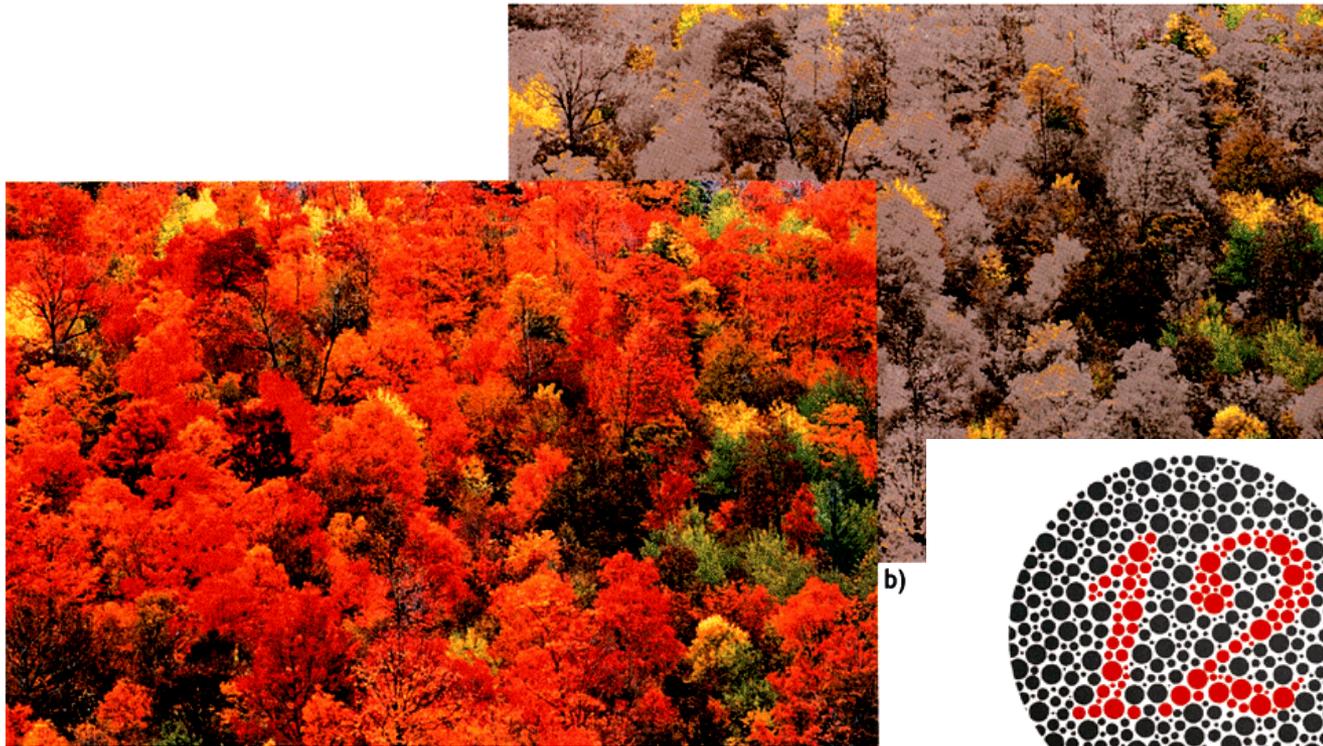
C. FEMMINA ETEROZIGOTE MASCHIO NORMALE



Le femmine trasmettono l'X al 50% dei figli. Maschi e femmine

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

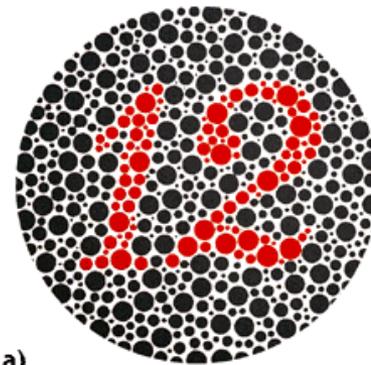
Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Daltonismo



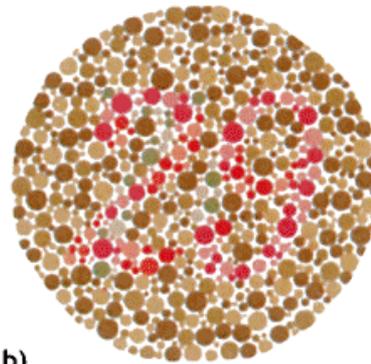
a)

b)

Figura 10.97 Daltonismo. (a) Individui normali vedono le foglie rosse, (b) mentre sogget



a)



b)

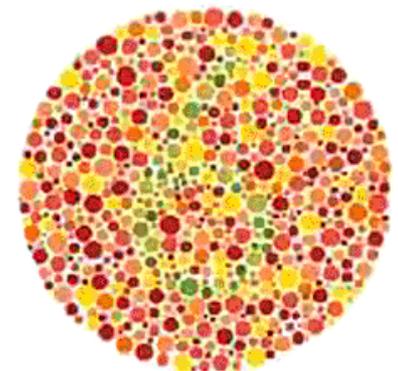
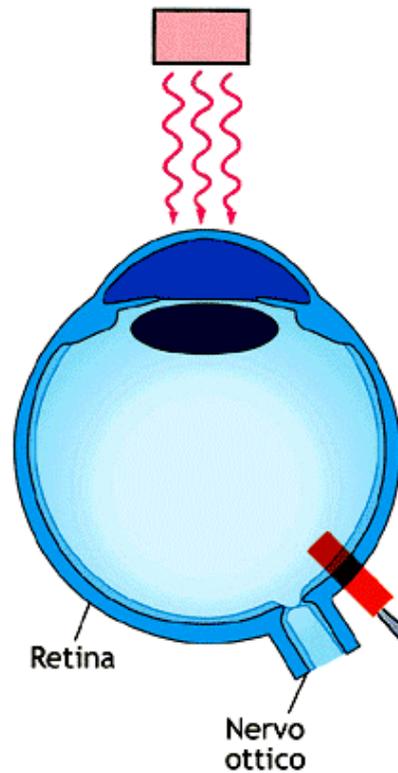


Figura 10.101 Tavole di Ishihara utilizzate per il riconoscimento di soggetti deutan e protan. (a) Tavola di prova in cui il numero è visibile da qualunque individuo anche se presenta una non corretta visione dei colori; (b) tavola in cui l'immagine (costituita da un mosaico di tanti puntini colorati in modo diverso rispetto allo sfondo) rappresenta i numeri 29 e 6 che i soggetti daltonici non sono in grado di distinguere dal fondo.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Daltonismo



■ **Figura 10.98 Fotorecettori nella retina: i bastoncelli ed i coni.** I primi distinguono l'intensità della luce, i secondi sono deputati a discriminare i colori. I tre colori primari, rosso, verde e blu, sono riconosciuti da tre diversi tipi di coni.

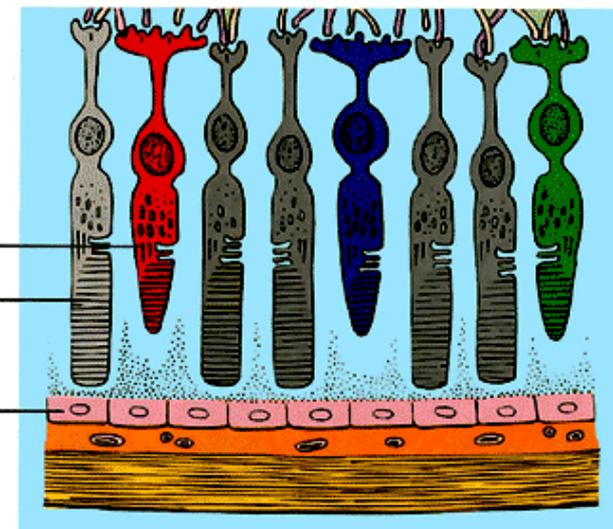
fotopsine

Cellule fotorectrici

Coni

Bastoncelli

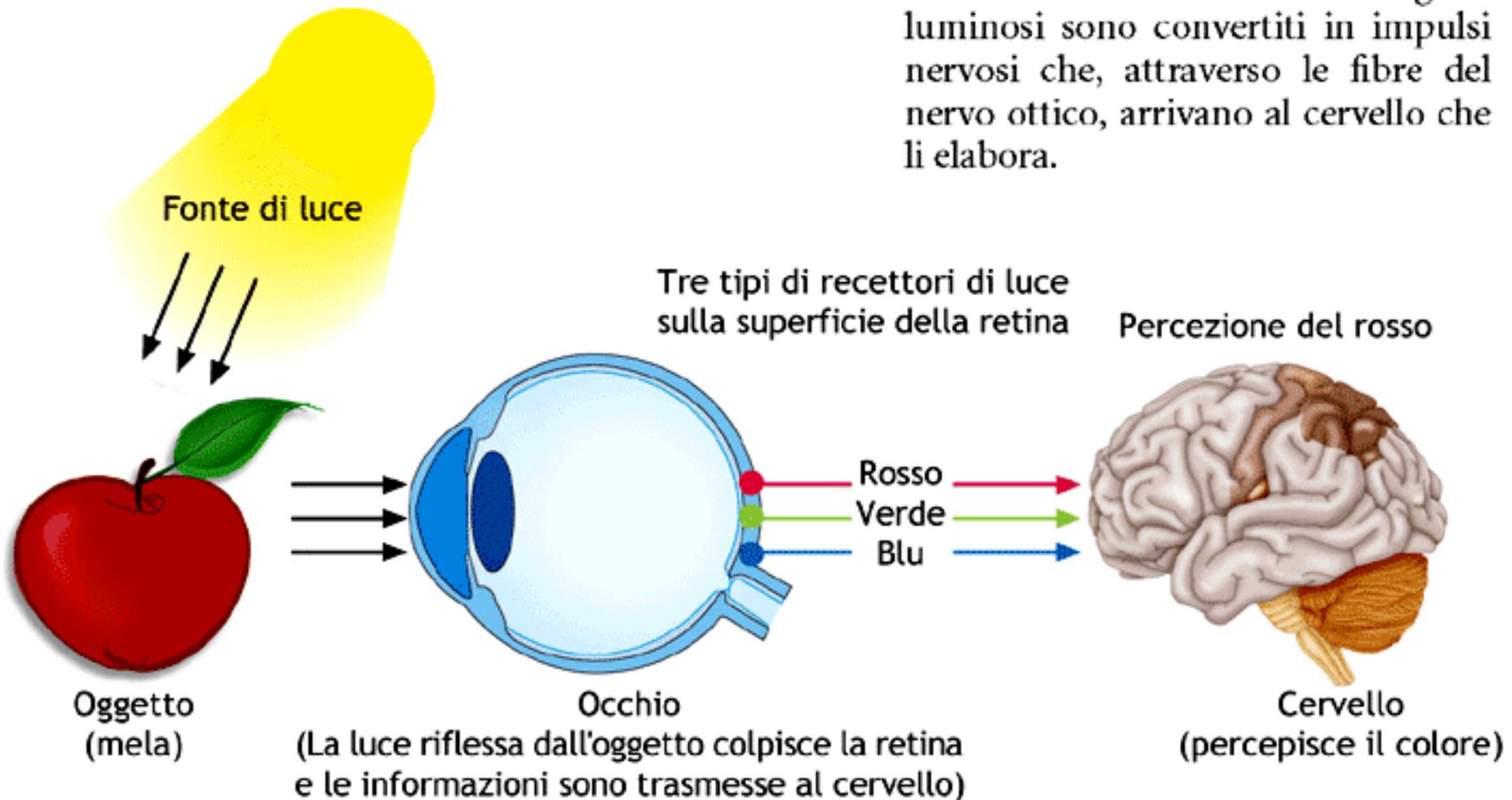
Strato pigmentato



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Daltonismo

■ **Figura 10.99** **La visione dei colori.** La luce riflessa proveniente da un oggetto illuminato, passando attraverso strati cellulari raggiunge i fotorecettori della retina. I segnali luminosi sono convertiti in impulsi nervosi che, attraverso le fibre del nervo ottico, arrivano al cervello che li elabora.



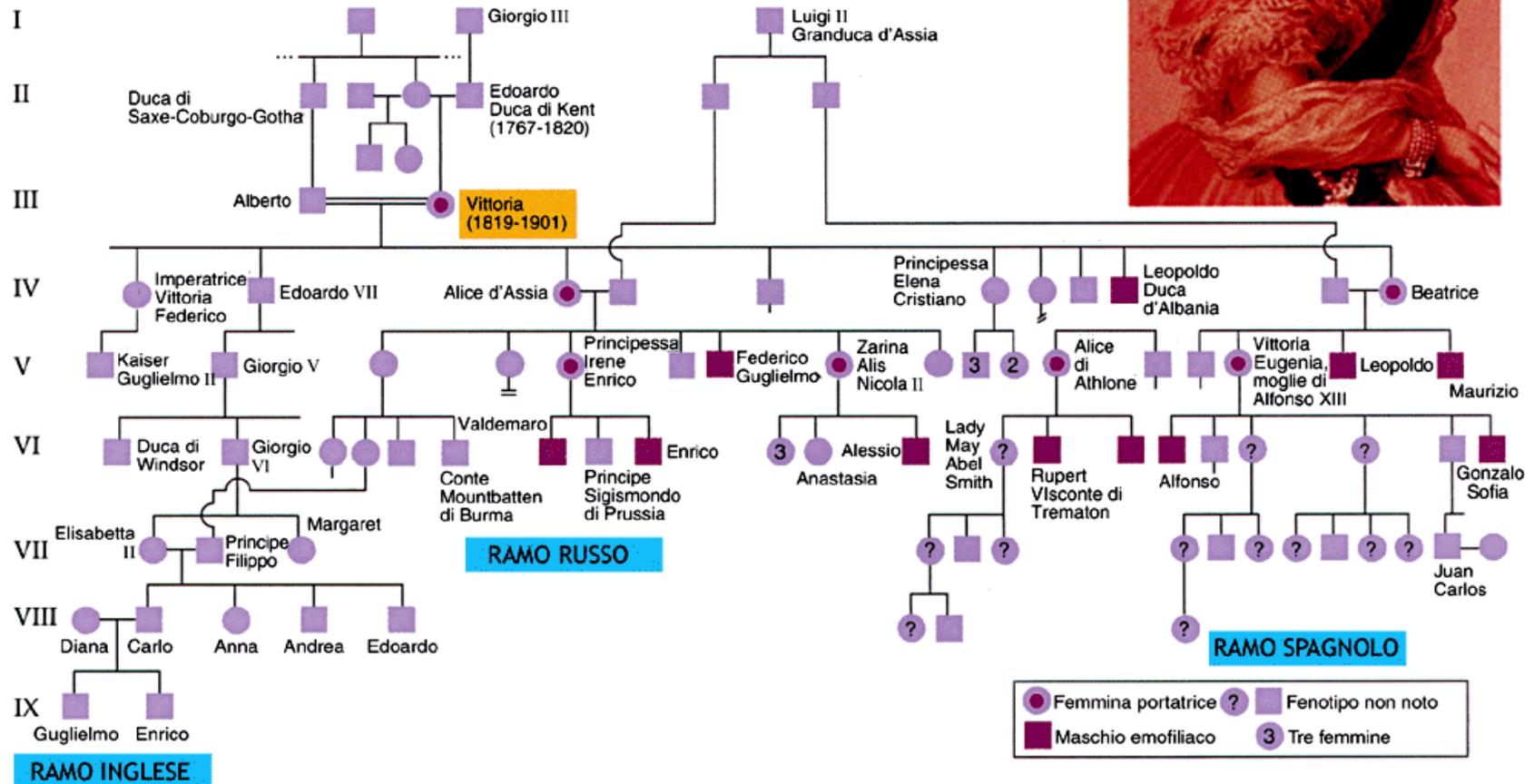
La trasmissione dei caratteri nella specie umana

■ **Figura 10.102 Emofilia A.** (a) Ritratto della regina Vittoria d'Inghilterra e (b) albero genealogico della sua famiglia in cui si evidenzia la trasmissione X-linked recessiva del difetto della coagulazione del sangue, denominato emofilia A (assenza del fattore VIII): si noti che i maschi affetti sono figli di donne portatrici sane (il casato si estende anche in Russia e Spagna).



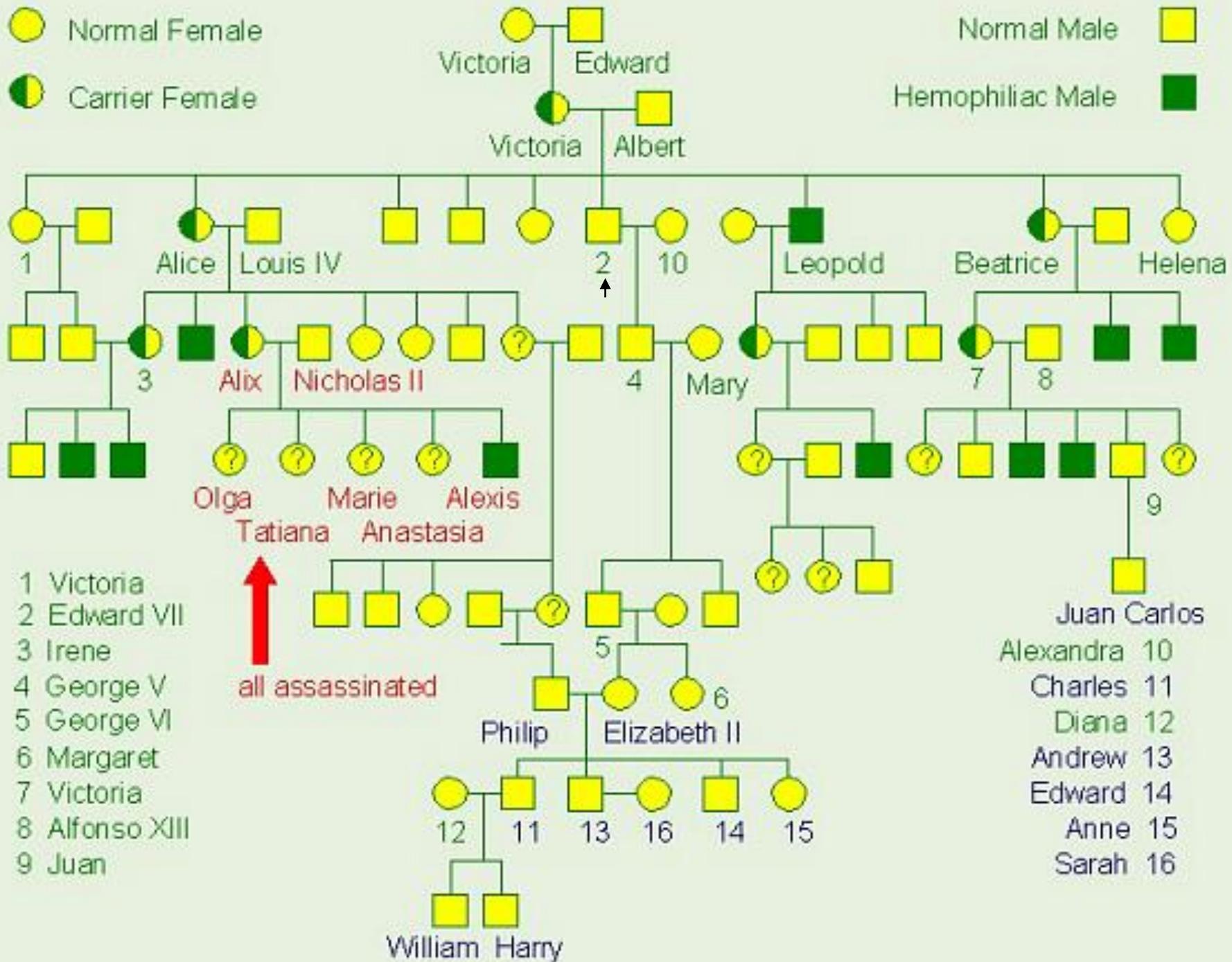
Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Emofilia

b) 1/5000 1/10.000 nei maschi



 Normal Female
 Carrier Female

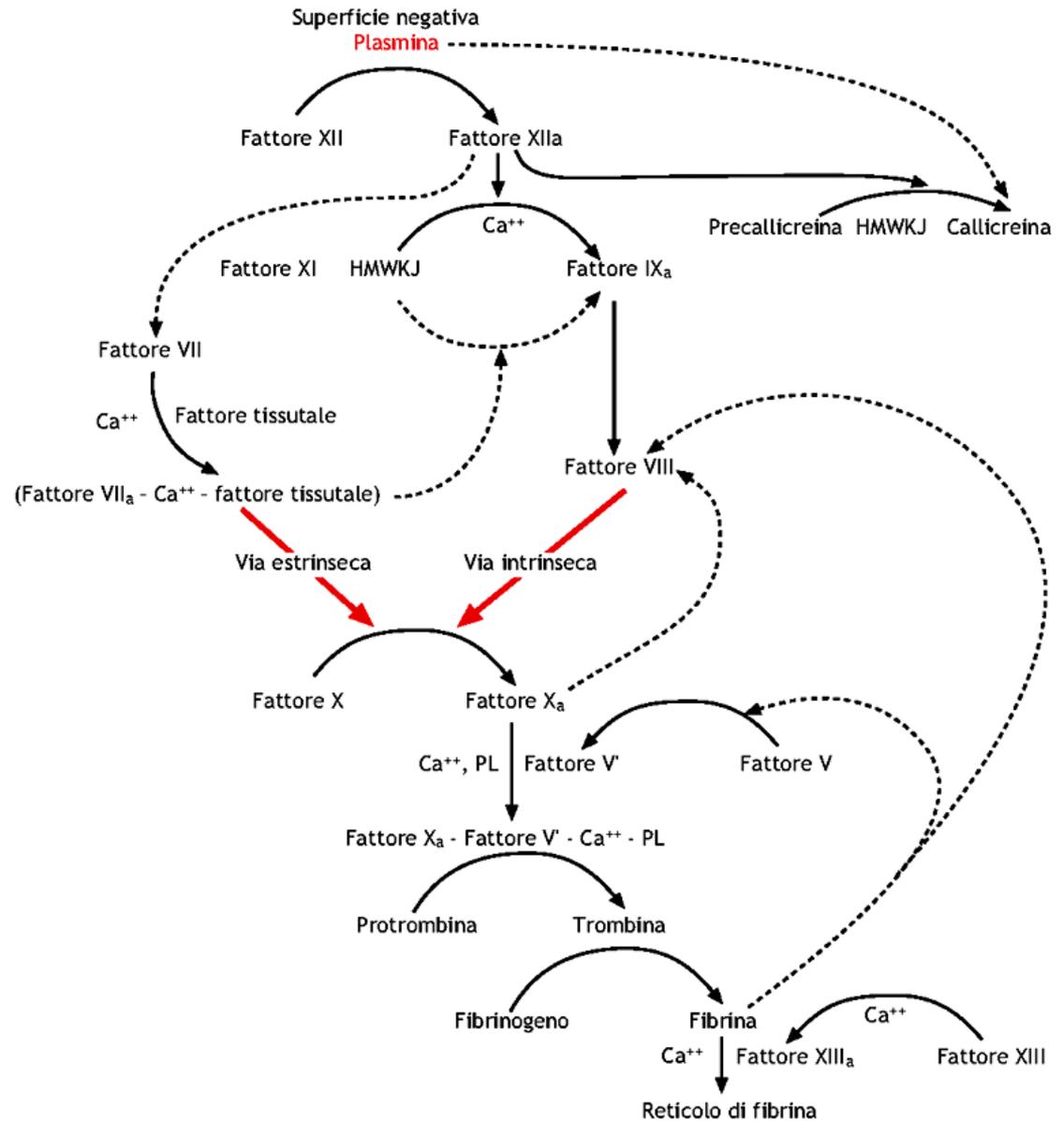
Normal Male 
 Hemophiliac Male 



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Emofilia

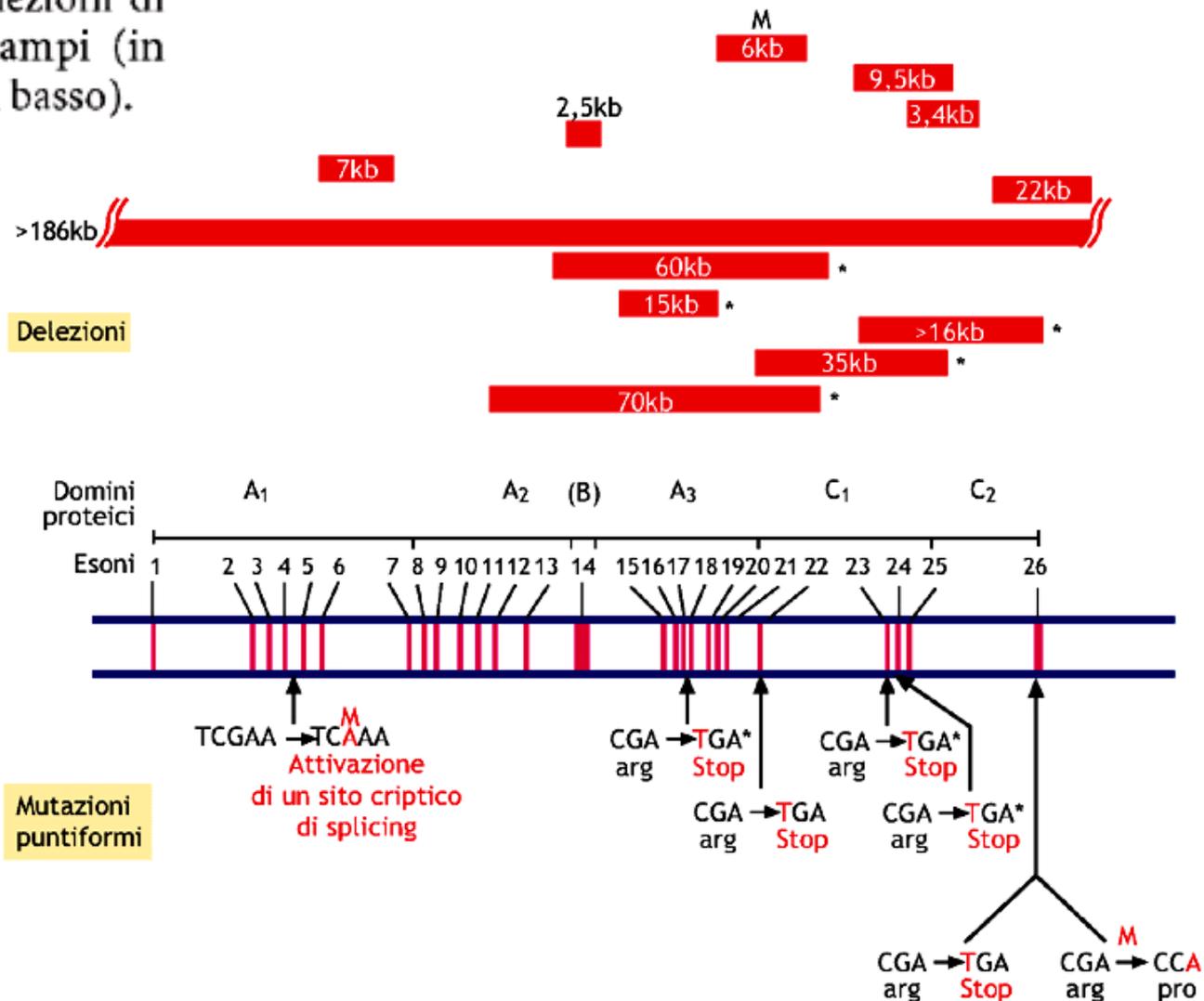
■ **Figura 10.103** Cascata di reazioni nella coagulazione.



La trasmissione dei caratteri nella specie umana

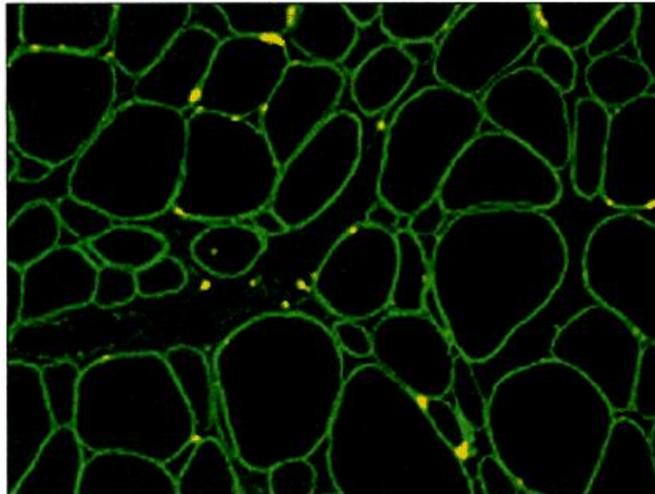
Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Emofilia

Figura 10.104 Gene per il fattore VIII. Schema che rappresenta le possibili mutazioni per delezioni di tratti genici più o meno ampi (in alto) e varie puntiformi (in basso).

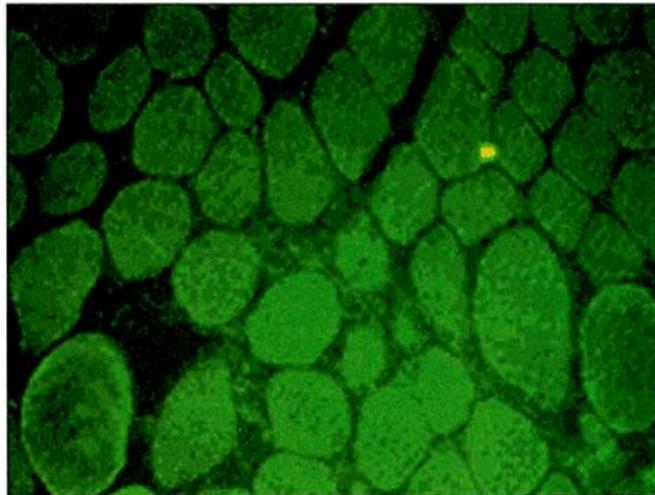


La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Distrofia muscolare



a)



b)

Figura 10.108 Micrografie di un campione di tessuto muscolare in cui le cellule sono state colorate per la distrofina. In (a) si evidenzia la distrofina localizzata al di sotto delle membrane cellulari, mentre in (b) essa è assente.

1/3.500 maschi

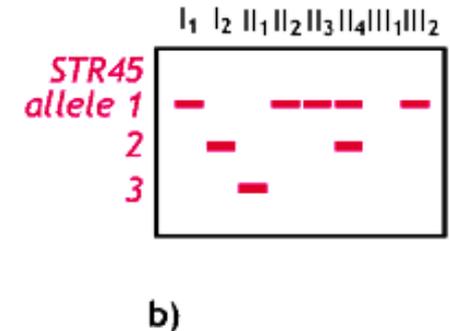
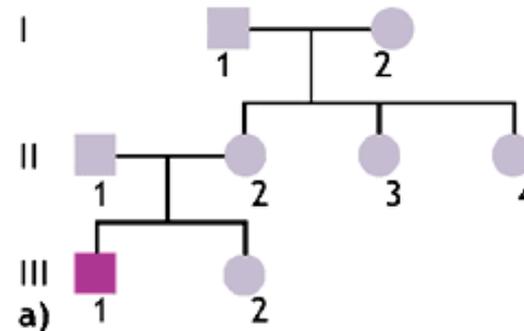
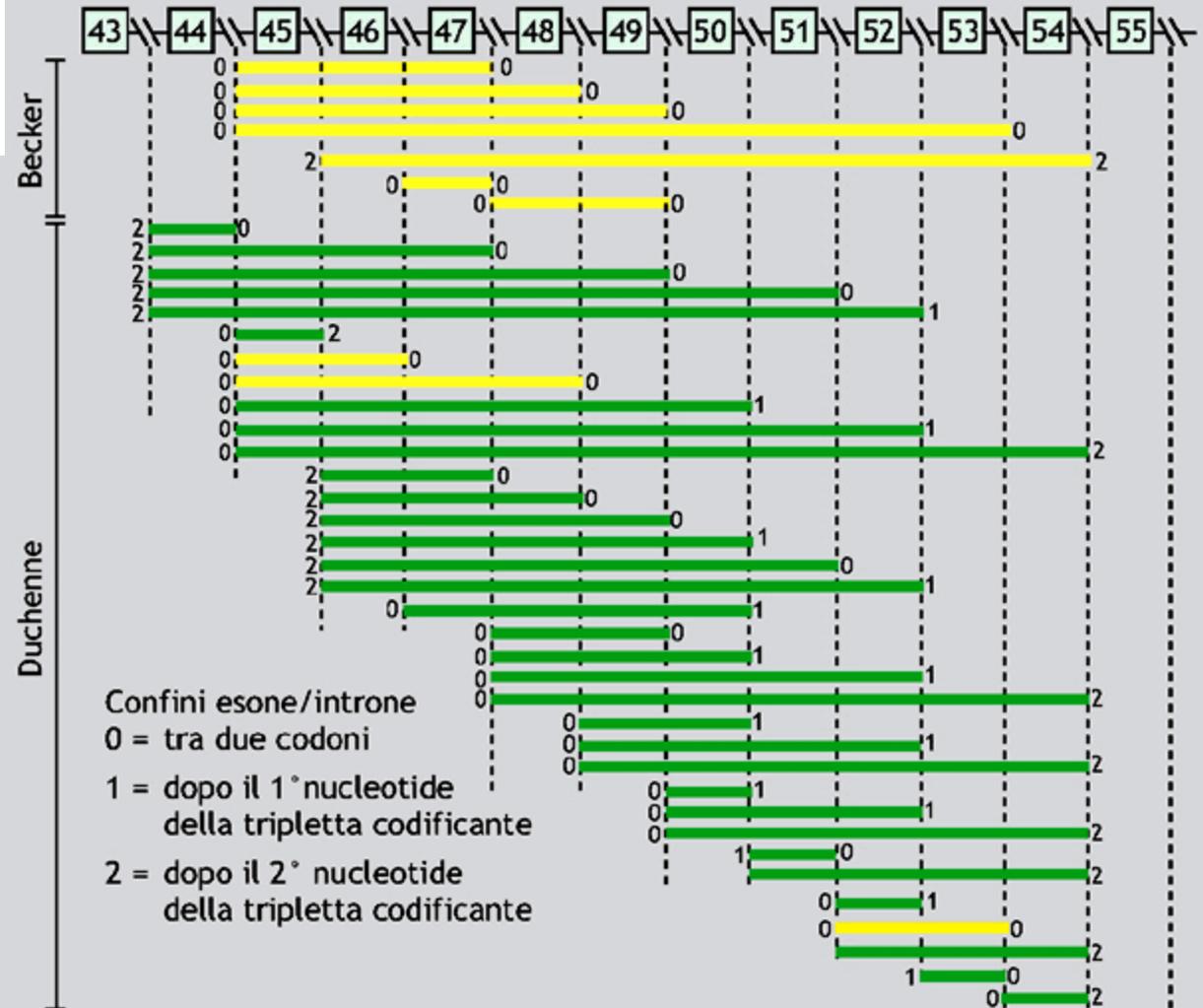


Figura 10.109 Distrofia di Duchenne: una patologia ereditaria con modalità legata all'X e recessiva. (a) Albero genealogico e (b) risultato della tipizzazione con il marcatore intragenico STR45. Il soggetto maschio affetto III1 presenta una delezione che comprende STR45 (la corsia 7 su gel è vuota evidenziando l'assenza di sequenze), la madre (II2) e la zia (II3), invece, non hanno ereditato alcun allele STR45 dalla propria madre (I2), dimostrando che la delezione si sta trasmettendo all'interno della famiglia. La donna I2 è apparentemente omozigote per questo marcatore altamente polimorfico (corsia 2), ma in realtà è emizigote; l'altra zia (II4) e la sorella (III2) sono eterozigoti per i marcatori e quindi non portano la delezione.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità legata al cromosoma X e recessiva: Distrofia muscolare

■ **Figura 10.110 Distrofia di Duchenne e di Becker.** Possibili delezioni nella parte centrale del gene della distrofina (quadrati numerati in alto indicano gli esoni 43-55).



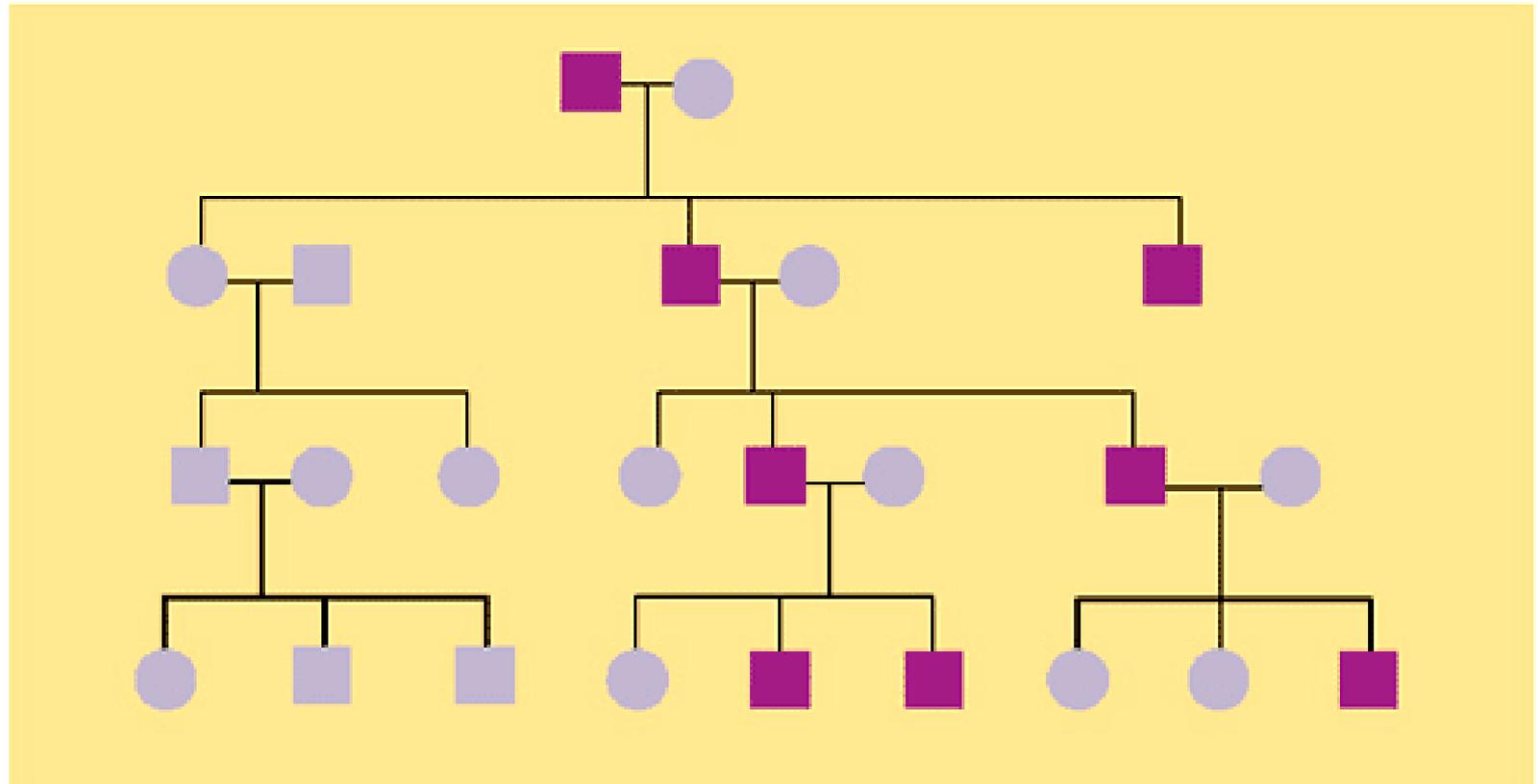
■ = delezione senza slittamento del modulo di lettura
■ = delezione con slittamento del modulo di lettura

Non esistono malattie legate all'Y

I geni legati all'Y codificano caratteri non essenziali o funzioni strettamente maschili, ed è improbabile che loro difetti causino alterazioni patologiche, a parte l'infertilità maschile.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

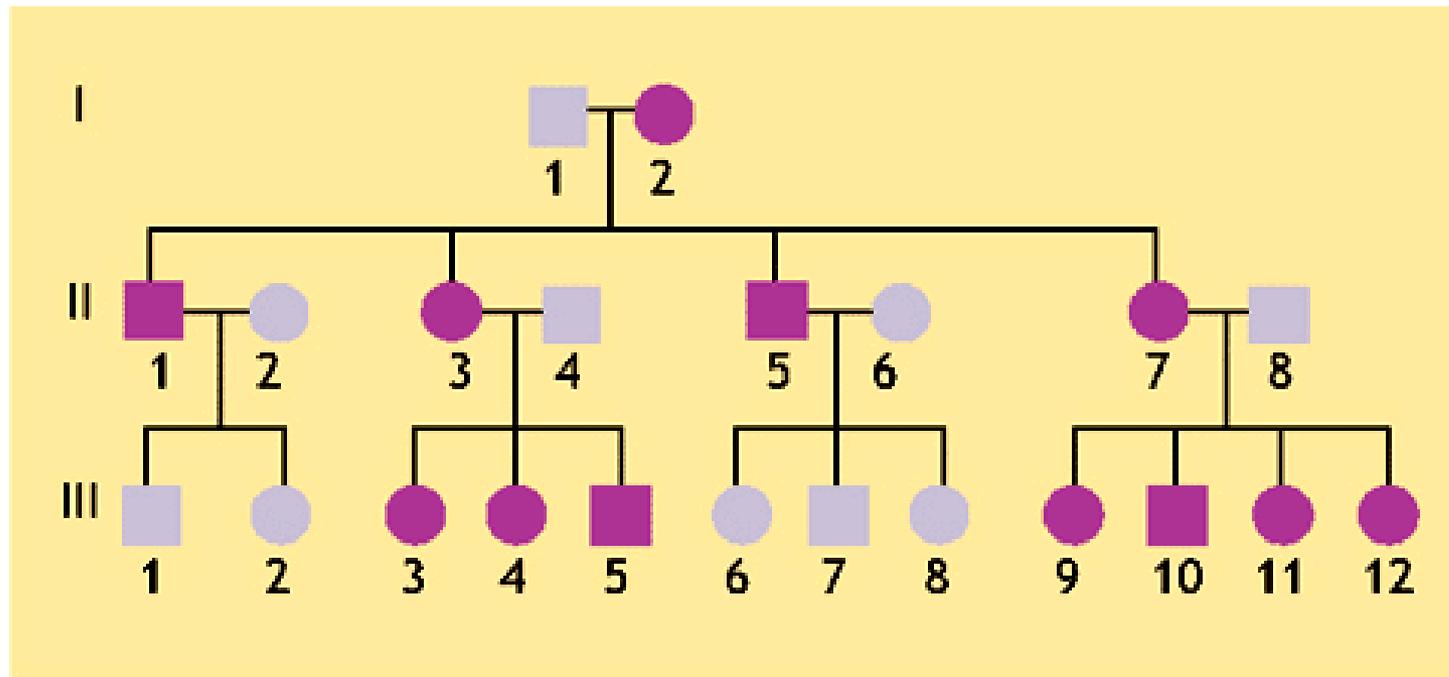
Eredità legata al cromosoma Y



■ **Figura 10.96** Albero genealogico di una famiglia in cui si evidenzia la modalità di trasmissione ereditaria di un carattere "legato" al cromosoma Y. Il carattere, detto olandrico, si distribuisce verticalmente da padre in figlio maschio.

La trasmissione dei caratteri nella specie umana

Eredità mitocondriale

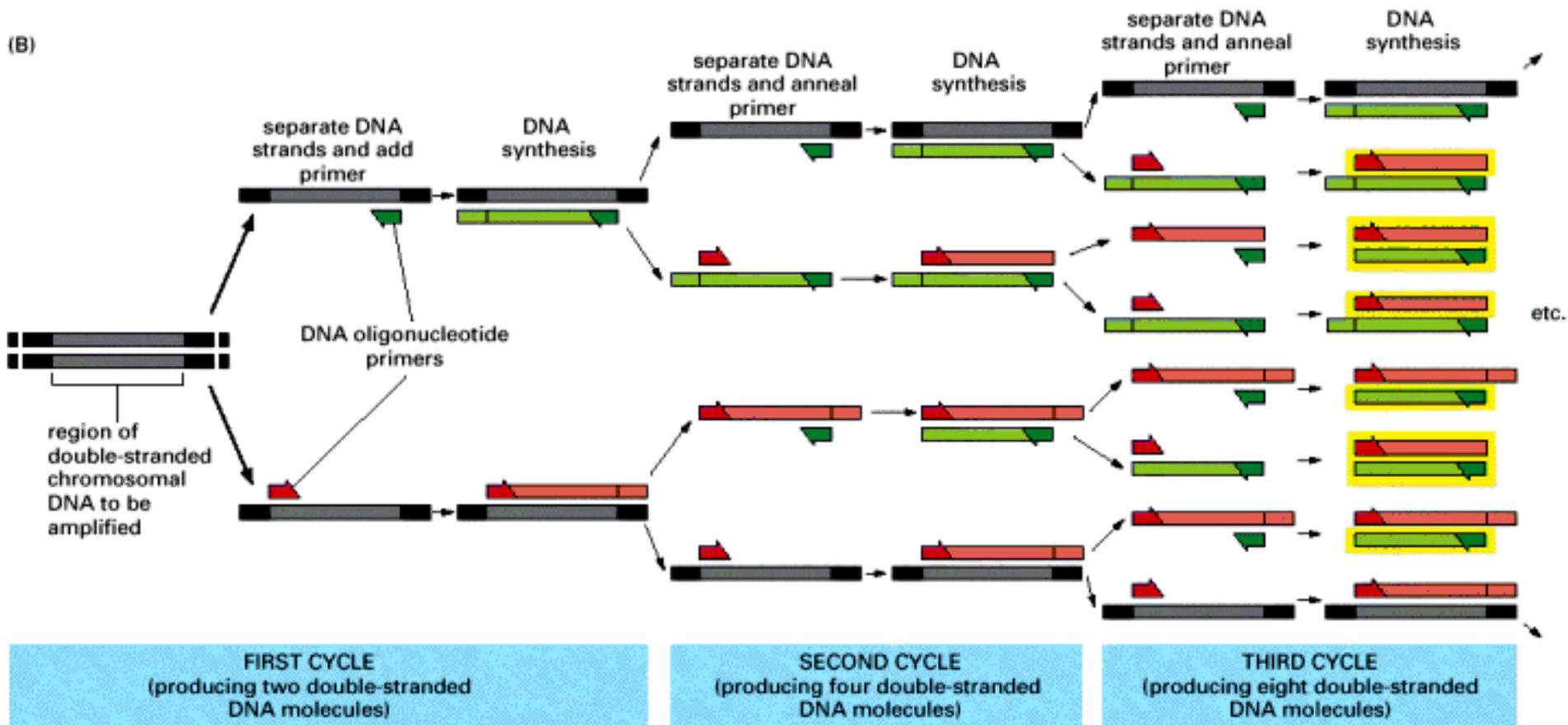
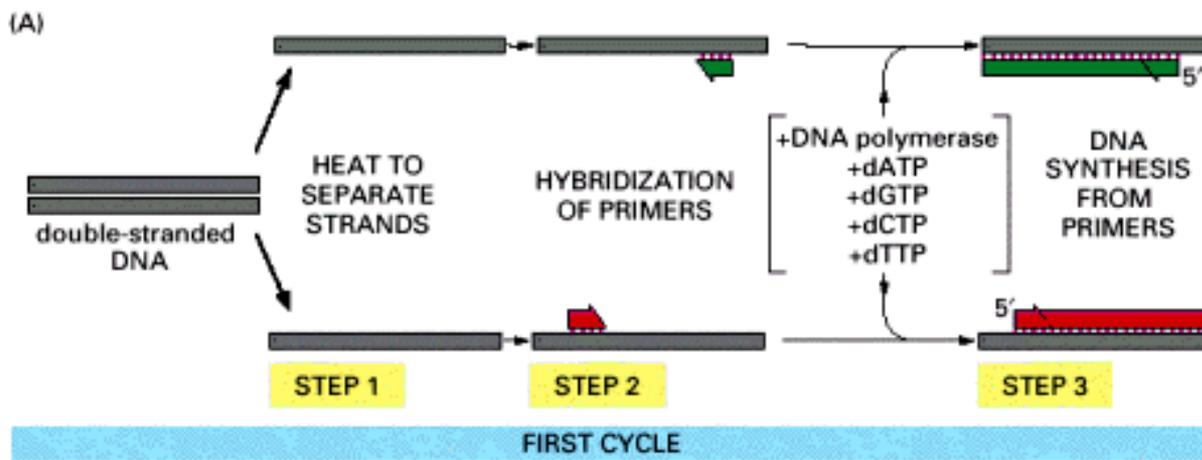


■ **Figura 10.112** Albero genealogico di una famiglia in cui è possibile evidenziare la modalità di trasmissione ereditaria mitocondriale **matrilineare**. Il carattere si manifesta nei maschi e nelle femmine ma soltanto queste ultime (I2; II3 e II7) lo trasmettono ai propri figli; infatti i maschi II1 e II5, pur mostrando il carattere, non lo trasmettono.

PCR:
Polymerase Chain Reaction



PCR: Polymerase Chain Reaction

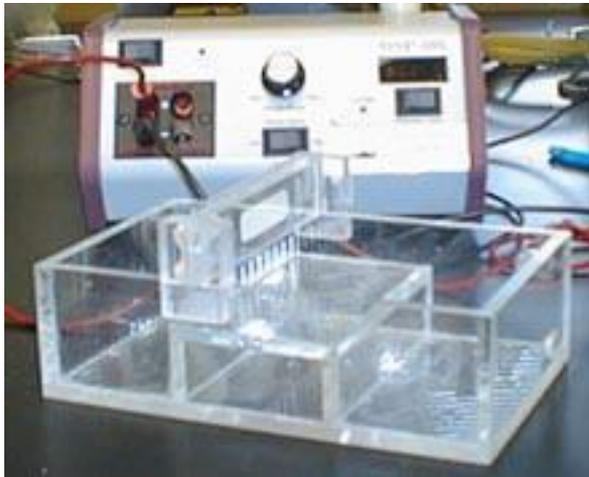


Il clonaggio nei plasmidi: isolamento del frammento in esame

Elettroforesi

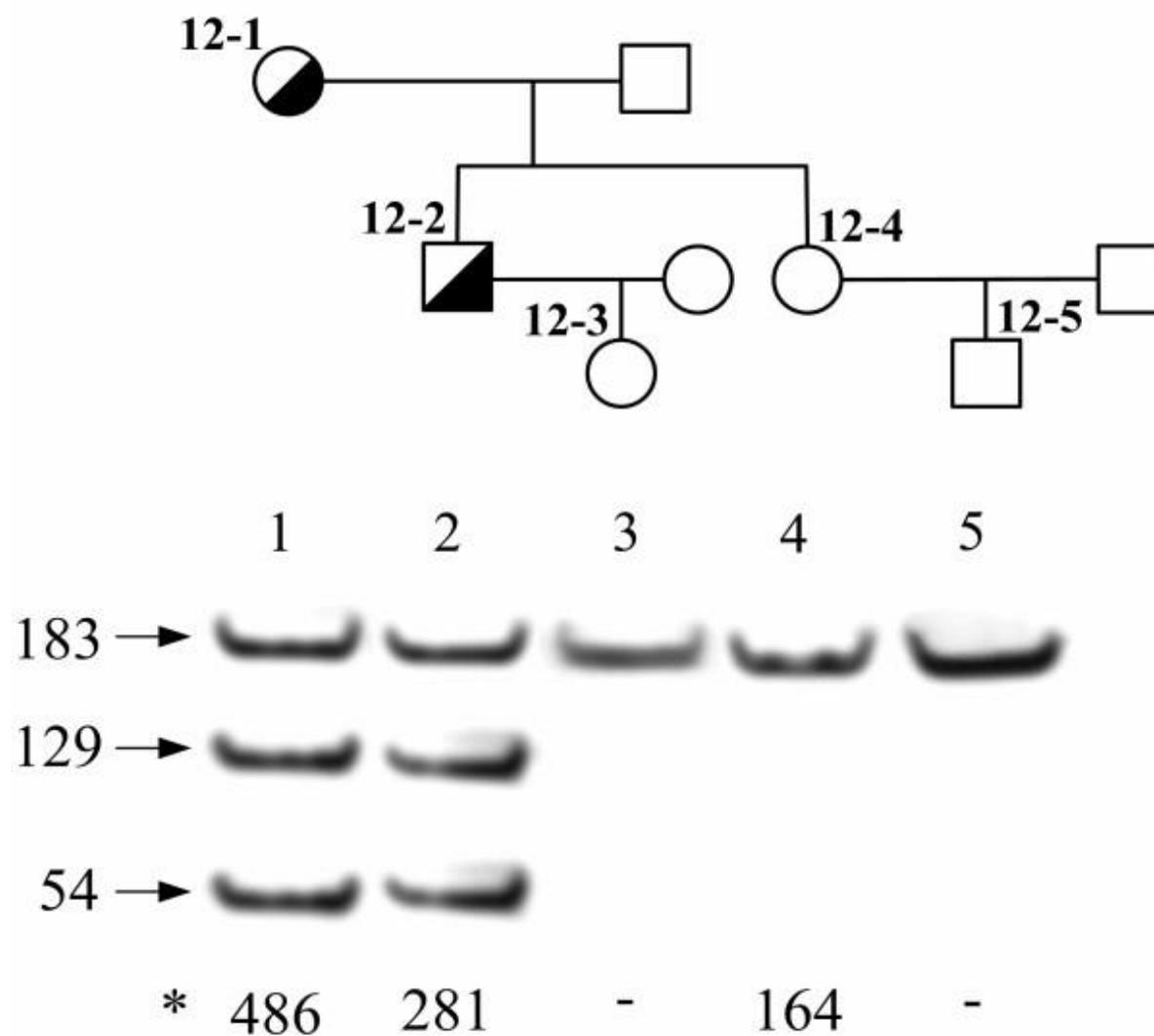


Colorazione del DNA con etidio bromuro.
Visualizzazione del DNA agli U.V.



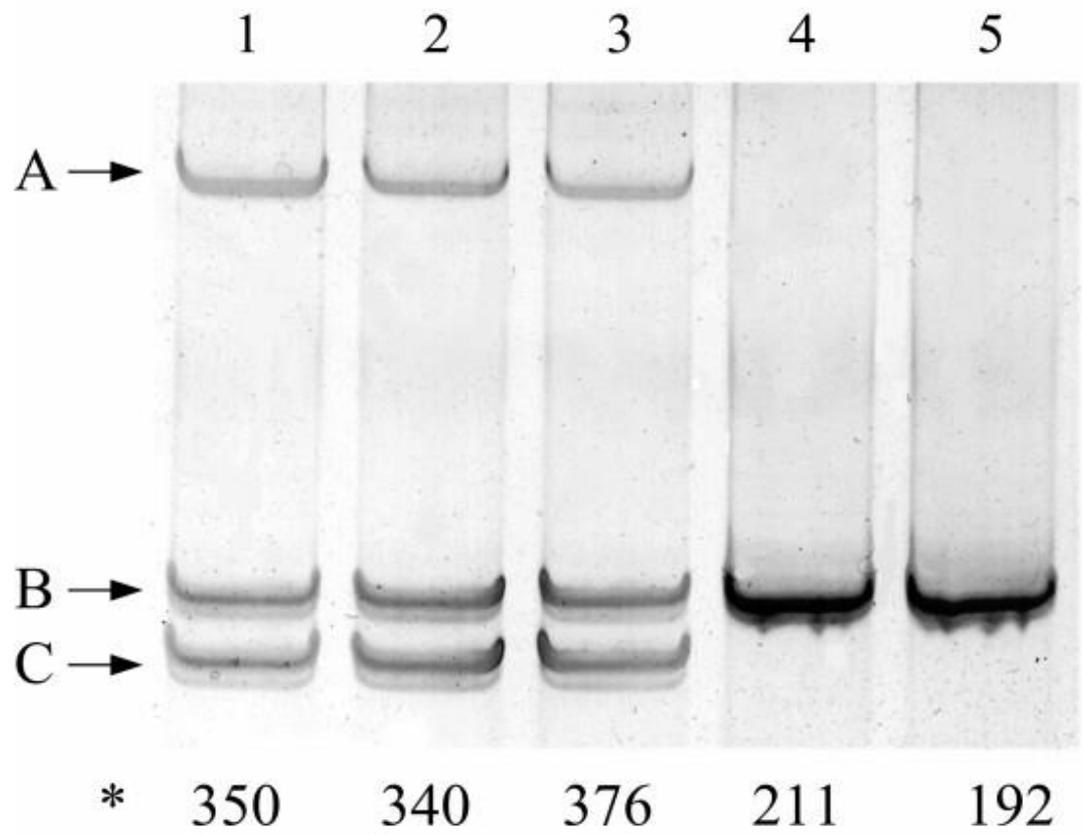
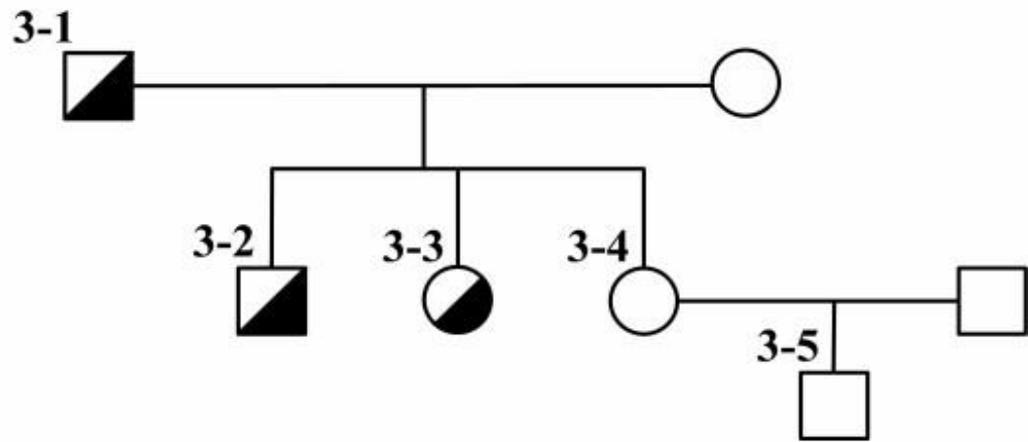
pBR322

inserto

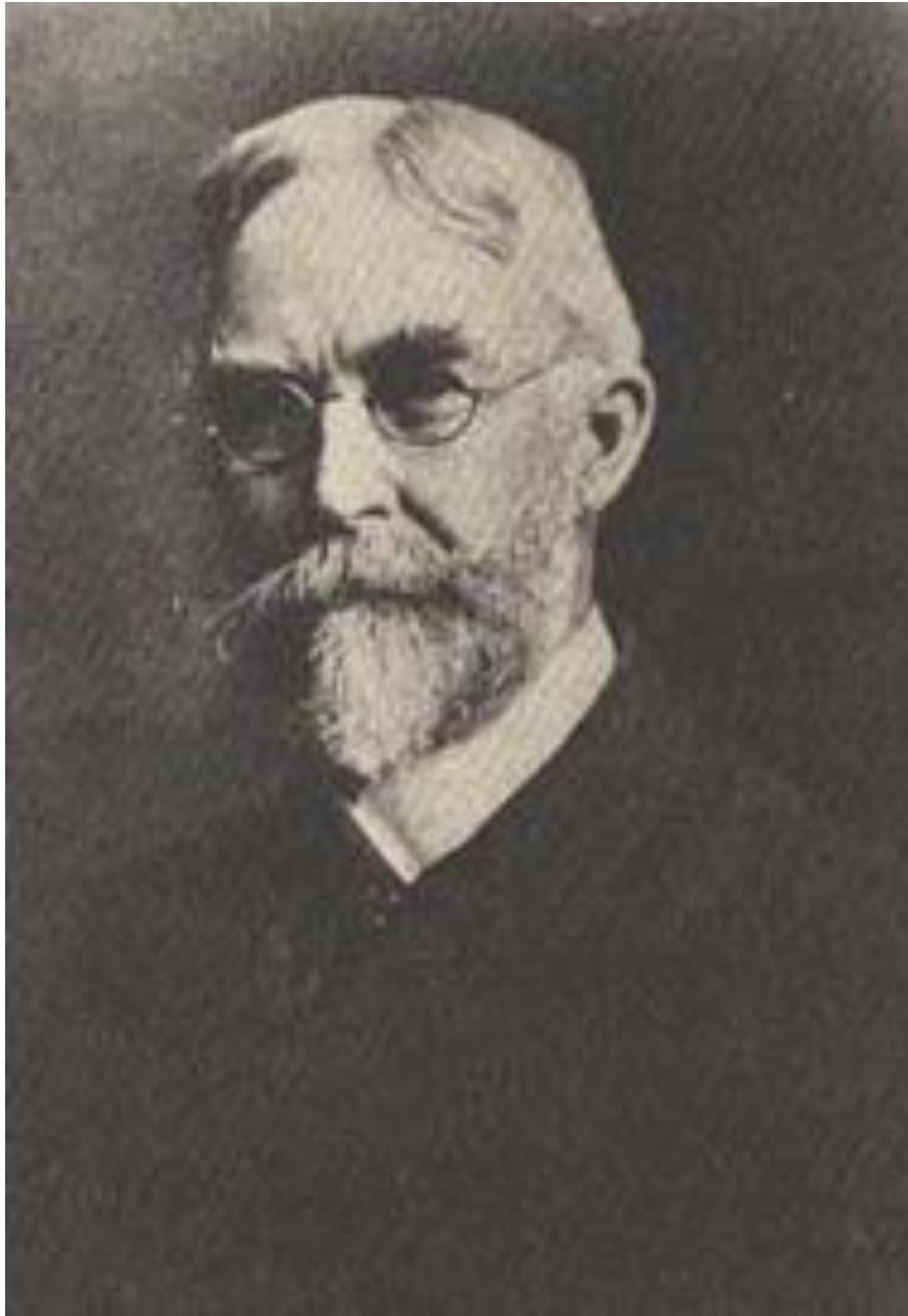


Detection of mutation Q12X in the LDL receptor gene by means of *Mae I* restriction enzyme test. Transition c.97 C>T in exon 2 of the LDL receptor gene leads to appearance of the new *Mae I* restriction site (CTAG) in the patients with the mutation. *Mae I* restriction enzyme test enables to confirm the presence of mutation Q12X identified by DNA sequencing in the proband (12-1) and in her son (12-2) and to exclude presence of the mutation in other relatives of the proband, including daughter (12-4) and grandchildren (12-3 and 12-5). Lengths of DNA restriction fragment are given at the left in bp and *total blood serum cholesterol figures of the patients – at the bottom of the gel in mg/dl.

Detection of mutation c.1291-1331del41 (mutation FsV409:S423X) of the LDL receptor gene by means of PCR product sizing and heteroduplex analysis. Deletion of 41 nucleotides results in significant change (indicated by C) of molecular weight of the PCR-amplified LDL receptor gene exon 9 fragment and in formation of specific heteroduplexes (indicated by A). Letter B indicates the PCR product of normal size. Current gel supports the presence of c.1291-1331del41 mutation in two children (3-2, 3-3) of the proband (3-1) and absence of this mutation in his daughter and grandson (3-4, 3-5). *total blood serum cholesterol figures of the patients – at the bottom of the gel in mg/dl.

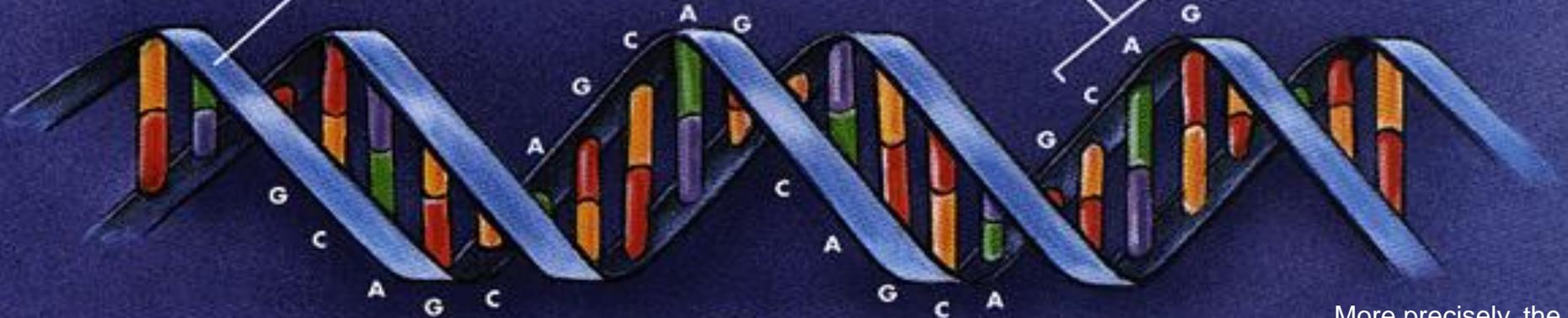


George Huntington, 1872

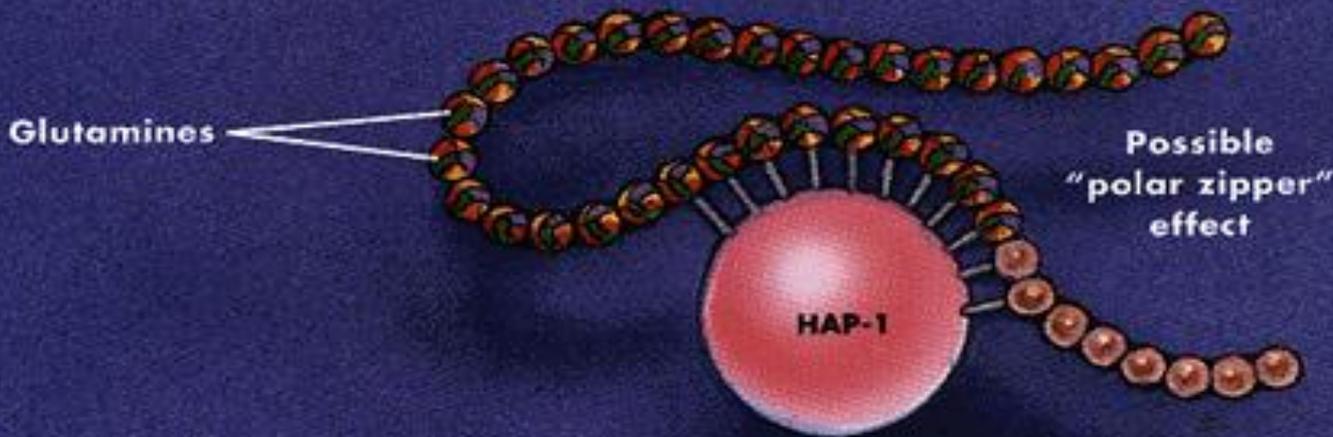


Huntington's disease gene

Triplet



The gene's DNA is translated into amino acids which form the abnormal huntingtin protein.

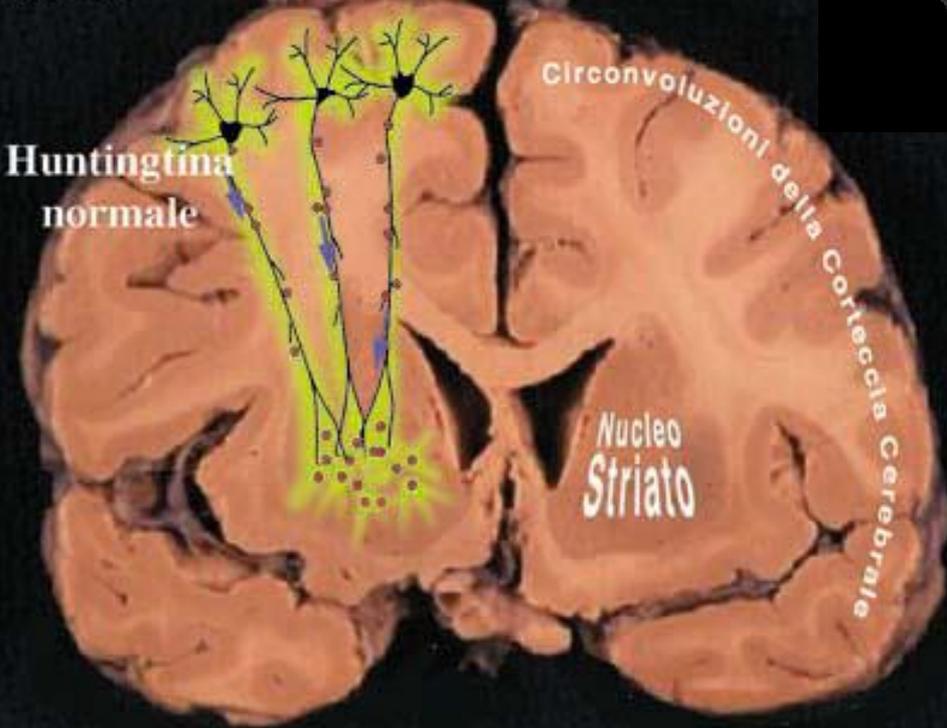


More precisely, the HD gene is located from base pair 3,046,205 to base pair 3,215,484 on chromosome 4.





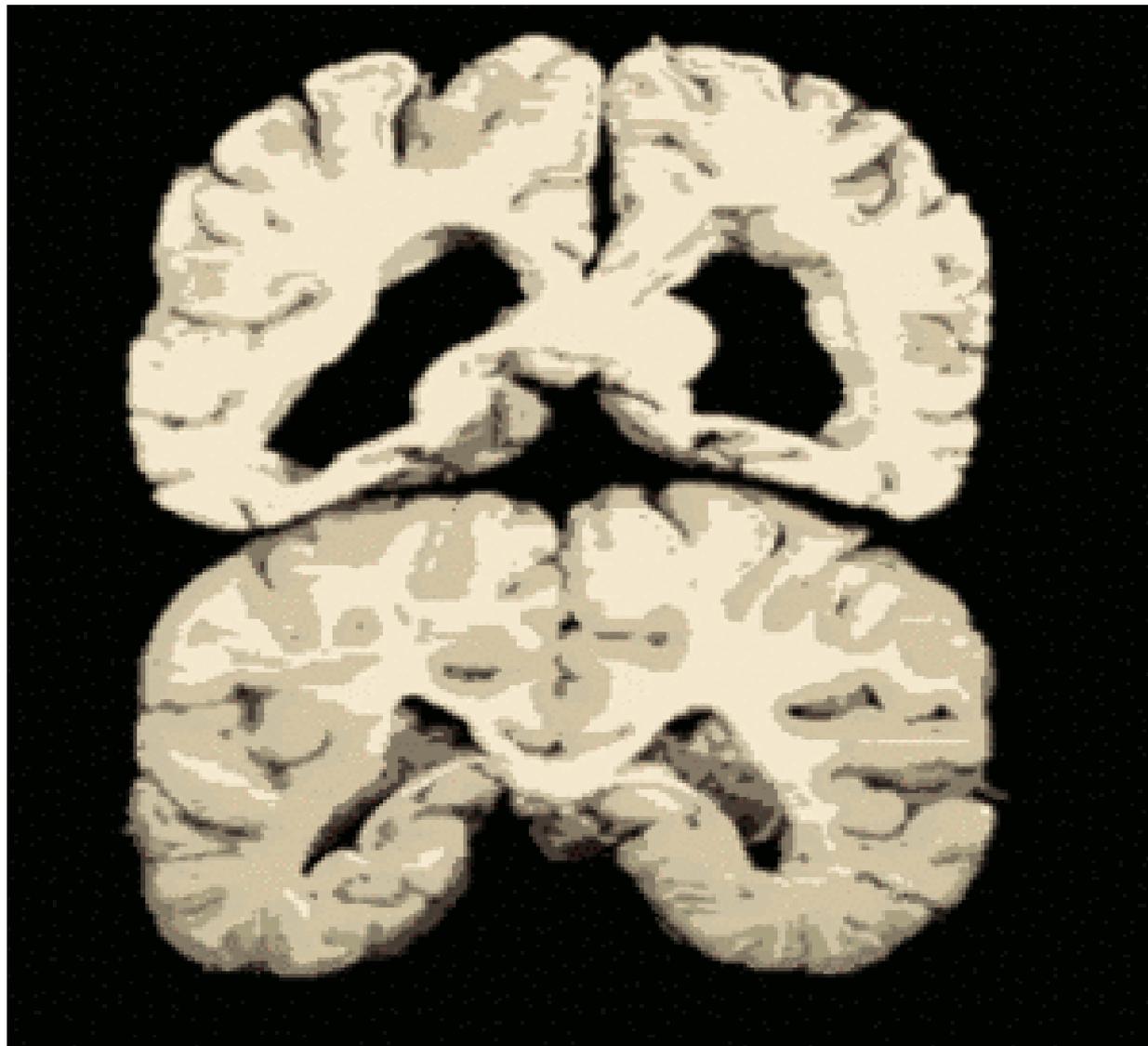
SANO



Huntingtina normale

Circonvoluzioni della Corteccia Cerebrale

Nucleo Striato



The human brain, showing the impact of HD on brain structure in the basal ganglia region of a person with HD (top) and a normal brain (bottom).

<https://kobiljak.msu.edu>

Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica dominante

Corea di Huntington

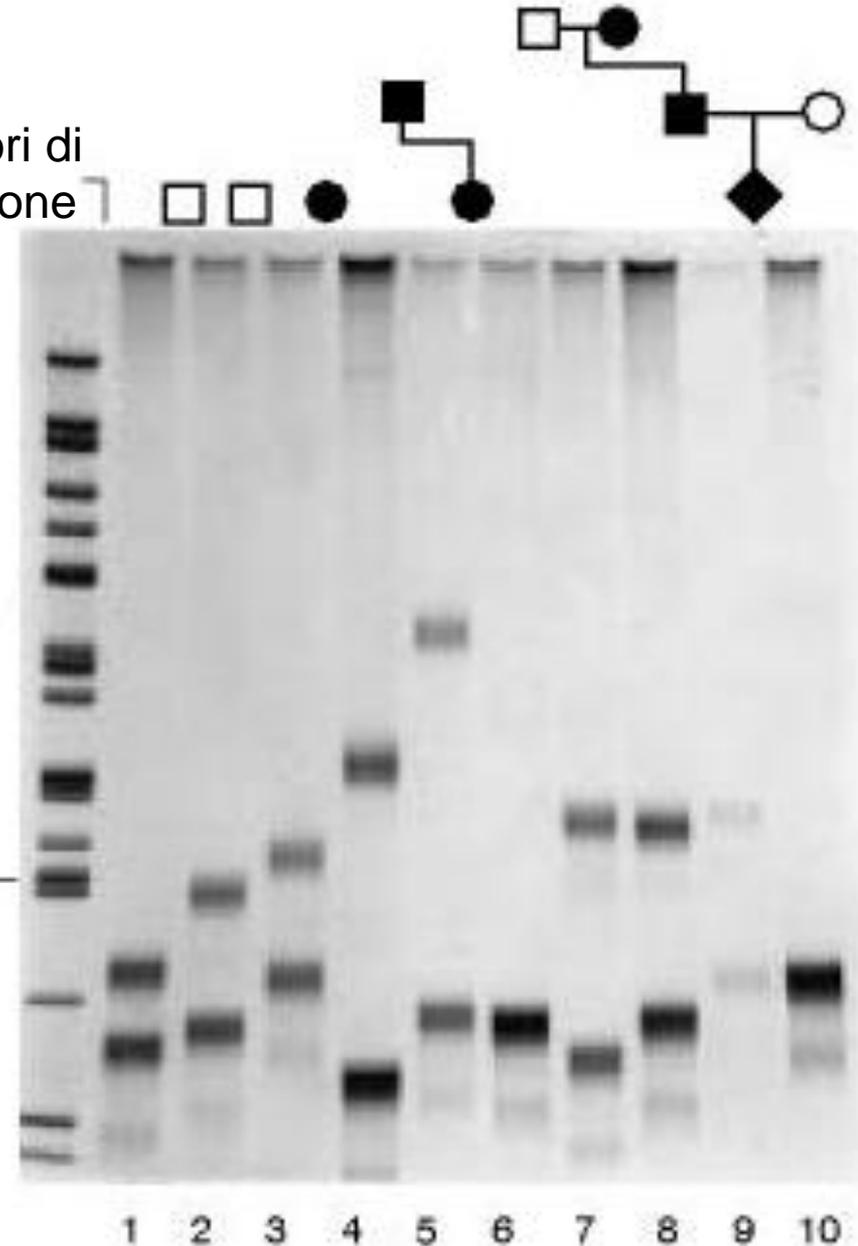
Diagnosi di laboratorio delle ripetizioni espanse.

Un'unica reazione PCR consente la diagnosi delle malattie con ripetizioni di poliglutammina.

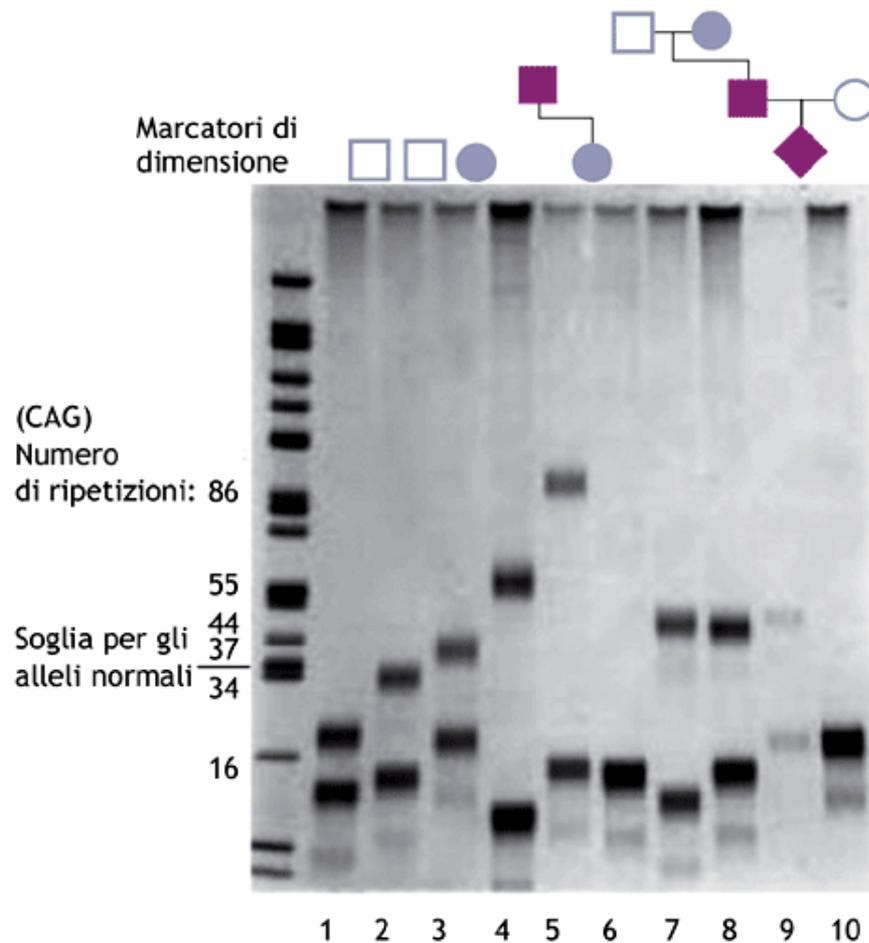
Figura. Un frammento del gene contenente la ripetizione (CAG) è stato amplificato mediante PCR e separato con un'elettroforesi su gel di poliacrilammide. Le bande sono state colorate con colorazione argenitica. La scala indica il numero di ripetizioni. Nelle corsie 1, 2, 6 e 10 ci sono campioni di individui non affetti, nelle corsie 3, 4, 5, 7 e 8 campioni di individui ammalati. Nella corsia 5 c'è un caso ad esordio giovanile; suo padre (corsia 4) aveva 45 ripetizioni, mentre lei ne ha 86. Nella colonna 9 c'è il campione di un feto affetto, diagnosticato prima della nascita.

Marcatori di dimensione

(CAG)_n
Numero di ripetizioni:
86
55
Soglia per gli alleli normali
44
37
34
16



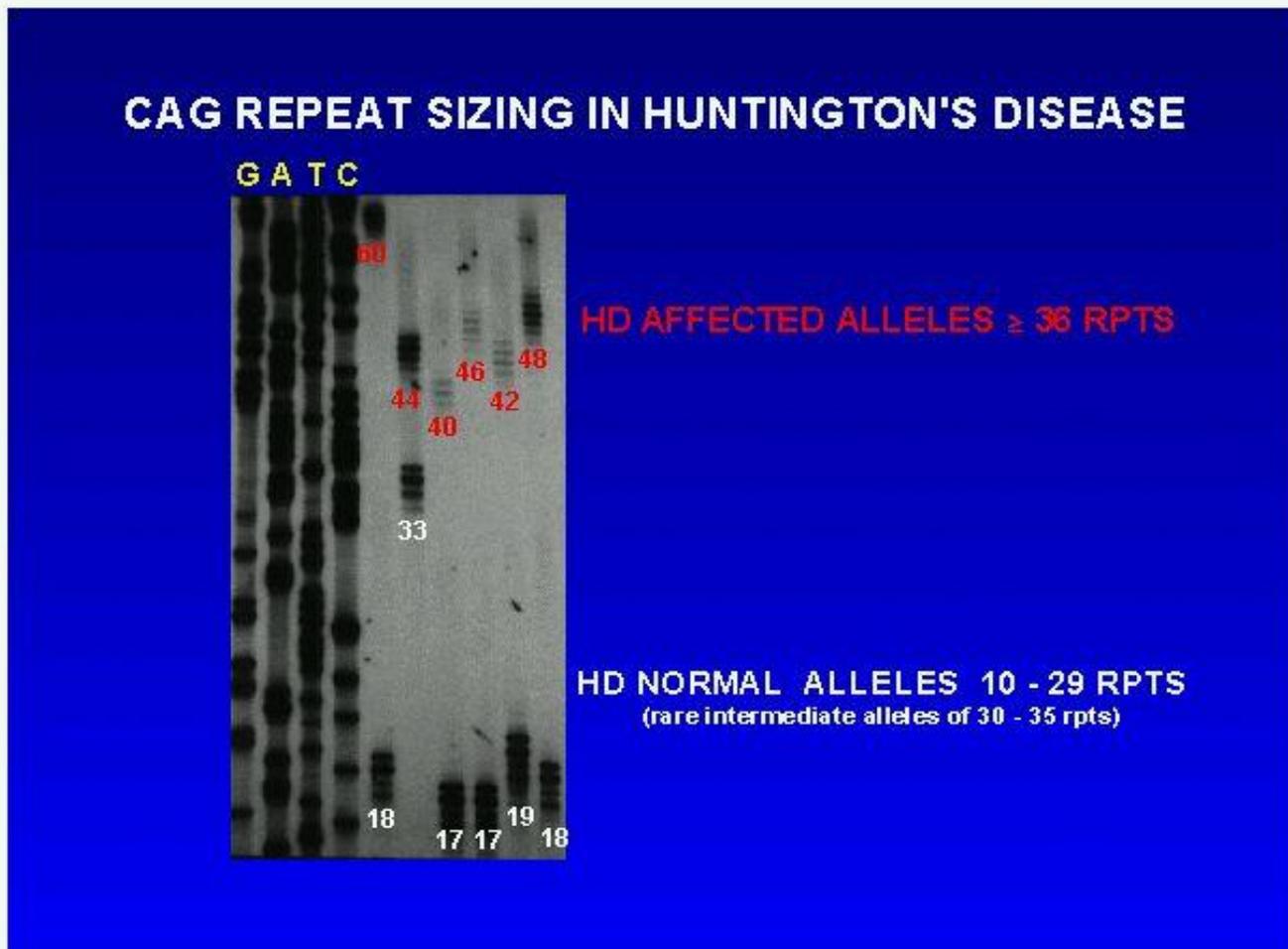
PCR: applicazioni



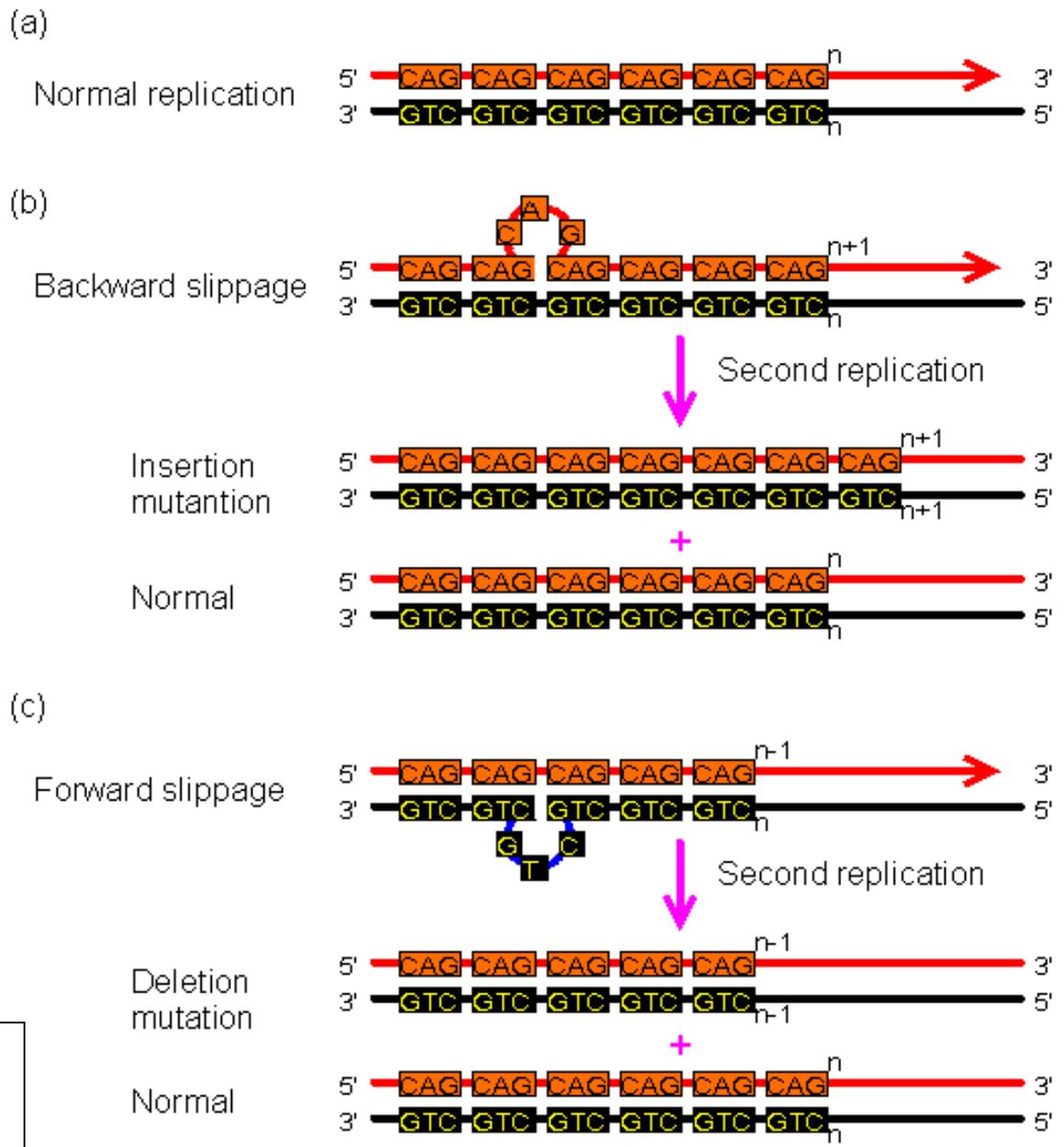
■ **Figura 10.62 Diagnosi di laboratorio della corea di Huntington.**

Un'unica reazione di PCR consente l'identificazione di ripetizioni di triplette. Un frammento del gene contenente la ripetizione (CAG) è stato amplificato mediante PCR e separato con un'elettroforesi su gel di poliacrilammide. Le bande sono state colorate con colorazione argentea. La scala indica il numero di ripetizioni. Le corsie 1, 2, 6 e 10 contengono campioni di individui non affetti; nelle corsie 3, 4, 5, 7 e 8 ci sono campioni di individui ammalati. La corsia 5 contiene il campione di una donna con esordio giovanile (86 ripetizione) il cui padre, corsia 4, aveva 45 ripetizioni. Nella corsia 9 è mostrato il campione di un feto affetto (diagnosi prenatale).

A PCR-based test on DNA in peripheral blood permits an unequivocal confirmation of a diagnosis of HD in symptomatic individuals or can provide presymptomatic testing in appropriate cases. (Please consult with CompGene). **A positive result with this diagnostic test in a symptomatic individual has serious genetic implications for immediate family members.** The HD gene CAG repeat sizing at CompGene excludes the known adjacent polymorphic CCG repeat that can contribute to an inaccurate determination of HD gene CAG repeat sizes in individuals who may have an HD gene CAG repeat allele close to the normal/affected boundary. HD gene CAG repeat sizes are accurate within +/- 1 repeat. In the examples below, six different results for symptomatic individuals are depicted with normal alleles ranging between 18 and 33 repeats and affected alleles ranging between 40 and 60 repeats. An overexposed DNA sequencing ladder used for accurate sizing of CAG repeats is depicted on the right of the figure.



Replication errors are the main source of mutations. It has been estimated that uncorrected replication errors occur with a frequency of 10^{-9} - 10^{-11} for each nucleotide added by DNA polymerases. Since a cell division requires synthesis of 6×10^9 nucleotides, the mutation rate is about one per cell division. A commonly observed replication error is the replication slippage, which occurs at the repetitive sequences when the new strand mispairs with the template strand. The [microsatellite polymorphism](#) is mainly caused by the replication slippage. If the mutation occurs in a coding region, it could produce abnormal proteins, leading to diseases. The [Huntington's disease](#) is a well known example.



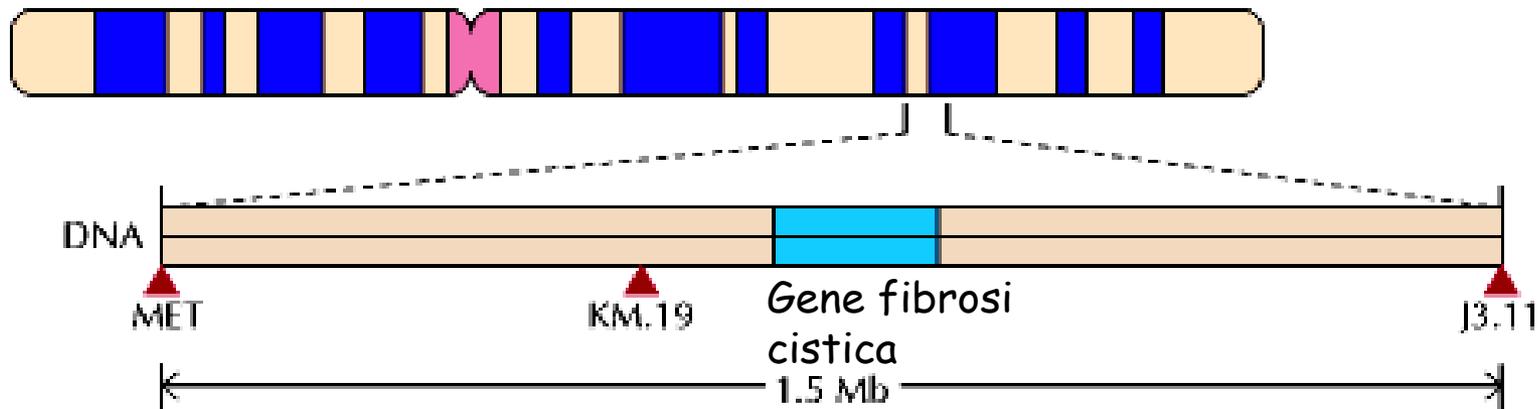
The mutation caused by replication slippage. In this figure, mispairing involves only one repeat. In fact, the slippage could cause several repeats to become unpaired. (a) Normal replication. (b) Backward slippage, resulting in the insertion mutation. (c) Forward slippage, resulting in the deletion mutation.

La fibrosi cistica è un carattere recessivo

Il difetto che provoca la CF fu identificato nel 1989 da un team di ricercatori guidati da Lapchee Tsui e Francis Collins. Furono usate tecniche di ricombinazione del DNA per mappare il gene nella regione q31 del cromosoma 7. Questa regione fu esplorata usando numerosi metodi di mappatura genetica e il gene della CF fu identificato confrontando l'organizzazione molecolare di un piccolo segmento del cromosoma 7 tra individui normali e individui colpiti da CF.

Cromosoma 7

q31.2 locus della CF



Il linkage con gli RFLP di MET e di J3.11 ha mappato il gene nella regione indicata del cromosoma 7, che è stata ulteriormente delineata da una ulteriore RFLP denominato KM.19. Il gene della fibrosi cistica, che occupa 250 kb, è stato poi clonato e sequenziato.

La fibrosi cistica è un carattere recessivo

La tecnica di PCR può rivelare le mutazioni nel gene della FC.



La fibrosi cistica è un carattere recessivo

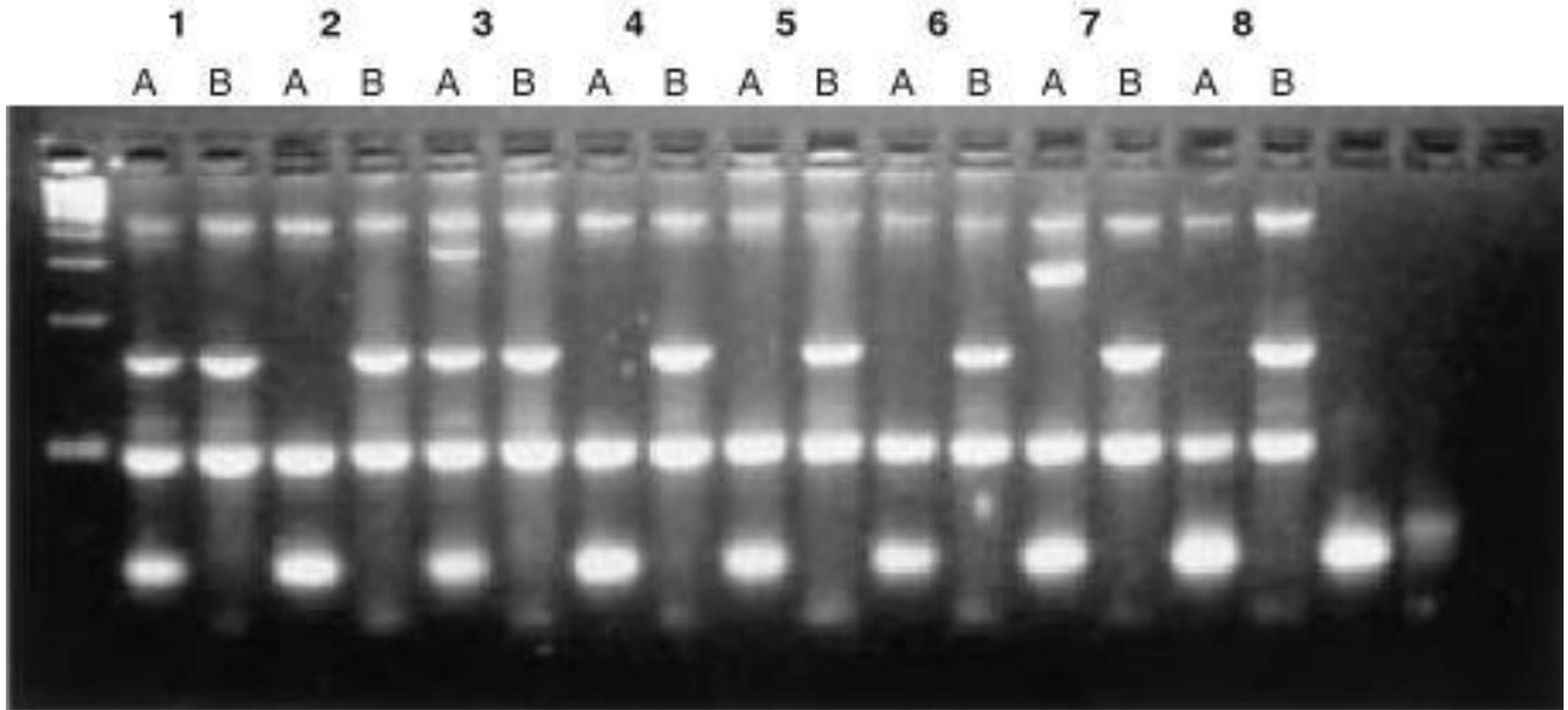


Figure 17.3. Multiplex ARMS test to detect 12 cystic fibrosis mutations. Each sample is tested with two multiplex mutation-specific PCR reactions. Set A amplifies DNA containing the 1717- G>A, G542X, W1282X, N1303K, F508del or 3849+10kbC>T mutations; set B gives products with templates containing 621+1G>T, R553X, G551D, R117H, R1162X or R334W mutations and the normal allele of F508del. Each product is a different size, so the nature of any mutation is revealed by the position of the band in the gel. Each tube also amplifies two control sequences. Note that the normal alleles of mutations other than F508del are not tested for. Sample 1 is heterozygous for F508del; sample 3 is a compound heterozygote F508del / 1717-1 G>A; sample 7 includes G542X (homozygous or heterozygous).

Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica recessiva

β -talassemie

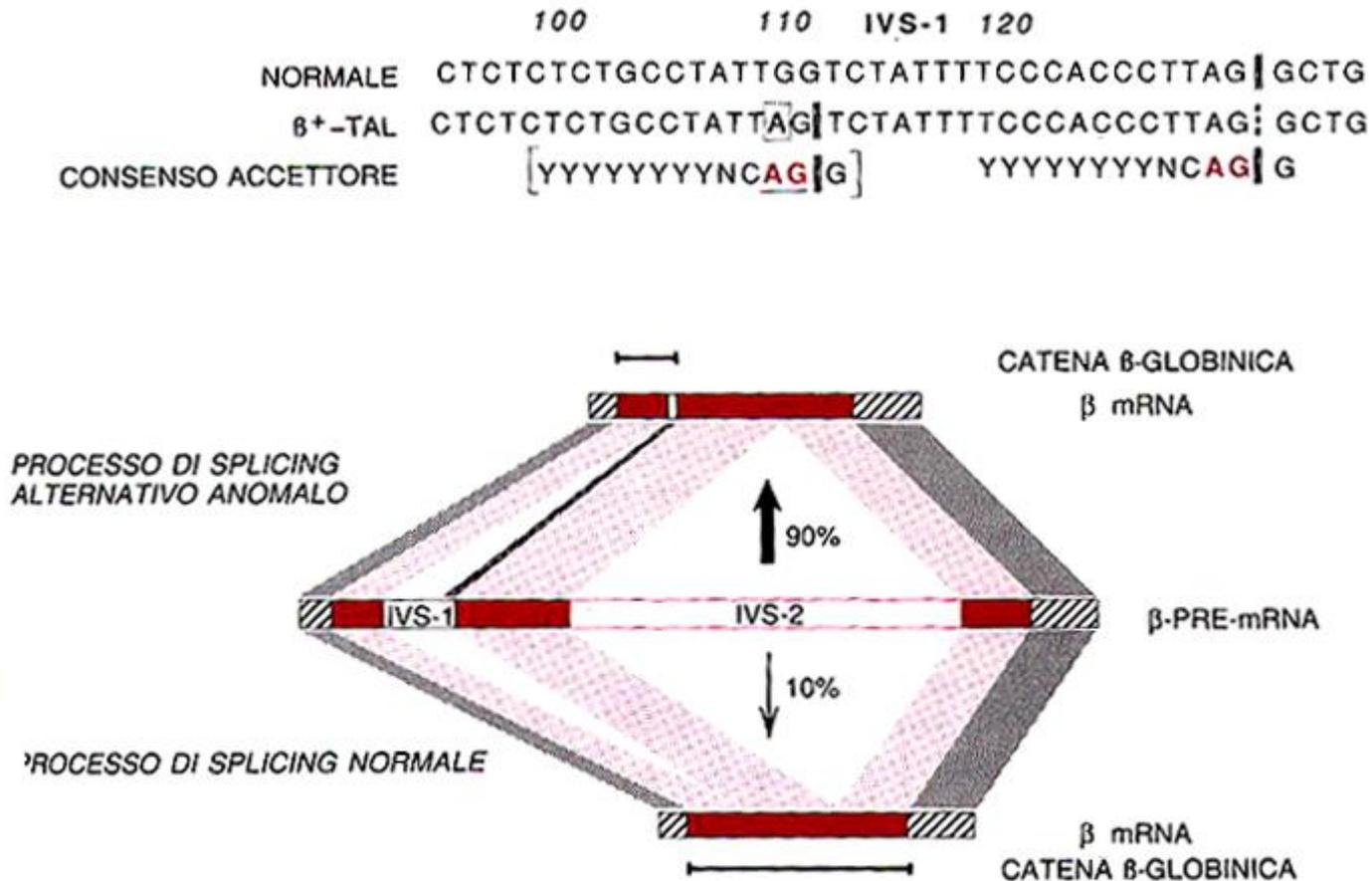


Figura 6.21. Talassemia β^+ causata da una mutazione di una G con una A in posizione 110 nel primo introne. Questo porta alla creazione di un sito accettore di splicing anomalo, poiché la nuova sequenza contiene un AG. Come mostrato nella parte inferiore del diagramma, questo sistema di splicing è utilizzato all'incirca il 90% delle volte. Soltanto il 10% del messaggero viene tagliato appropriatamente e dà origine a catene β -globiniche normali. Y = C o T; N = qualsiasi nucleotide. L'AG invariabile nella sequenza accettore di consenso è stato *sottolineato*. Le linee verticali indicano la localizzazione dello splicing.

Population	Mutation	MIM no.*	Frequency (%)	Clinical effect
Sardinia	Codon 39 (C>T)	.0312	95.7	β^0
	Codon 6 (delA)	.0327	2.1	β^0
	Codon 76 (del C)	.0330	0.7	β^0
	Intron 1–110 (G>A)	.0364	0.5	β^+
	Intron 2–745 (C>G)	.0367	0.4	β^+
Greece	Intron 1–110 (G>A)	.0364	43.7	β^+
	Codon 39 (C>T)	.0312	17.4	β^0
	Intron 1-1 (G>A)	.0346	13.6	β^0
	Intron 1–6 (T>C)	.0360	7.4	β^+
	Intron 2–745 (C>G)	.0367	7.1	β^+
China	Codon 41/42 (delTCTT)	.0326	38.6	β^0
	Intron 2–654 (C>T)	.0368	15.7	β^0
	Codon 71/72 (insA)	.0328	12.4	β^0
	-28 (A>G)	.0381	11.6	β^+
	Codon 17 (A>T)	.0311	10.5	β^0
US black African	-29 (A>G)	.0379	60.3	β^+
	-88 (C>T)	.0372	21.4	β^+
	Codon 24 (T>A)	.0369	-7.9	β^+
	Codon 6 (delA)	.0327	0.8	β^0

Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica recessiva

β -talassemie

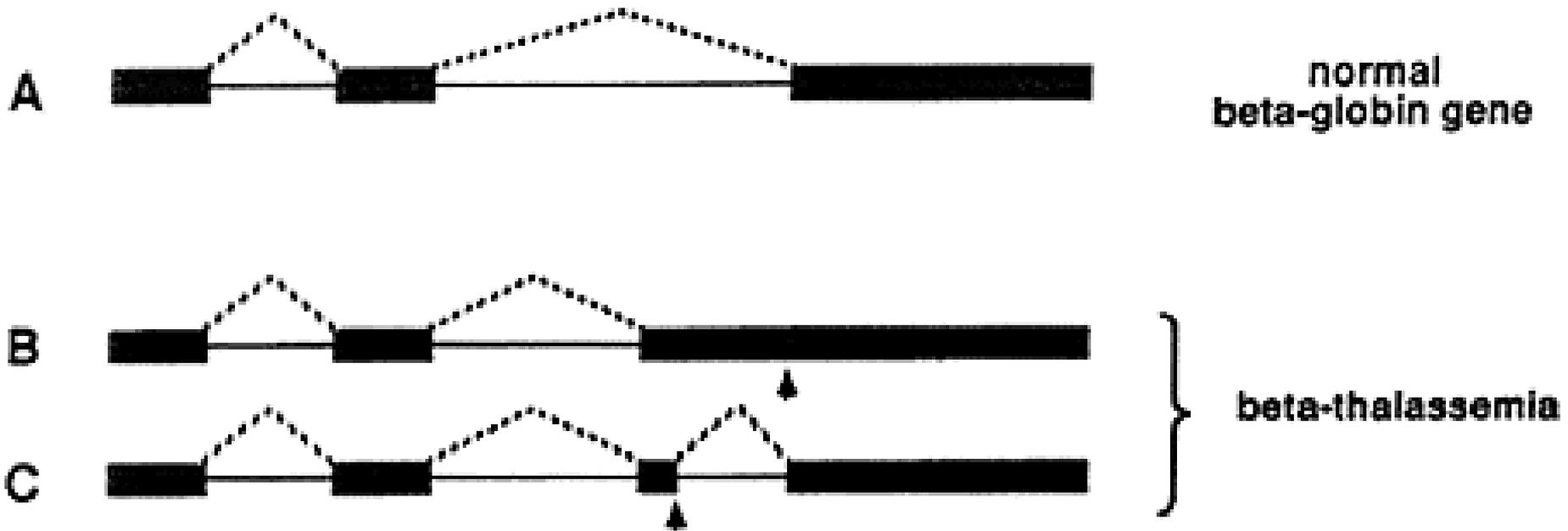
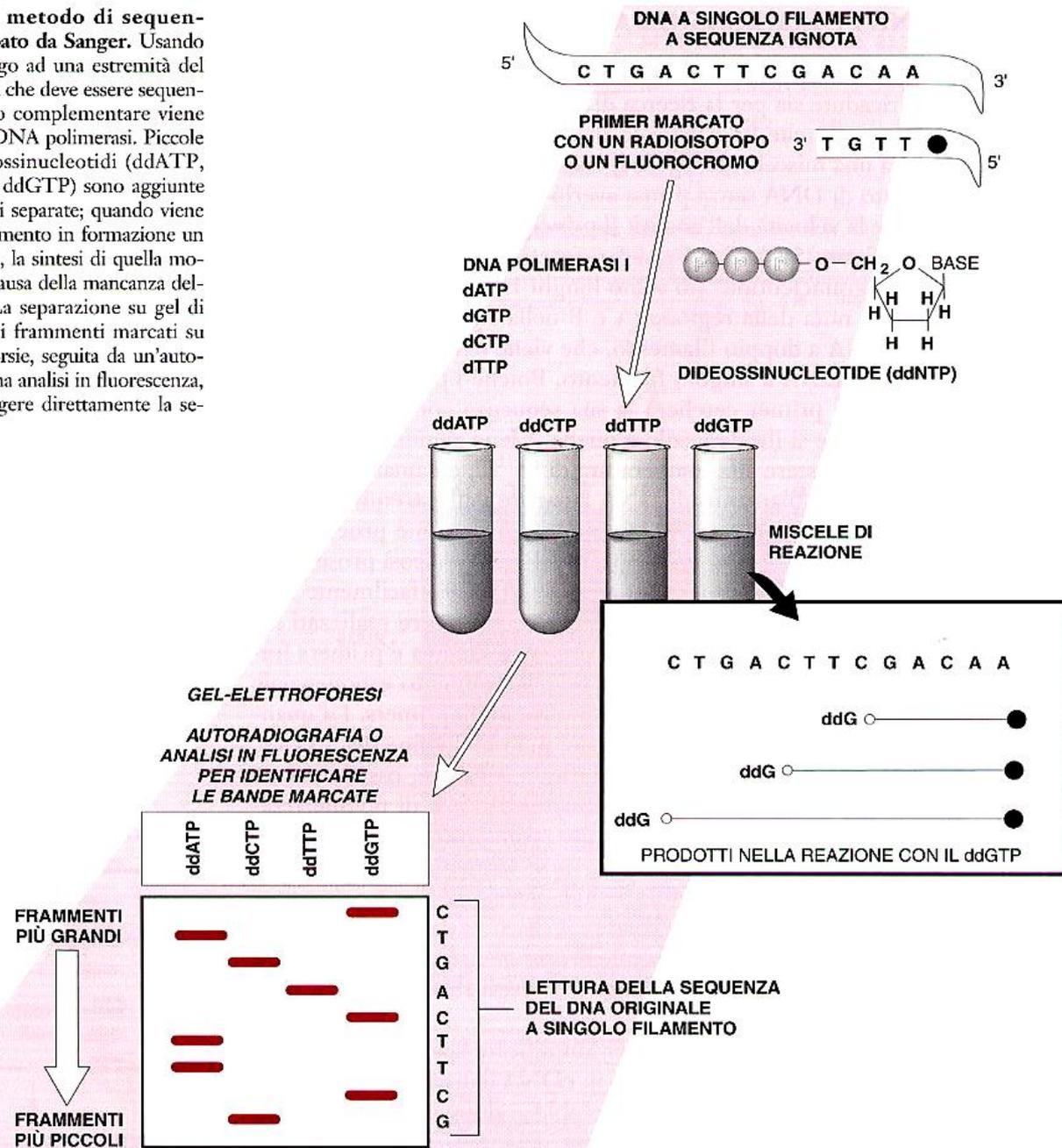
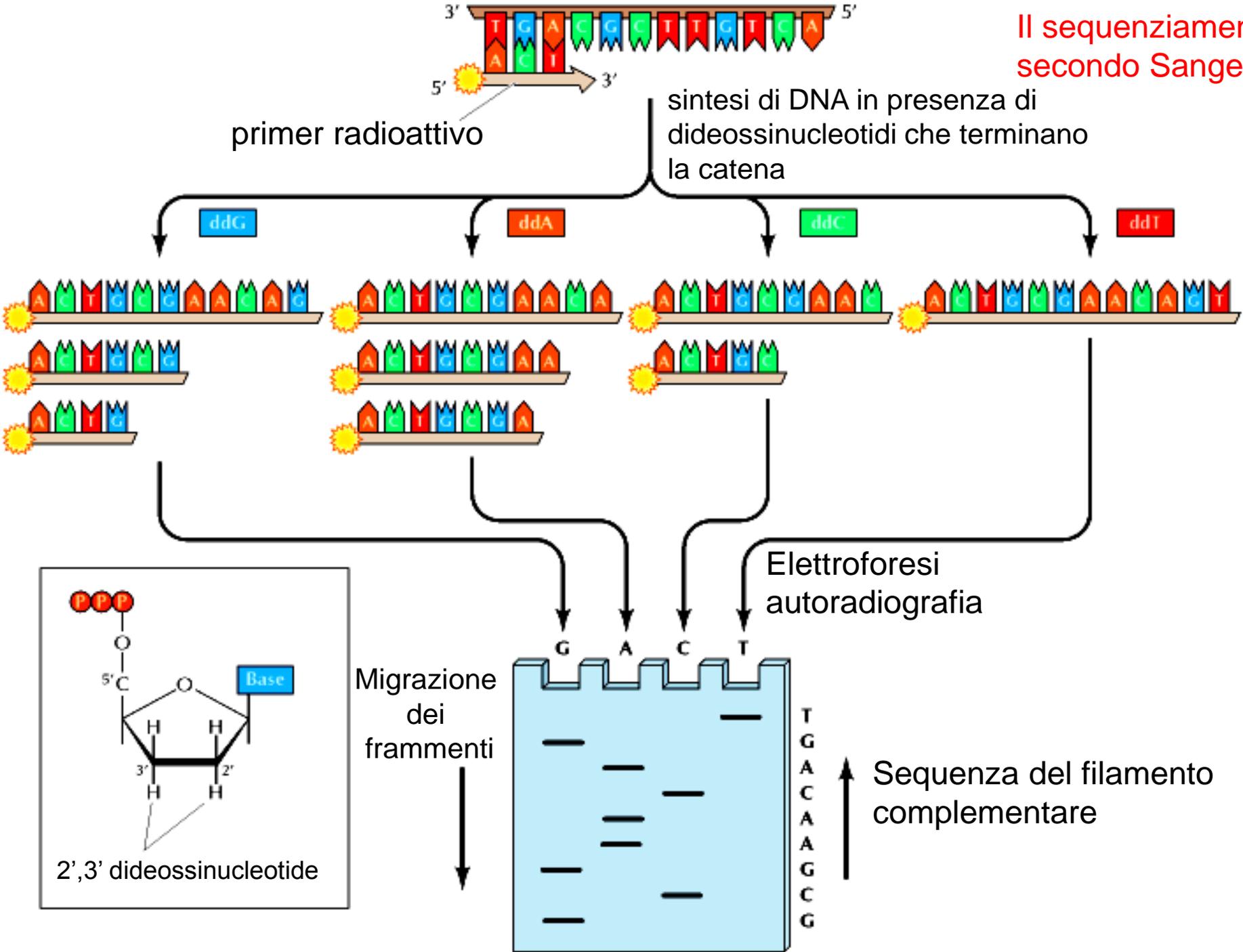


Figure 3: Defective splicing causing beta-thalassemia. A normal beta-globin gene is presented in A, and two mutated genes that result in beta-thalassemia are shown in B and C. Arrows mark the position of point mutations. The interrupted lines denote the segments that are being joined during the splicing process. In the healthy individual, three segments are spliced as shown in A. In one of the thalassemia cases, an unusually long third segment is formed (B), while in the second one, an extra segment is produced (C).

Figura 5.17. Il metodo di sequenziamento sviluppato da Sanger. Usando un primer omologo ad una estremità del filamento di DNA che deve essere sequenziato, il filamento complementare viene sintetizzato dalla DNA polimerasi. Piccole quantità di dideossinucleotidi (ddATP, ddCTP, ddTTP, ddGTP) sono aggiunte in quattro reazioni separate; quando viene incorporato al filamento in formazione un dideossinucleotide, la sintesi di quella molecola si ferma a causa della mancanza dell'ossidrile al 3'. La separazione su gel di poliacrilamide dei frammenti marcati su quattro diverse corsie, seguita da un'auto-radiografia o da una analisi in fluorescenza, permetterà di leggere direttamente la sequenza.

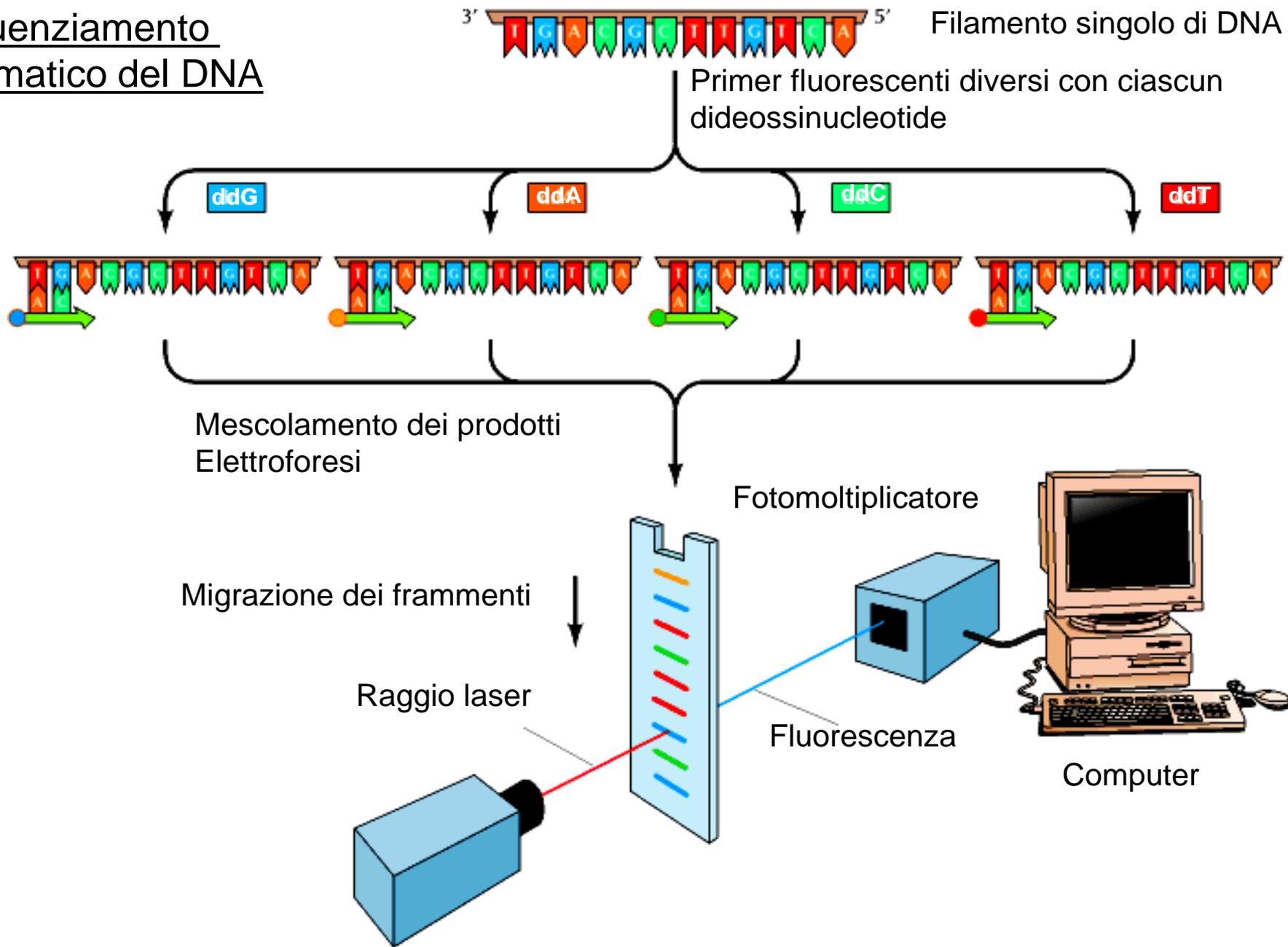


Il sequenziamento secondo Sanger

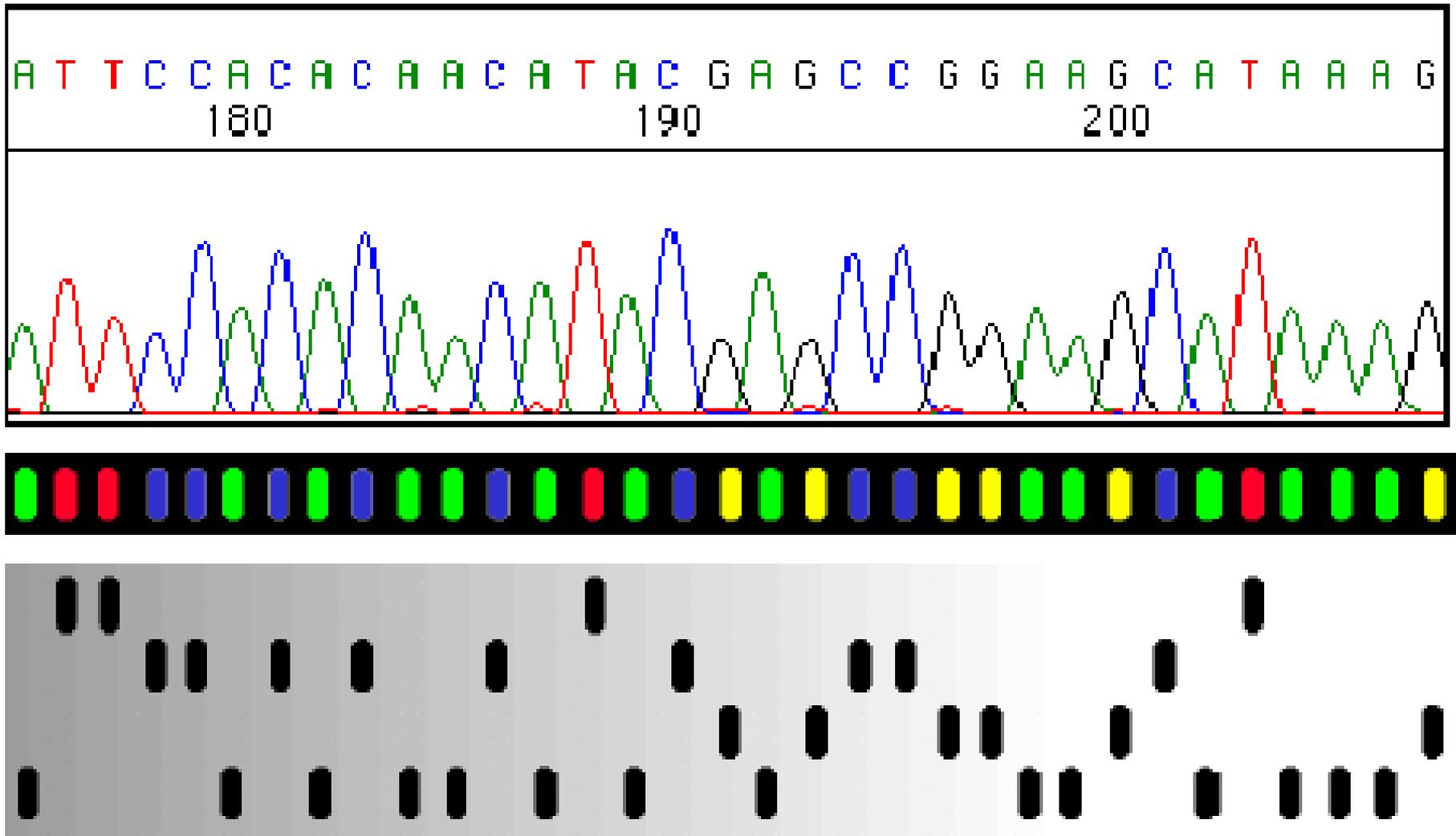


Mappatura e sequenziamento di genomi completi: il genoma umano

Sequenziamento automatico del DNA

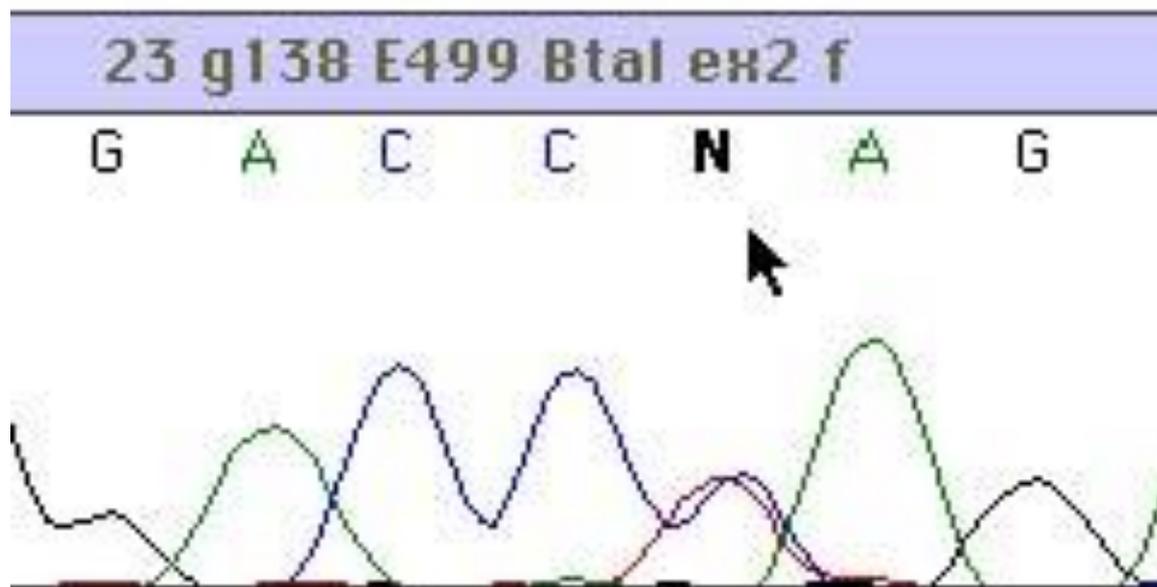
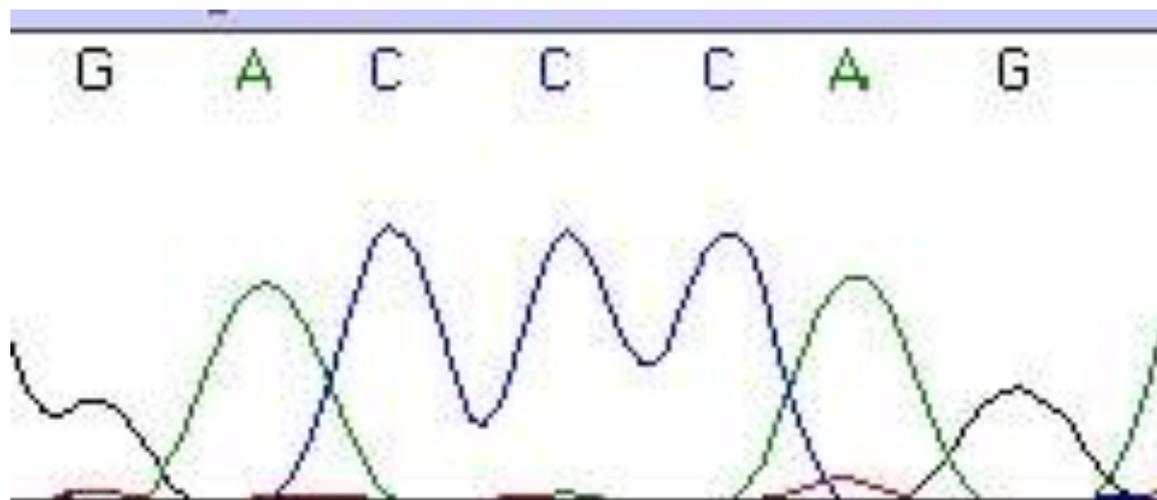


Il sequenziamento automatico del DNA



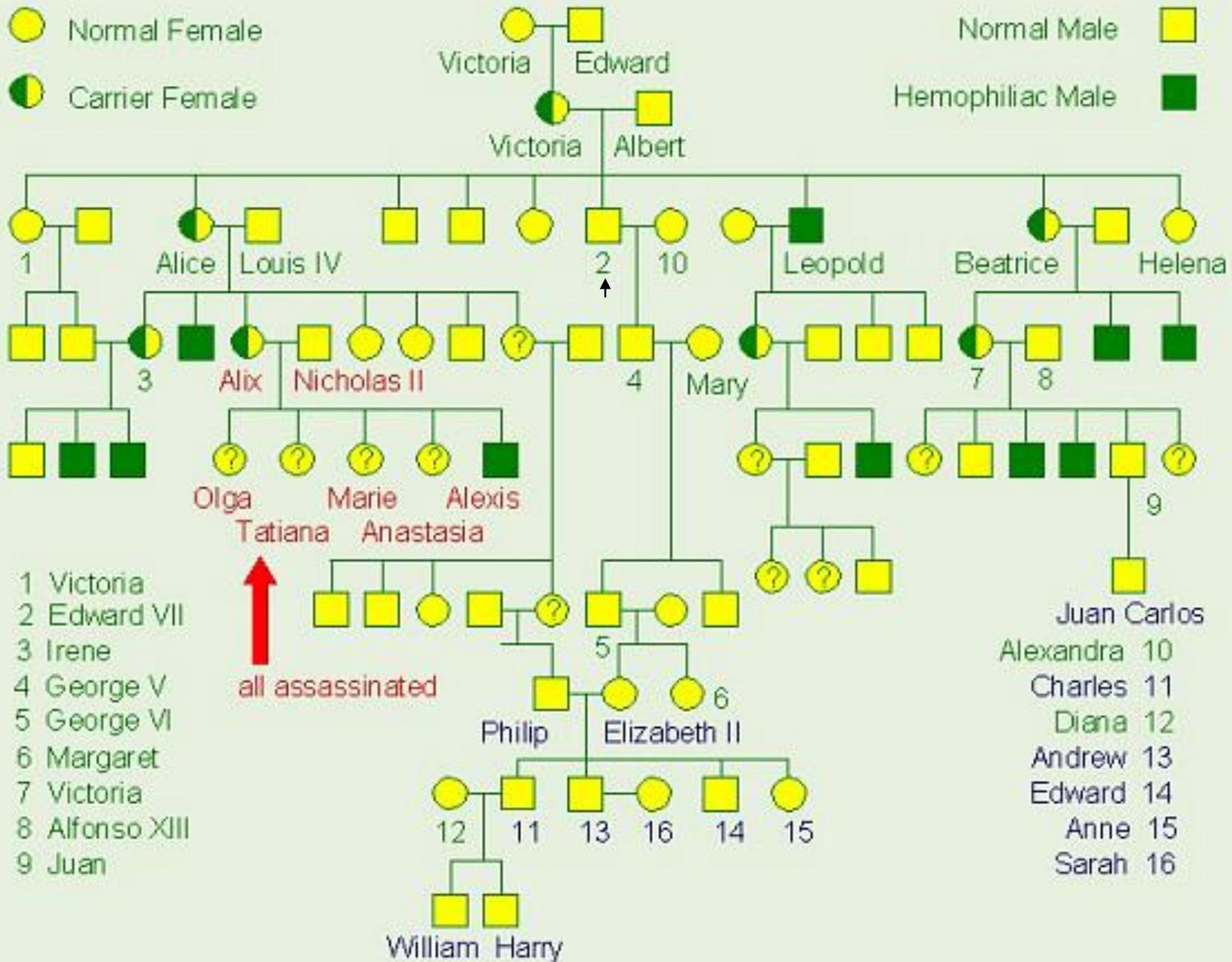
Malattie monofattoriali: ereditarietà autosomica recessiva
 β -talassemie

Sequenziamento automatico



 Normal Female
 Carrier Female

Normal Male 
 Hemophiliac Male 



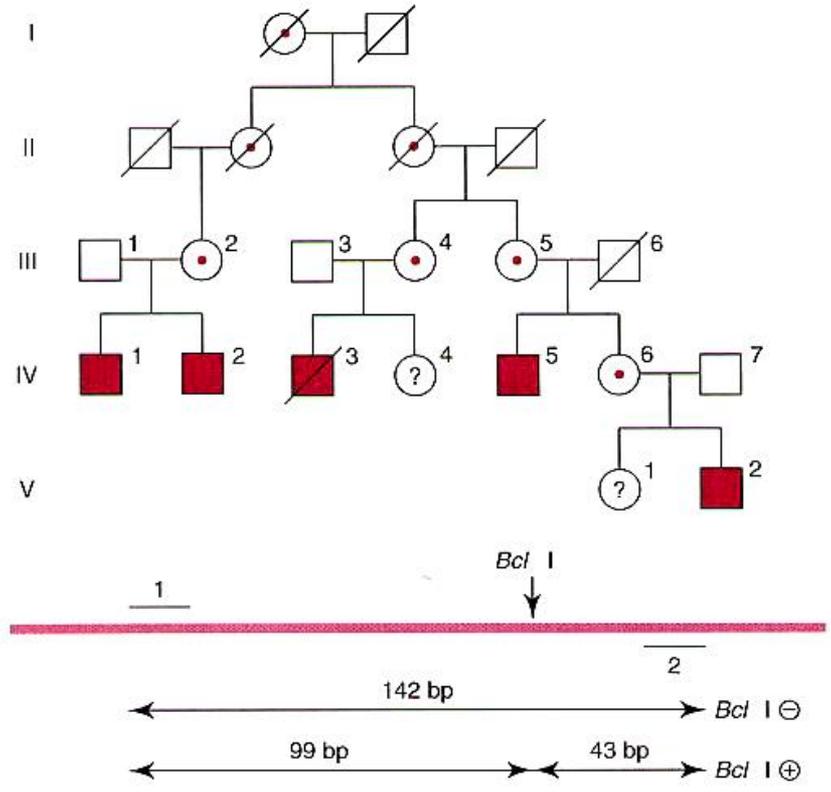
- 1 Victoria
- 2 Edward VII
- 3 Irene
- 4 George V
- 5 George VI
- 6 Margaret
- 7 Victoria
- 8 Alfonso XIII
- 9 Juan

- Juan Carlos
- Alexandra 10
- Charles 11
- Diana 12
- Andrew 13
- Edward 14
- Anne 15
- Sarah 16

William Harry

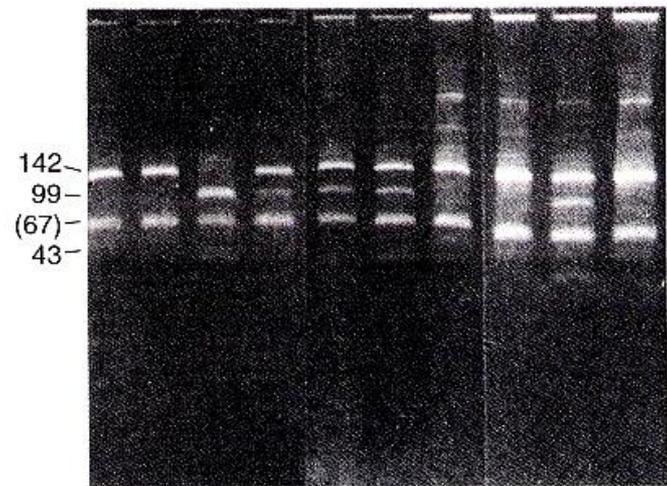
Malattie monofattoriali: ereditarietà legata all'X L'emofilia

Figura 5.23. Analisi di un polimorfismo di sequenza in una famiglia con emofilia A. Raffigurata al di sotto del pedigree, vediamo la regione che verrà studiata con la PCR, in cui è mostrata la posizione dei primers e del sito polimorfico *BclI*. L'amplificato della PCR compreso tra i primers 1 e 2 è di 142 bp; la digestione con *BclI*, se il sito *BclI* è presente, darà origine a due bande, una da 99 bp e l'altra da 43 bp. La fotografia mostra i risultati ottenuti; i numeri sopra ogni corsia corrispondono all'individuo nel pedigree. È presente una banda costante di 67 bp di origine sconosciuta, che ai fini dell'indagine può essere tralasciata. Il gene dell'emofilia A è associato in tutti i maschi affetti alla presenza della banda da 142 bp (manca il sito *BclI*). Un attento controllo rivela che il soggetto IV-4 è una portatrice. La condizione di V-1 non può essere determinata perché la madre è omozigote per questo polimorfismo. (Riprodotta per concessione di Kogan S.C., Doherty M., Gitdchier J. *An improved method for prenatal diagnosis of genetic disease by analysis of amplified DNA sequences. Application to emophilia A.* N. Engl. J. Med., 1987; 317:985-990)



PARTE DEL GENE DEL FATTORE VIII

IV1 IV2 III3 III4 IV4 III5 IV5 IV6 VI V2



Malattie monofattoriali: ereditarietà legata all'X

Distrofia di Duchenne e di Becker

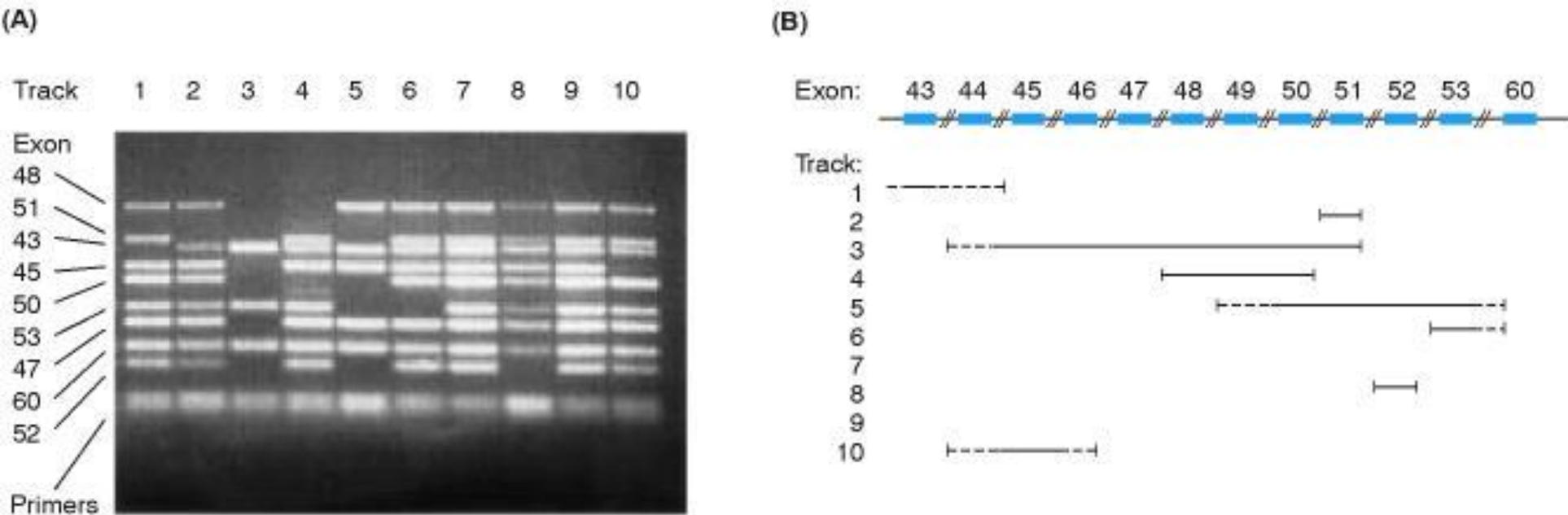


Figure 17.11. Multiplex deletion screen for dystrophin. **(A)** Products of multiplex PCR amplification of nine exons, using samples from 10 unrelated patients with Duchenne/Becker muscular dystrophy. PCR primers have been designed so that each exon, with some flanking intron sequence, gives a different sized PCR product. Courtesy of Dr R. Mountford, Liverpool Women's Hospital. **(B)** Interpretation: solid lines show exons definitely deleted, dotted lines show possible extent of deletion running into untested exons. No deletion is seen in samples 7 and 9 - these patients may have point mutations, or deletions of exons not examined in this test. Exon sizes and spacing are not to scale.

Malattie monofattoriali: ereditarietà legata all'X

Distrofia di Duchenne e di Becker

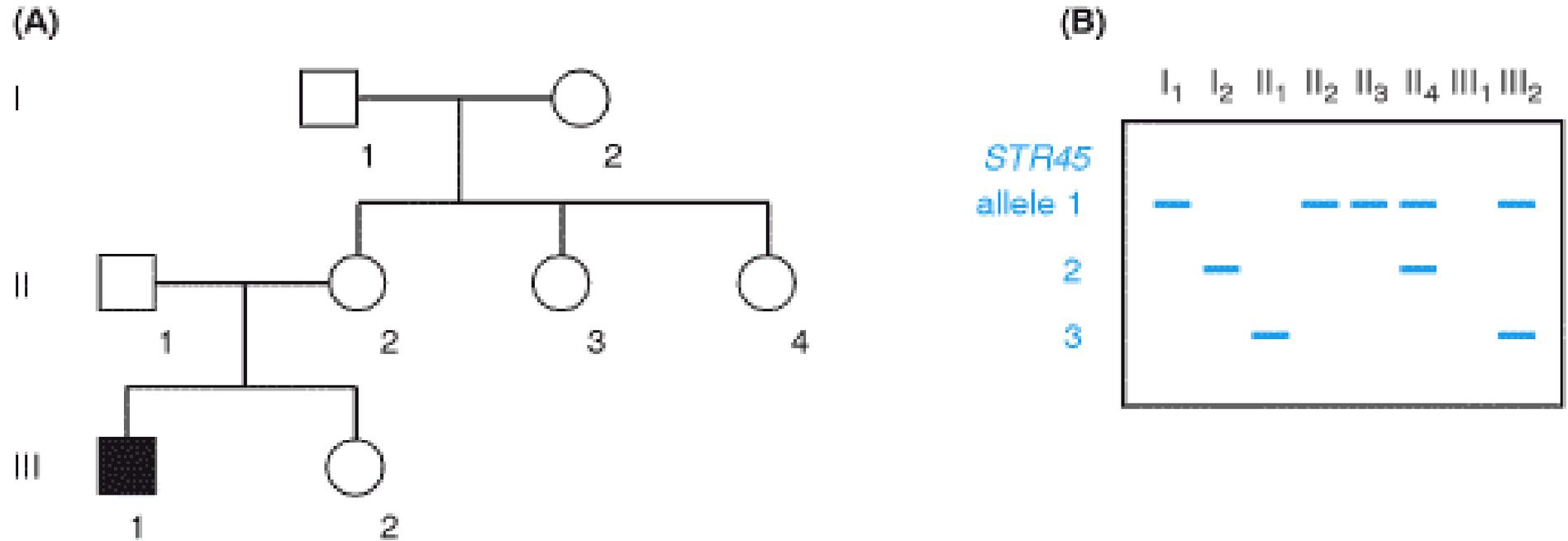
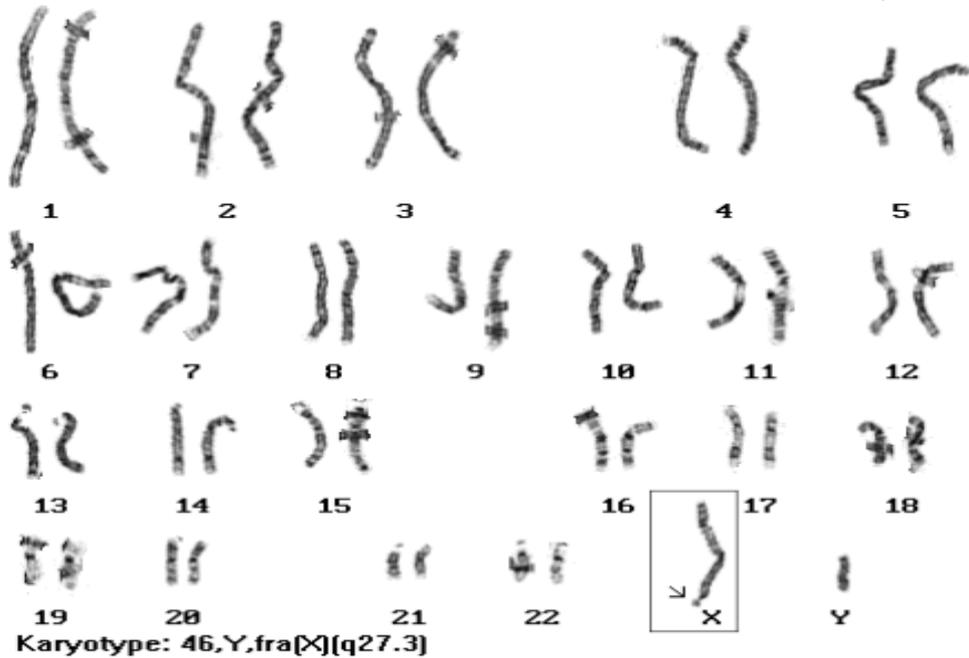


Figure 17.12. A family with Duchenne muscular dystrophy. **(A)** pedigree; **(B)** results of typing with the intragenic marker *STR45*. The affected boy III-1 has a deletion which includes *STR45* (lane 7 of the gel is blank). His mother II-2 and his aunt II-3 inherited no allele of *STR45* from their mother I-2, showing that the deletion is being transmitted in the family. I-2 is apparently homozygous for this highly polymorphic marker (lane 2), but in fact is hemizygous. The other aunt II-4 and the sister III-2 are heterozygous for the marker, and therefore do not carry the deletion.

Anomalie della struttura dei cromosomi

Duplicazioni

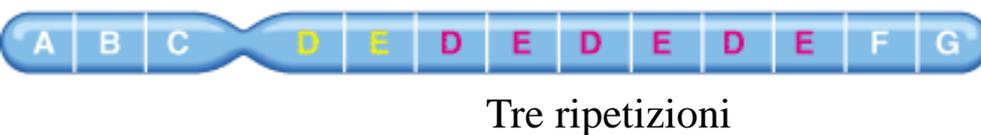
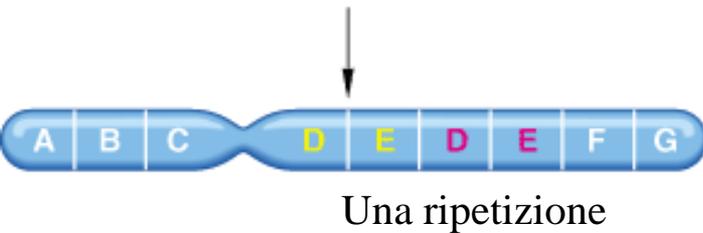


Sindrome dell'X fragile.

Rappresenta la forma più comune di ritardo mentale. La maggior parte delle persone normali hanno 29 "ripetizioni" alla fine del cromosoma X ma quelle affette dalla sindrome dell'X fragile ne hanno fino a 700 dovute alle duplicazioni.

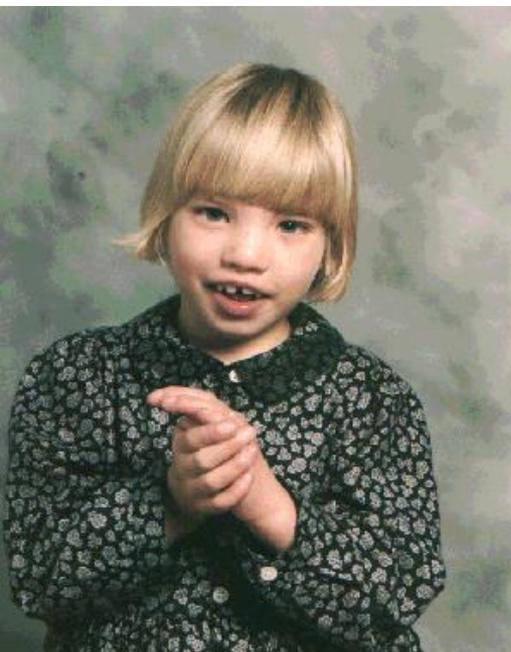
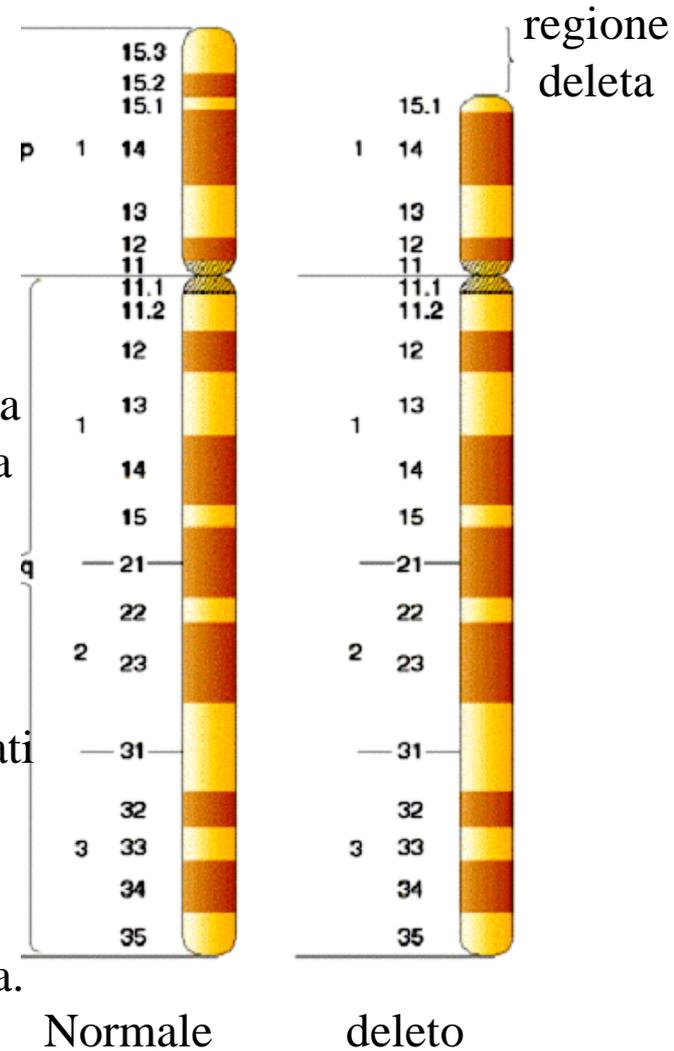
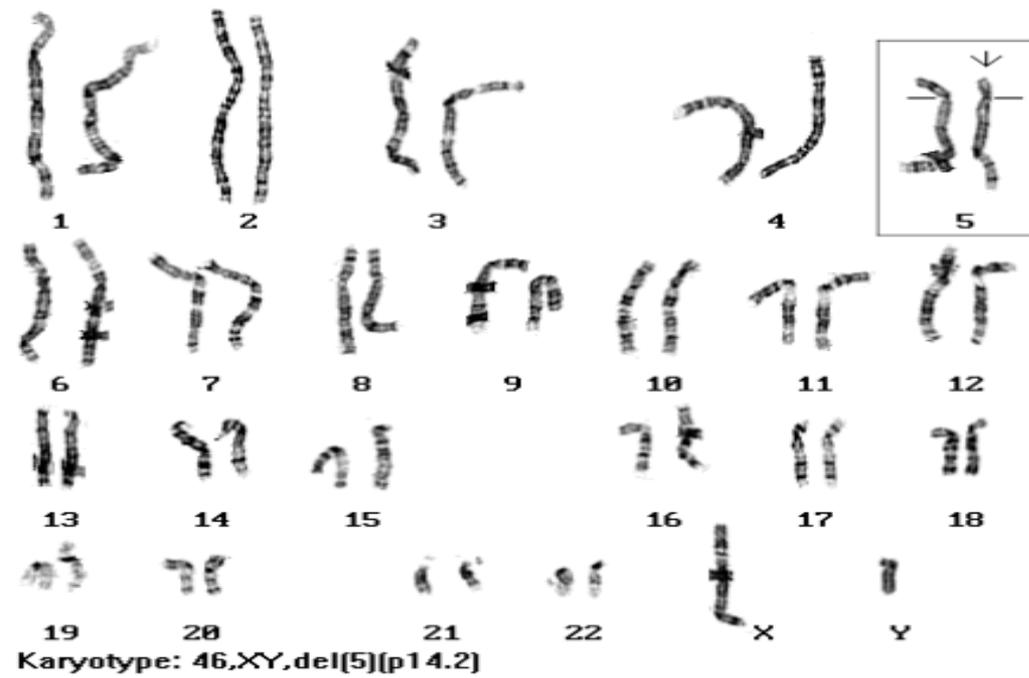
Maschi affetti 1 : 1.500

Femmine affette 1 : 2.500



Anomalia della struttura dei cromosomi Delezioni

Sindrome di Lejeune o cri du chat (miagolio del gatto). Delezione del cromosoma 5.



Il pianto del bambino affetto somiglia al miagolio di un gatto a causa di una malformazione alla laringe.

Gli affetti sono in maggioranza di sesso femminile, probabilmente a causa di una maggiore mortalità dei maschi affetti. Gli affetti sono ritardati fisicamente e mentalmente, difetti cardiaci, cranio piccolo con orecchie malformate, strabismo ed altre anomalie. La condizione è molto rara.

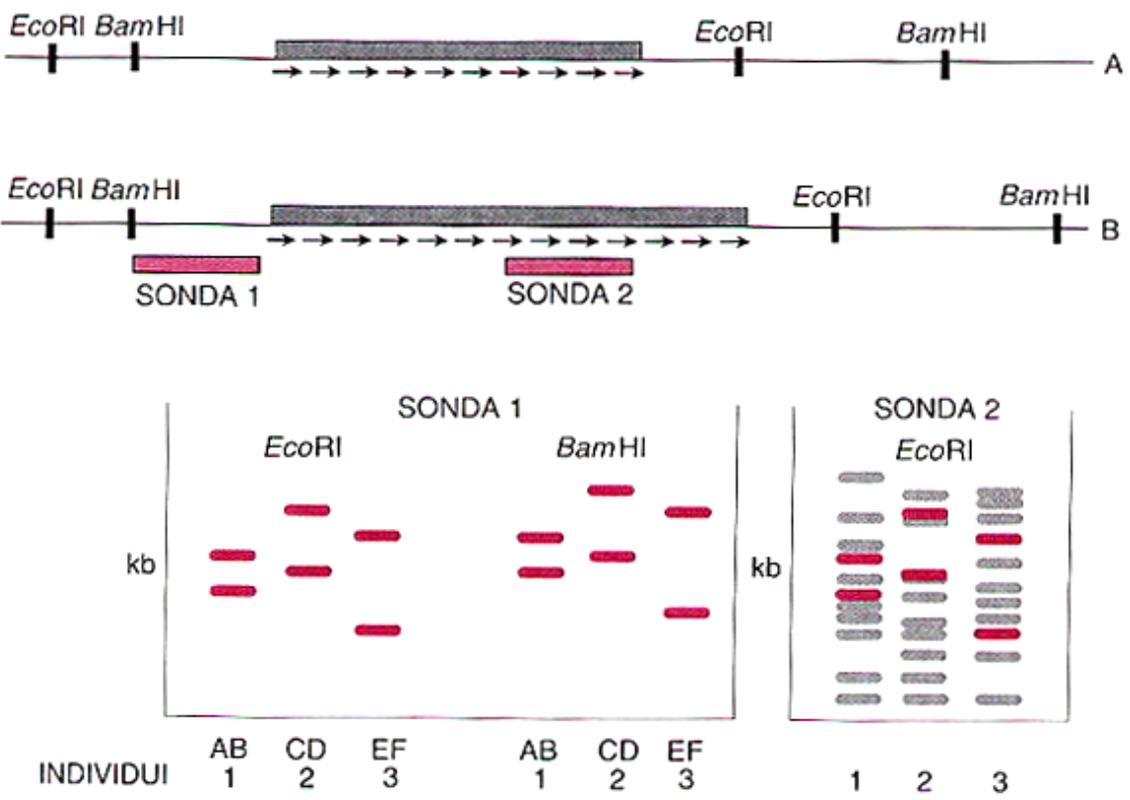


Figura 5.19. Polimorfismi di ripetizioni in tandem in numero variabile (VNTR). I riquadri rappresentano lunghe sequenze ripetute in tandem. Il numero degli elementi ripetuti varia da cromosoma a cromosoma, ma è ereditabile. La diversa lunghezza può essere evidenziata da un Southern blot, praticamente usando un qualsiasi enzima. Un esempio dei risultati dell'analisi di tre individui utilizzando *EcoRI* e *BamHI*: la sonda 1 dimostra che tutti e tre sono eterozigoti, il che rappresenta il più grosso vantaggio di questo tipo di polimorfismi. La sonda 2, che corrisponde alla regione ripetuta in tandem, identifica numerosi polimorfismi VNTR, oltre all'unico VNTR identificato dalla sonda 1 e quindi ne deriva un pattern di bande altamente variabile e molto più complesso.

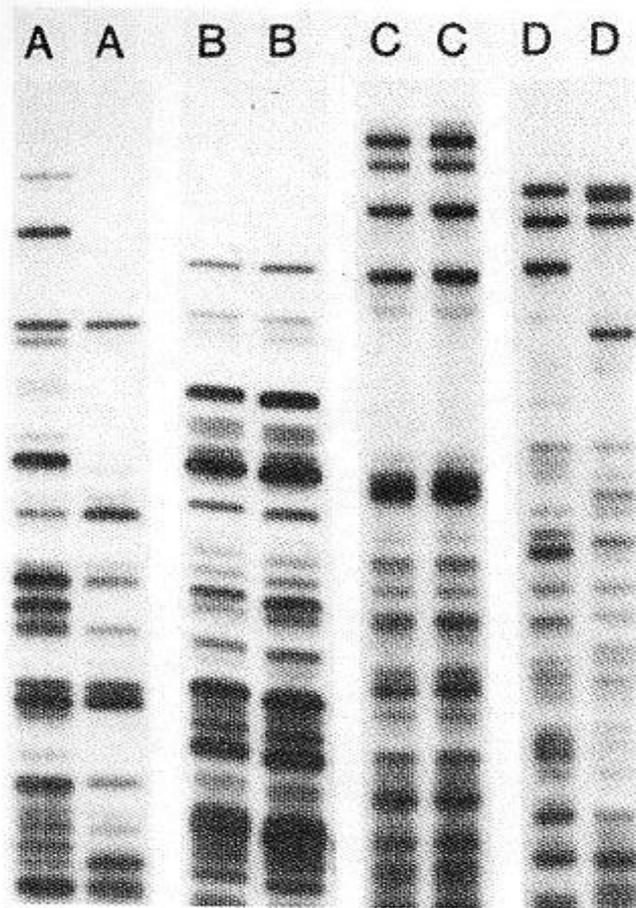


Figura 5.20. Analisi “fingerprint” di DNA con una singola sonda che identifica numerosi polimorfismi VNTR dispersi in numerose regioni del genoma. Ogni paio di campioni corrisponde al DNA di gemelli. Il perfetto appaiamento delle bande in B e in C indica che si tratta di gemelli identici, mentre A e D sono gemelli fraterni. Questi ultimi condividono circa il 50% delle bande, come atteso per i parenti di primo grado.

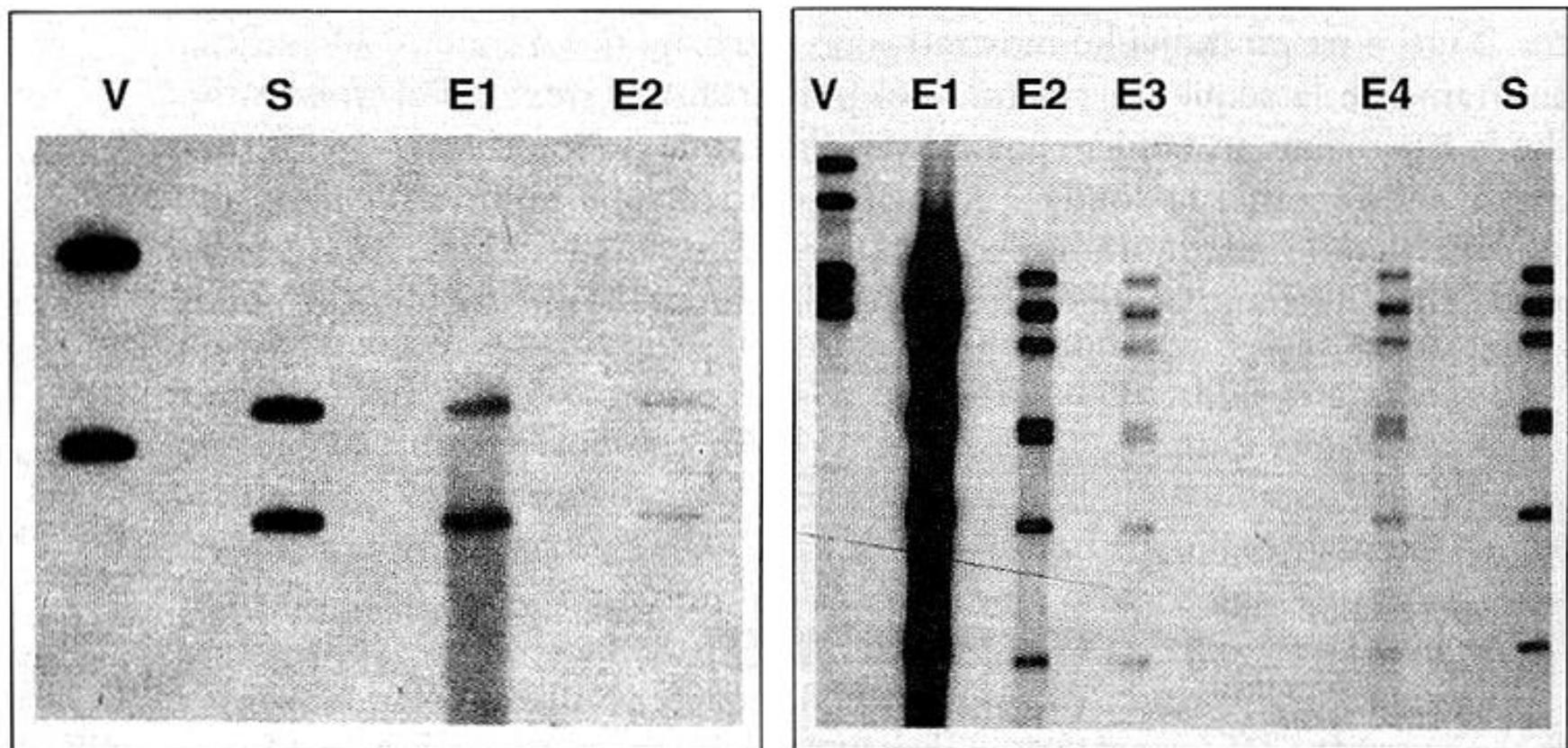


Figura 5.21. I polimorfismi VNTR e l'analisi del DNA in medicina legale. Il Southern blot a sinistra illustra un singolo locus VNTR identificato da una sonda non ripetuta, simile alla sonda 1 nella figura 5.19. Bande diverse sono osservate nel DNA ottenuto dalla vittima (V) e dal sospettato (S). Il DNA ottenuto dalle prove (E) raccolte sulla scena del delitto è compatibile con il sospettato. La probabilità che ciò avvenga per caso può essere stimata conoscendo la frequenza dei vari alleli VNTR nella popolazione generale. Ripetendo una simile analisi con numerosi altri VNTR, la probabilità che ciò avvenga si riduce sempre di più. Il Southern blot (*a destra*) è stato fatto con quattro diverse sonde VNTR non ripetitive. C'è una perfetta sovrapposizione tra la prova ed il sospettato. La medicina legale attuale utilizza almeno quattro marcatori VNTR altamente polimorfici indipendenti. (Riprodotta per concessione della DNA FingerprintingSM and DNA Profiling. Germantown, MD: Cellmark Diagnostics. © 1989 di ICI Americas Inc.)

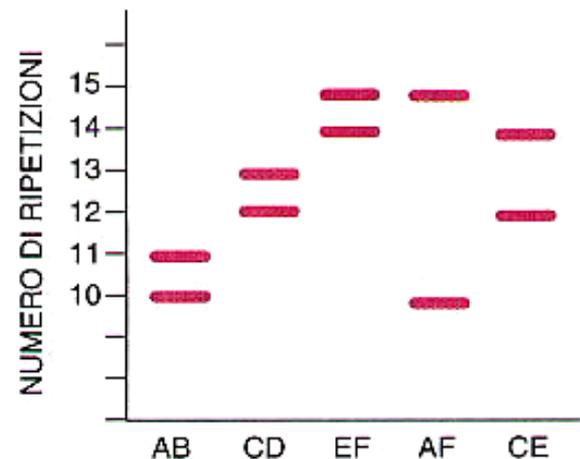
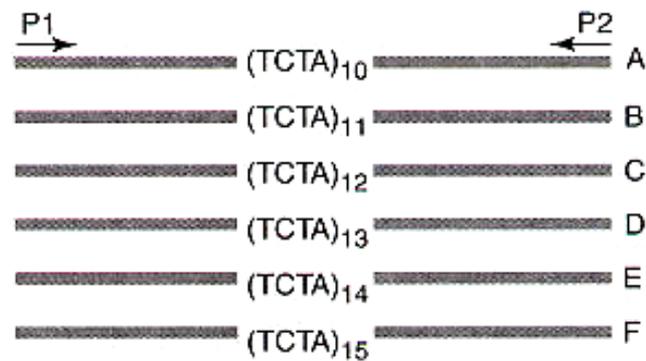


Figura 5.22. Un polimorfismo con una sequenza semplice ripetuta (SSR). Ognuno degli alleli di questo polimorfismo reca un diverso numero di copie di una semplice sequenza ripetuta TCTA. Quando si amplifica questo locus con i primers P1 e P2, i prodotti dei vari alleli differiscono in lunghezza di multipli di 4. Le diverse dimensioni possono essere facilmente osservate su un gel.

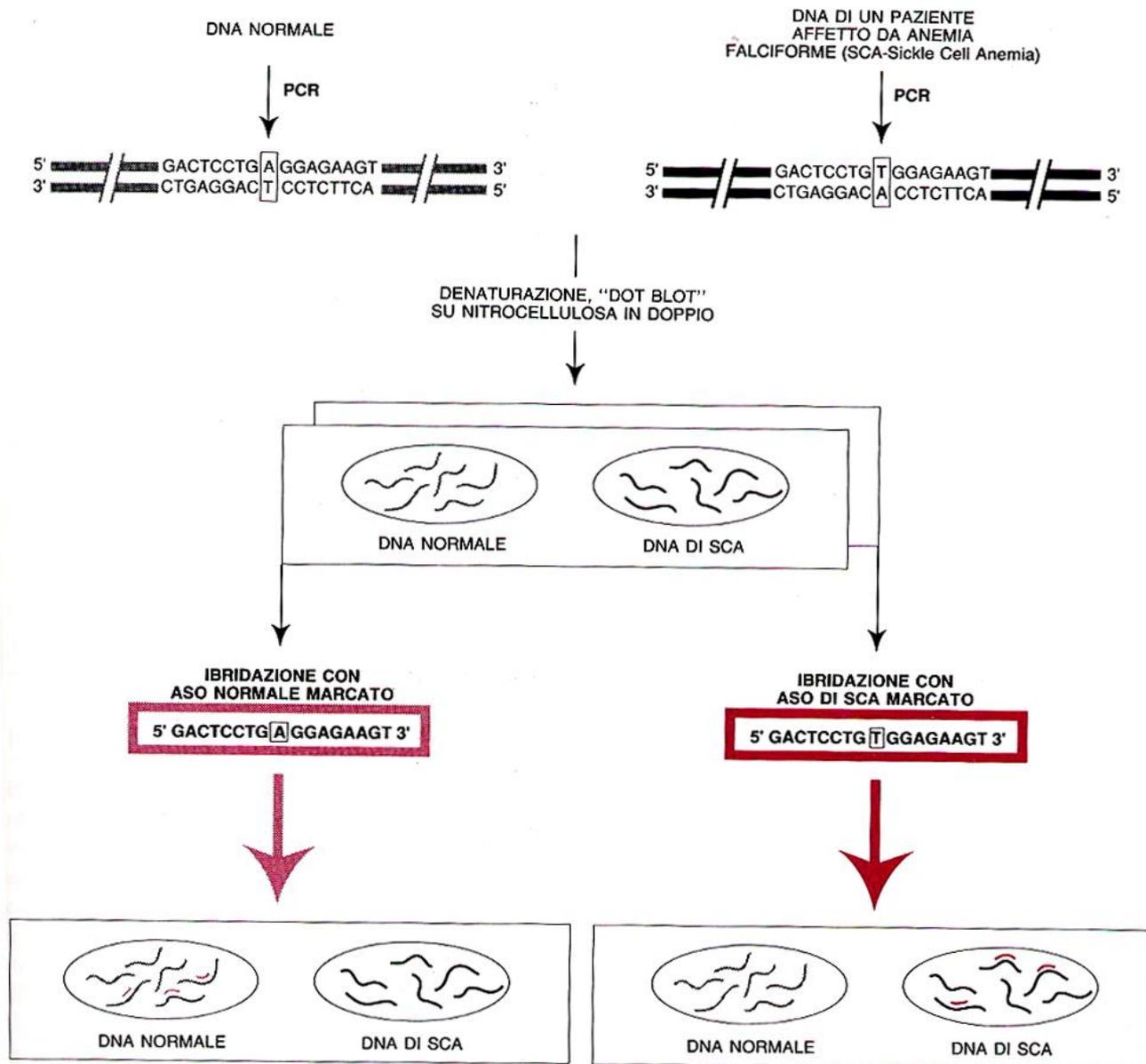
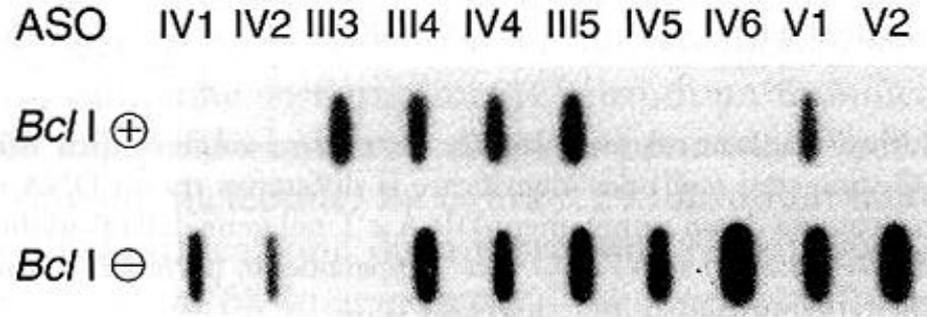


Figura 5.24. Identificazione di una singola differenza nucleotidica utilizzando oligonucleotidi allele-specifici (ASO). In questo esempio gli ASO sono stati scelti per identificare la differenza tra un DNA normale ed un DNA con la mutazione dell'anemia falciforme. Questa malattia è causata da un cambiamento da A a T nel gene della β -globina (vedi capitolo 6). Con adeguate condizioni di ibridazione, si ibriderà con il DNA bersaglio solo l'ASO con "l'appaiamento perfetto" e non quello con anche una sola base di differenza; questo permette di distinguere chiaramente i due campioni di DNA.

Figura 5.25. Analisi del pedigree della figura 5.23 utilizzando gli ASO per testare il prodotto di PCR. I risultati ottenuti con questa tecnica sono coerenti con l'analisi del gel nella figura 5.23. (Riprodotta per concessione di Kogan S.C., Doherty M., Gitchier J. *An improved method for prenatal diagnosis of genetic disease by analysis of amplified DNA sequences. Application to emophilia A*. N. Engl. J. Med. 1987; 317:985-990)



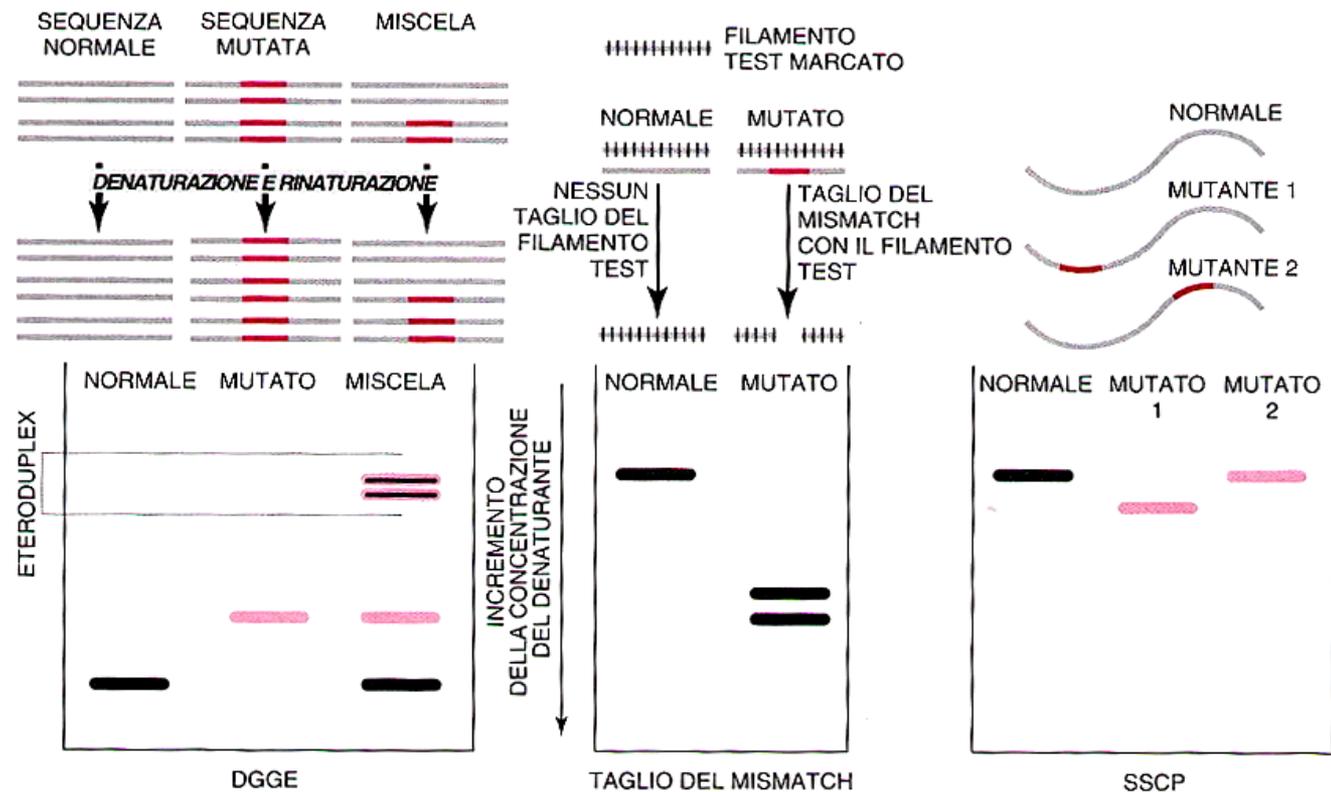
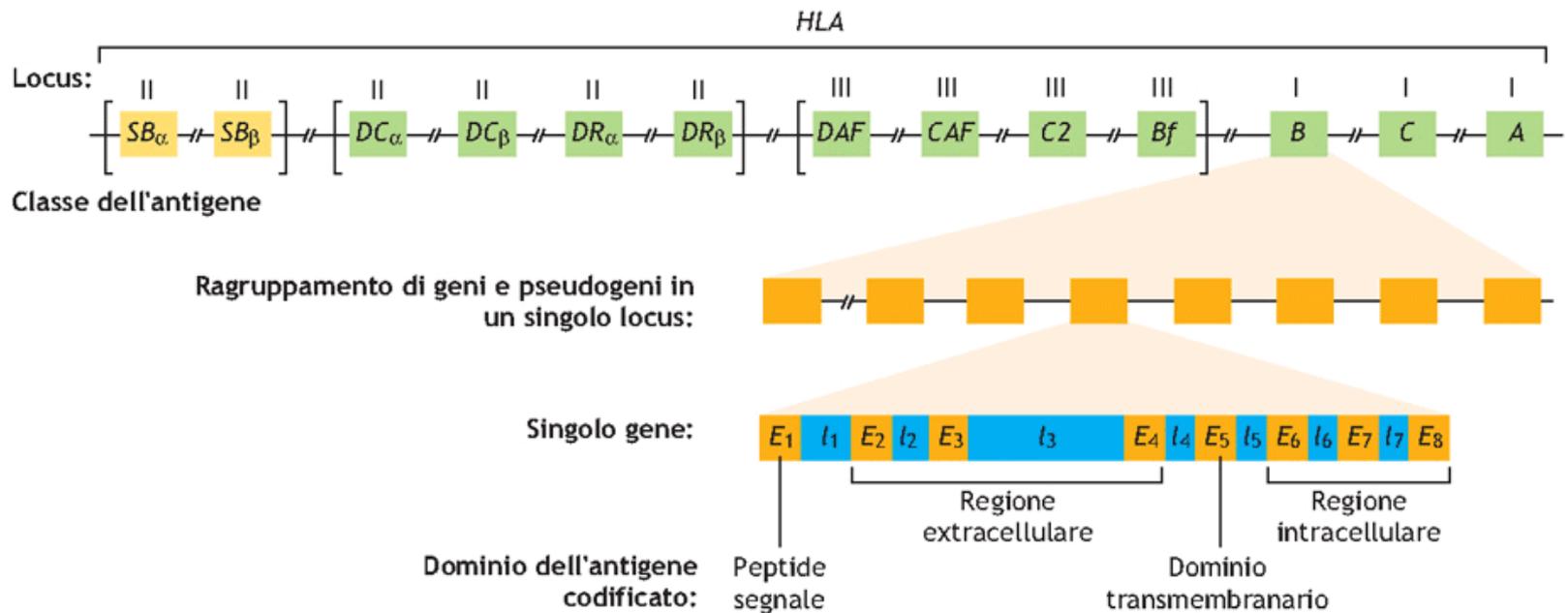


Figura 5.26. Metodi per lo screening di mutazioni. Vengono mostrate schematicamente una serie di tecniche per lo screening di una sequenza di DNA allo scopo di trovare delle mutazioni. Il gel di elettroforesi con gradiente di denaturazione (DGGE) sfrutta piccole differenze nella denaturazione dei due filamenti complementari basate sulla precisa sequenza del DNA. Nel gel è presente un gradiente di denaturazione con le alte condizioni di stringenza verso il basso. Quando i frammenti a doppio filamento corrono nel gel, improvvisamente iniziano a rallentare quando raggiungono la posizione in cui i filamenti si separano. Una singola differenza nucleotidica tra normale e mutante risulterà in una piccola variazione al momento della denaturazione e quindi in una diversa mobilità elettroforetica. Negli eteroduplex, costituiti da un filamento normale ed uno mutato, una singola differenza nucleotidica ne altera la mobilità a causa del diverso comportamento alla denaturazione; essi tenderanno a separarsi ad una minore concentrazione di denaturante. Quando si usano le condizioni adatte per gli eteroduplex, possono essere identificate quasi il 100% delle mutazioni. Le tecniche di clivaggio del mismatch formano un eteroduplex tra il filamento campione (marcato) di DNA o di RNA con una sequenza normale di controllo. La presenza della mutazione porterà ad un mismatch nella posizione corrispondente. Possono essere utilizzati numerosi metodi, chimici o enzimatici, per tagliare il mismatch nella posizione corrispondente. Il filamento campione marcato, tagliato o non tagliato, è poi visualizzato su un gel denaturante. La presenza di frammenti più piccoli oltre il filamento completo indica la posizione della mutazione corrispondente. I metodi di clivaggio del mismatch che utilizzano sostanze chimiche possono identificare quasi il 100% delle mutazioni. La tecnica del polimorfismo di conformazione del singolo filamento (SSCP) separa il DNA a singolo filamento nella regione di interesse su un gel denaturante. La conformazione di ogni filamento sarà leggermente diversa in quanto è espressione della diversa sequenza nucleotidica e le diverse conformazioni porteranno ad una diversa mobilità elettroforetica. Tuttavia, non tutti i cambiamenti nella sequenza porteranno a differenze nella corsa elettroforetica e quindi può essere identificato con questa tecnica soltanto un sottogruppo di mutazioni.



■ **Figura 10.91** Schema semplificato della organizzazione dei geni del complesso maggiore di istocompatibilità (HLA) sul cromosoma n. 6 umano. (E = esone; I = introne).

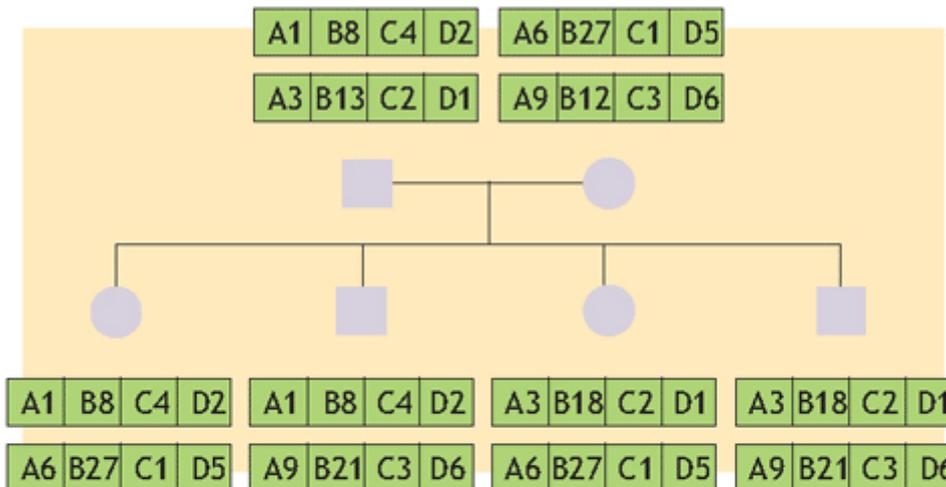


Figura 10.93 Albero genealogico di una piccola famiglia in cui si segue la trasmissione degli aplotipi HLA. La rappresentazione semplificata mostra l'eredità di aplotipi, ognuno dei quali contiene quattro geni, ciascuno codificante per un diverso antigene.



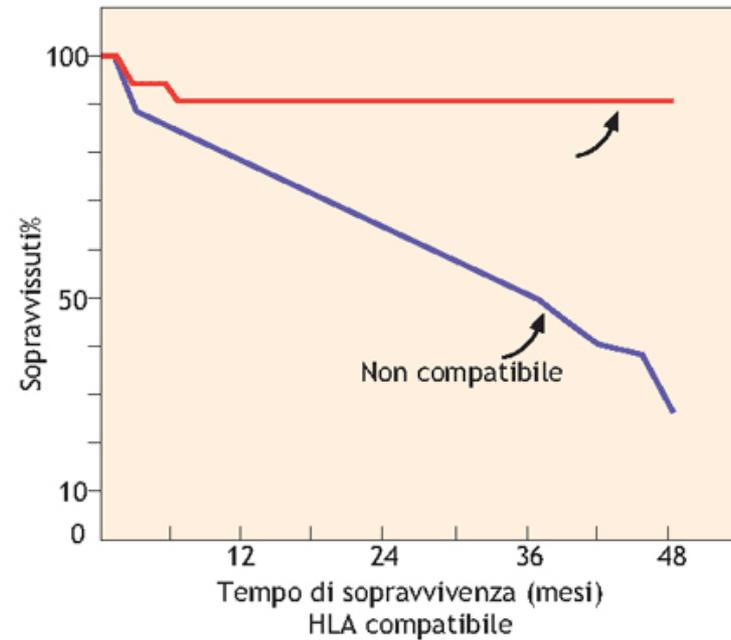


Figura 10.92 Grafico che rappresenta la condizione di sopravvivenza a seguito di trapianto di rene. Le curve nera ed arancione indicano, rispettivamente, i casi di compatibilità ed incompatibilità del sistema HLA.

Tabella 13.4. Alcune malattie associate a determinati aplotipi HLA

Malattia	Aplotipo HLA	Rischio relativo (appross.)
Spondilite anchilosante (articolazioni)	B27	88
Artrite reumatoide (articolazioni)	Dw4; Cw3	16
Diabete giovanile (metabolismo dello zucchero)	DR3; DR4	4
Morbo di Addison (ghiandole surrenali)	B8;Dw3	4-11
Epatite attiva cronica (fegato)	A1;B8	2-3
Colite ulcerativa (intestino)	B5	9
Psoriasi (pelle)	B13; Bw17; Bw37	4-5
Uveite anteriore (occhi)	B27	15
Morbo di Hodgkin (cancro)	A1; B5; B8; Bw18	1-2

Da: VOGEL F., MOTULSKY A.G., 1979, Human Genetics: problems and approaches, Springer-Verlag, New York.

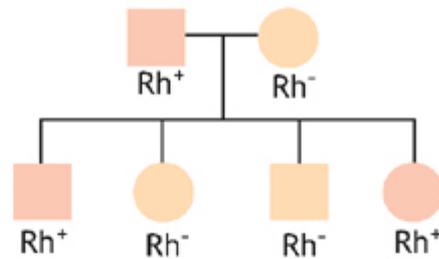
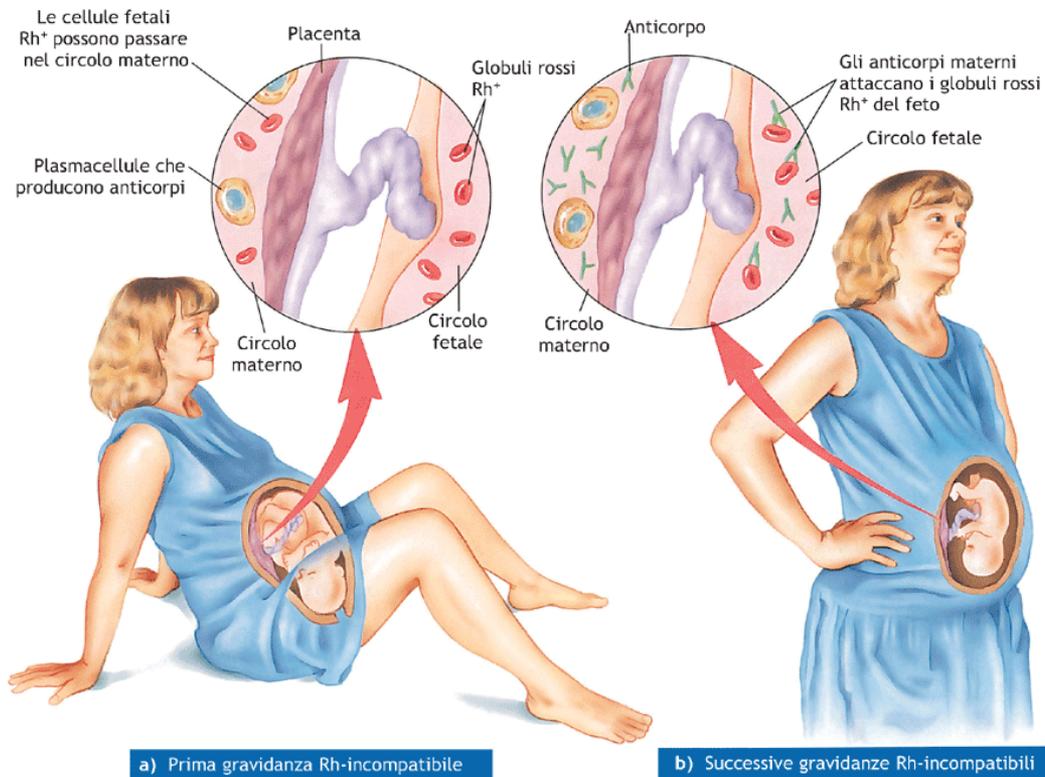


Figura 10.89 Condizione di incompatibilità materno-fetale da Rh. In quest'albero genealogico la situazione risulta tecnicamente rischiosa per la figlia II4.



■ **Figura 10.90** **Gravidanza Rh-incompatibile.** Gli eritrociti fetali con antigene Rh⁺ possono entrare nel circolo materno (in genere durante il parto di un figlio Rh⁺) di una donna Rh⁻. In questo caso la madre produrrà anticorpi anti-Rh che, in successive gravidanze raggiungeranno il circolo fetale di un feto Rh⁺, distruggendo gli eritrociti e quindi producendo emolisi massiva (malattia emolitica del neonato).

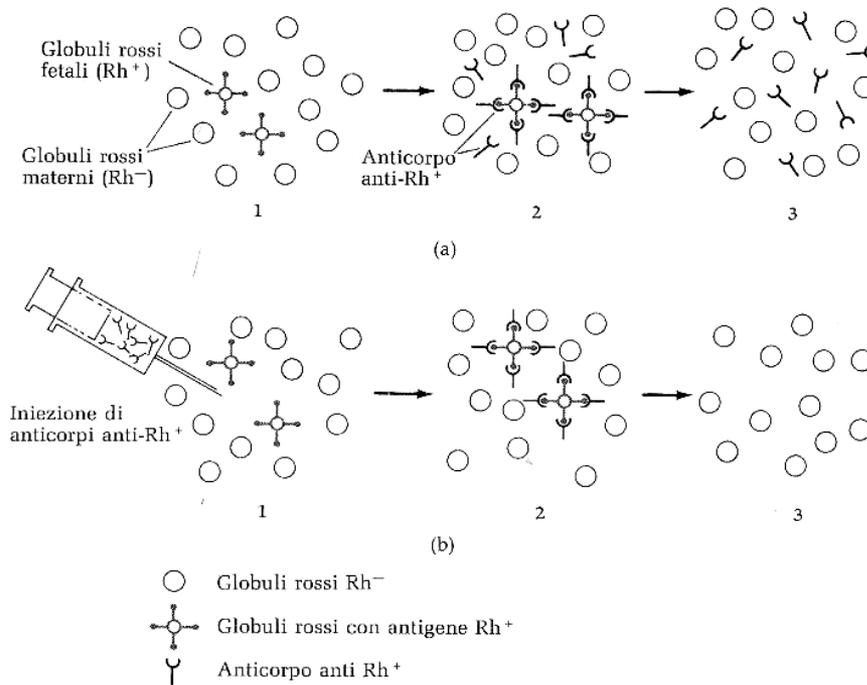


Fig. 13.13. *Trattamento preventivo della malattia emolitica da Rh. (a) In assenza di trattamento. Alcune cellule del feto Rh⁺ penetrano nella circolazione materna (1). Queste cellule stimolano la produzione di anticorpi anti-Rh⁺ e vengono distrutte (2). La produzione degli anticorpi da parte della madre continua (3) e, nella gravidanza successiva, essi possono penetrare la placenta. Se il feto successivo è Rh⁺ gli anticorpi determineranno*

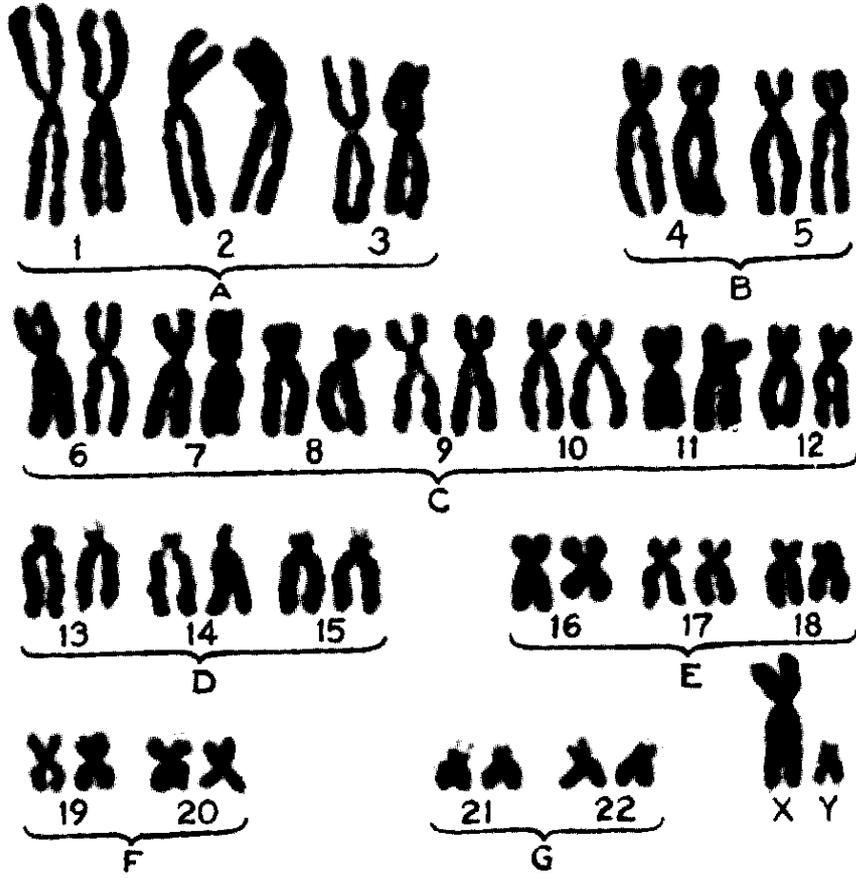
no la malattia emolitica. (b) Trattamento preventivo: nella madre viene iniettato anticorpo anti-Rh⁺ (1) che distrugge le cellule Rh⁺ (2). La distruzione delle cellule avviene prima che queste possano stimolare la produzione di anticorpi da parte della madre. Dopo che l'anticorpo esogeno è stato distrutto il sangue materno è privo di anticorpi propri.

Il Cariotipo Umano

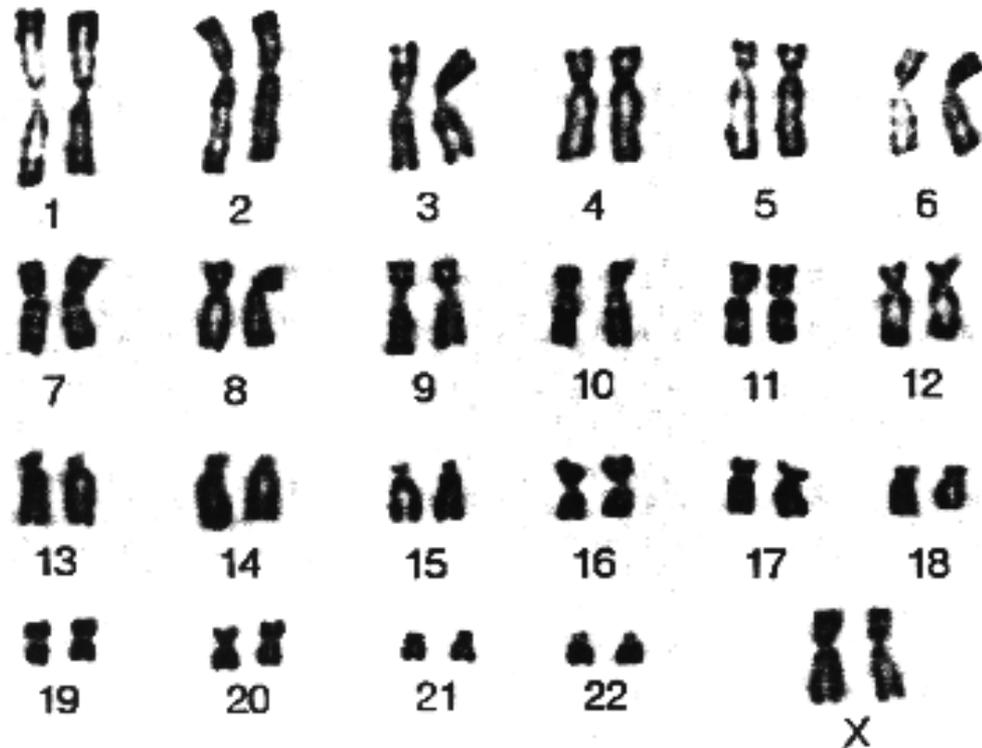
46 cromosomi.

44 autosomi: 22 coppie di cromosomi omologhi

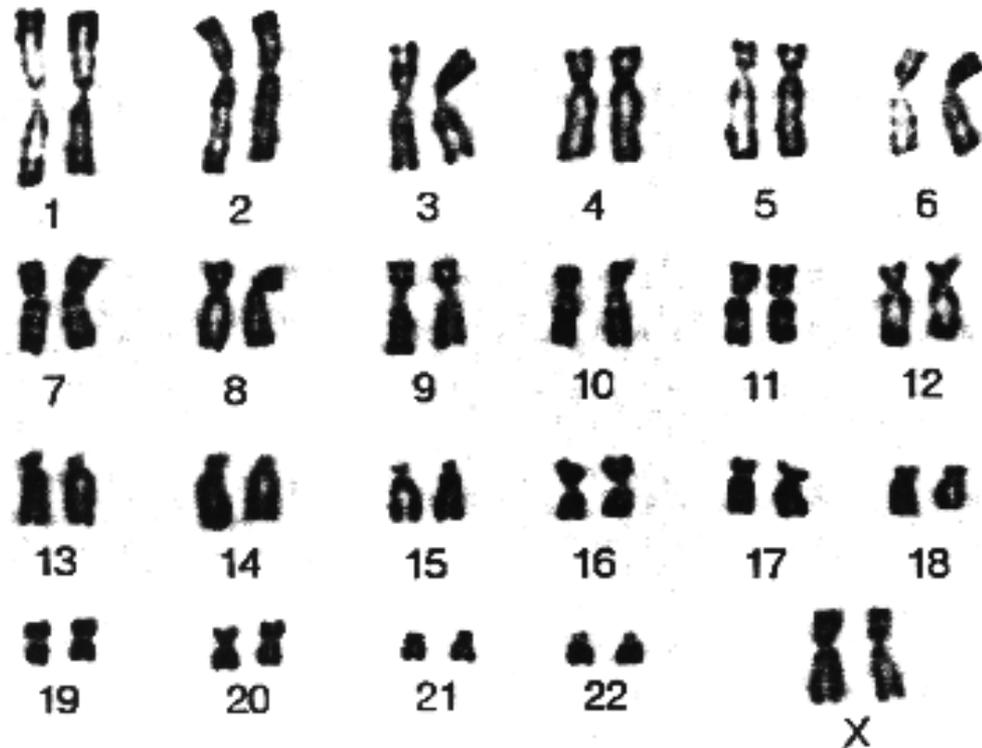
2 cromosomi sessuali



Il cariotipo normale di un maschio



Il cariotipo normale di una femmina



Come si prepara il cariotipo

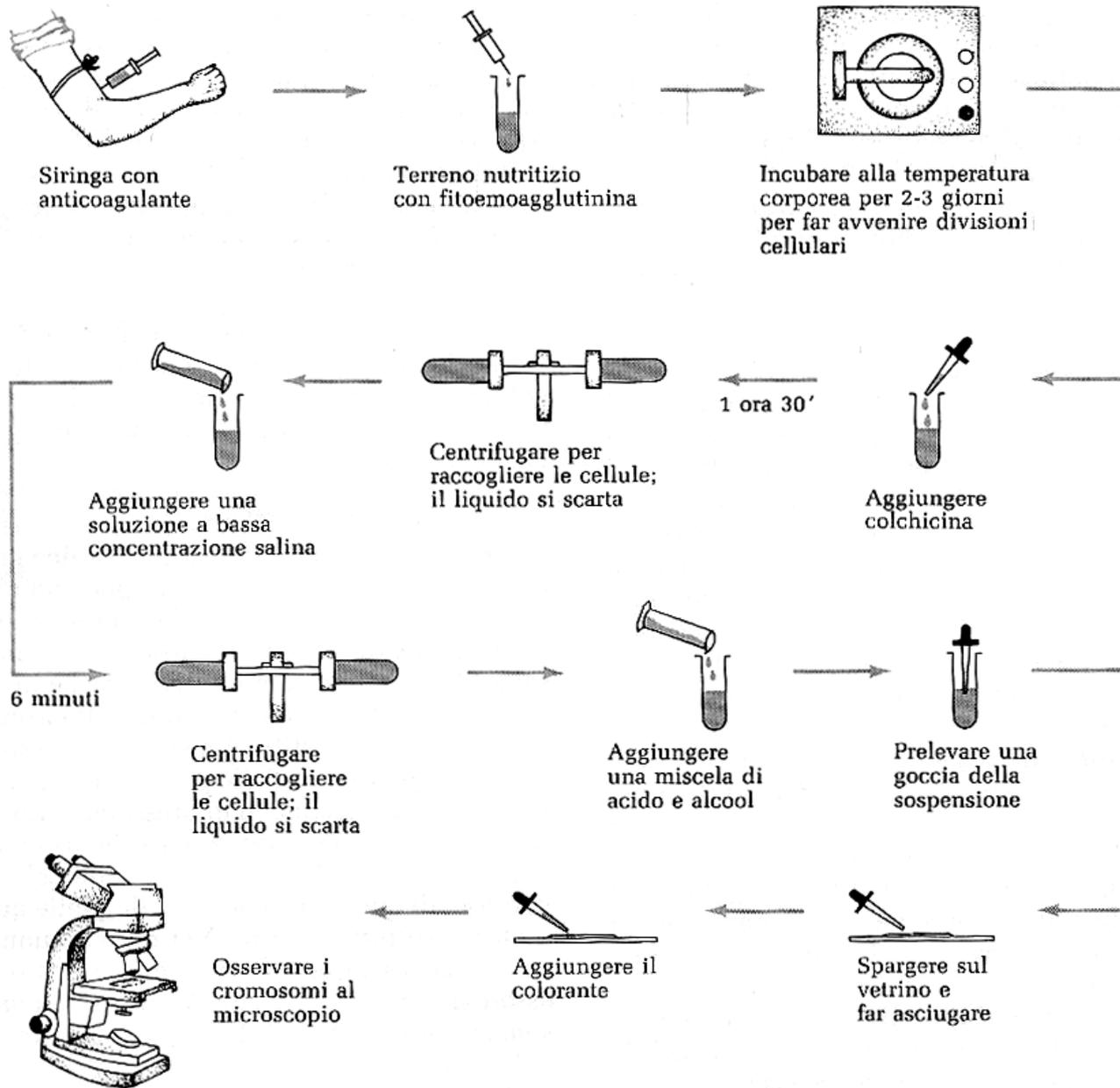
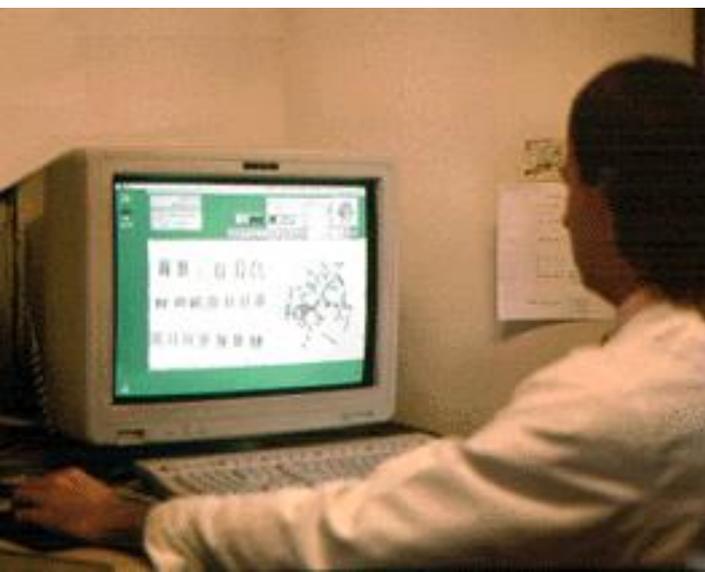
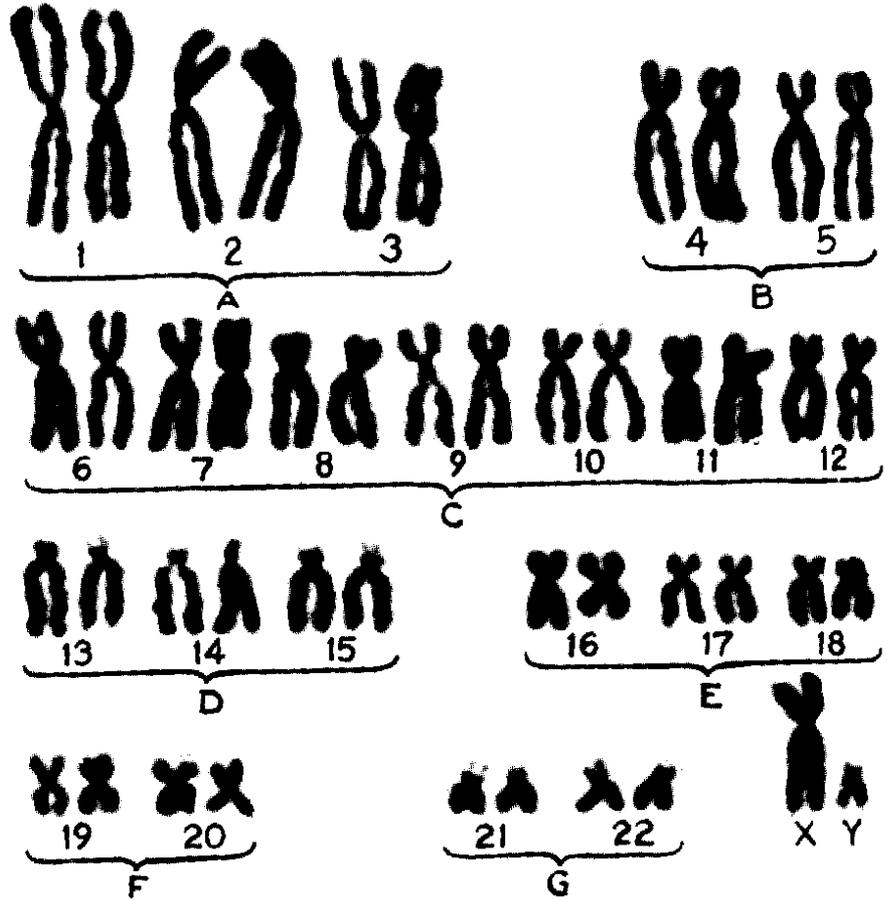


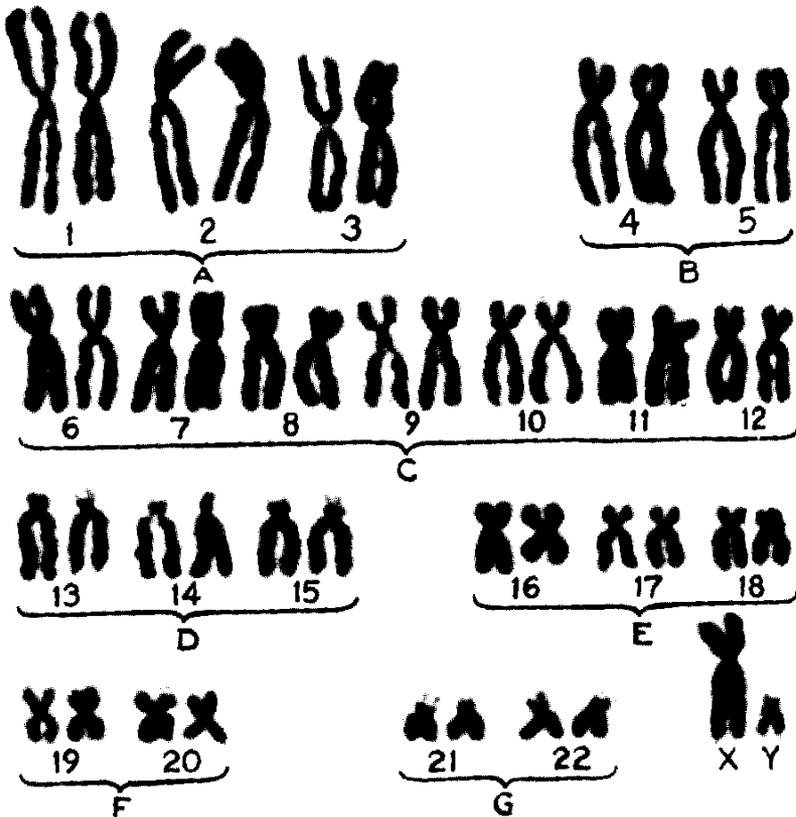
Fig. 2.1. Schema del protocollo sperimentale per visualizzare i cromosomi in metafase mitotica. Si noti la tappa dell'aggiunta di colchicina (per evi-

tare la formazione del fuso) e dell'immersione in soluzione a bassa concentrazione salina per far gonfiare le cellule e disperdere i cromosomi.

Come si prepara il cariotipo



Definizione dei gruppi dei cromosomi umani



Gruppo	Numerazione	Caratteristiche distintive
A	da 1 a 3	Grandi metacentrici
B	4 e 5	Grandi submetacentrici
C	da 6 a 12 più l'X	Medi submetacentrici
D	da 13 a 15	Medi acrocentrici
E	da 16 a 18	Medi submetacentrici, più piccoli del gruppo C
F	19 e 20	Piccoli metacentrici
G	21 e 22 più Y	Piccoli acrocentrici

Anomalie del numero di cromosomi

Il **dosaggio genico** all'interno della cellula è estremamente **importante**: le cellule umane si sono adattate ad un corretto ed armonioso equilibrio delle azioni di geni presenti in doppia copia a causa della omologia fra gli autosomi. Naturalmente **i cromosomi X e Y sono dei casi particolari**, ma il **dosaggio** dei geni legati all'**X** è compensato nei modi previsti dall'ipotesi di **Lyon**, mentre il numero dei geni legati all'**Y** è talmente scarso da non richiedere compensazione.

A causa dell'importanza di un dosaggio adeguato, **un numero troppo elevato o troppo scarso di copie di geni può alterare i normali processi dello sviluppo**, anche se i geni in sovrappiù o assenti non sono mutati. Queste anomalie sono il risultato di di uno squilibrio grossolano del numero e dell'azione dei geni e, secondo una regola generale, maggiore è lo squilibrio e più grave è l'anomalia. **Alcuni squilibri** sono sufficientemente lievi e non hanno pressoché alcun effetto sullo sviluppo ma altri, quelli più estesi, sono **letali**: conducono alla morte dell'embrione o del bambino in tenera età.

Anomalie del numero di cromosomi

Poliploidia e polisomia

Gameti: **aploidi** = 22 autosomi + 1 cromosoma sessuale

Cellule somatiche: **diploidi** = 44 autosomi + 2 cromosomi sessuali

Cellule con 3 corredi aploidi di cromosomi (in totale 69): **triploidi**

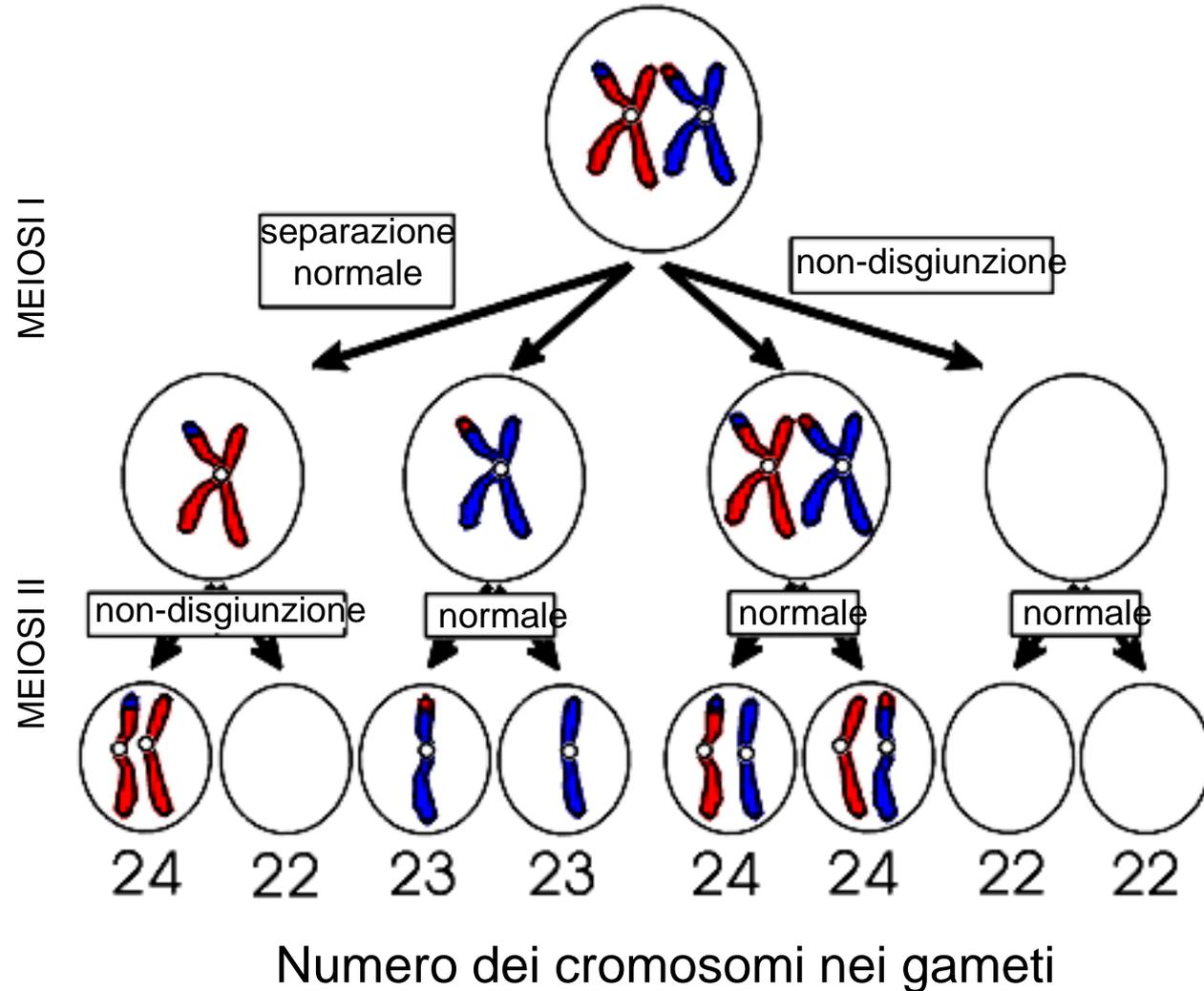
Cellule con 4 corredi aploidi di cromosomi: **tetraploidi**.

Più in generale le cellule che portano più di due corredi aploidi di cromosomi sono dette **poliploidi**.

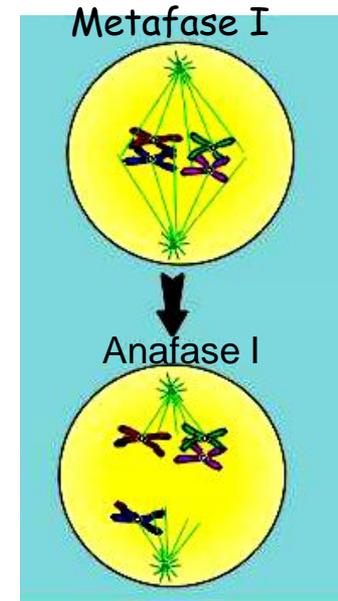
Un secondo tipo di anomalia del numero dei cromosomi riguarda singole unità anziché interi corredi. Una cellula somatica normale è diploide ed ha 46 cromosomi mentre una cellula in cui un cromosoma è mancante ne ha 45 ed è detta **monosomica** per il cromosoma presente in singola anziché in doppia copia. Ad esempio una femmina con un solo cromosoma X anziché due (XO) è monosomica per l'X. Al contrario le cellule che hanno 3 copie di un cromosoma anziché 2 sono dette **trisomiche** per quel cromosoma. Ad esempio un individuo con 3 copie del cromosoma 21 è un trisomico 21, cioè ha una trisomia del cromosoma 21. Più in generale un individuo è **polisomico** quando ha più di 2 copie di un dato cromosoma. Nell'uomo l'unico livello significativo di polisomia degli autosomi è la trisomia mentre per i cromosomi sessuali si possono riscontrare anche livelli superiori di polisomia quali la **tetrasomia** (4 copie di uno dei cromosomi sessuali).

Anomalie del numero di cromosomi

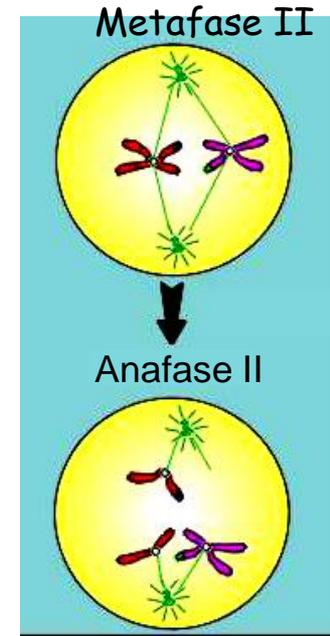
Non-disgiunzione primaria durante la meiosi



Non-disgiunzione nella meiosi I



Non-disgiunzione nella meiosi II



Anomalie del numero dei cromosomi sessuali

La non-disgiunzione secondaria

N.B.: da non confondere con la non-disgiunzione primaria in seconda divisione meiotica; la non disgiunzione secondaria è un evento comune che riguarda cromosomi presenti in tripla dose mentre la non-disgiunzione primaria in seconda divisione meiotica è un evento raro che si verifica in individui normali.

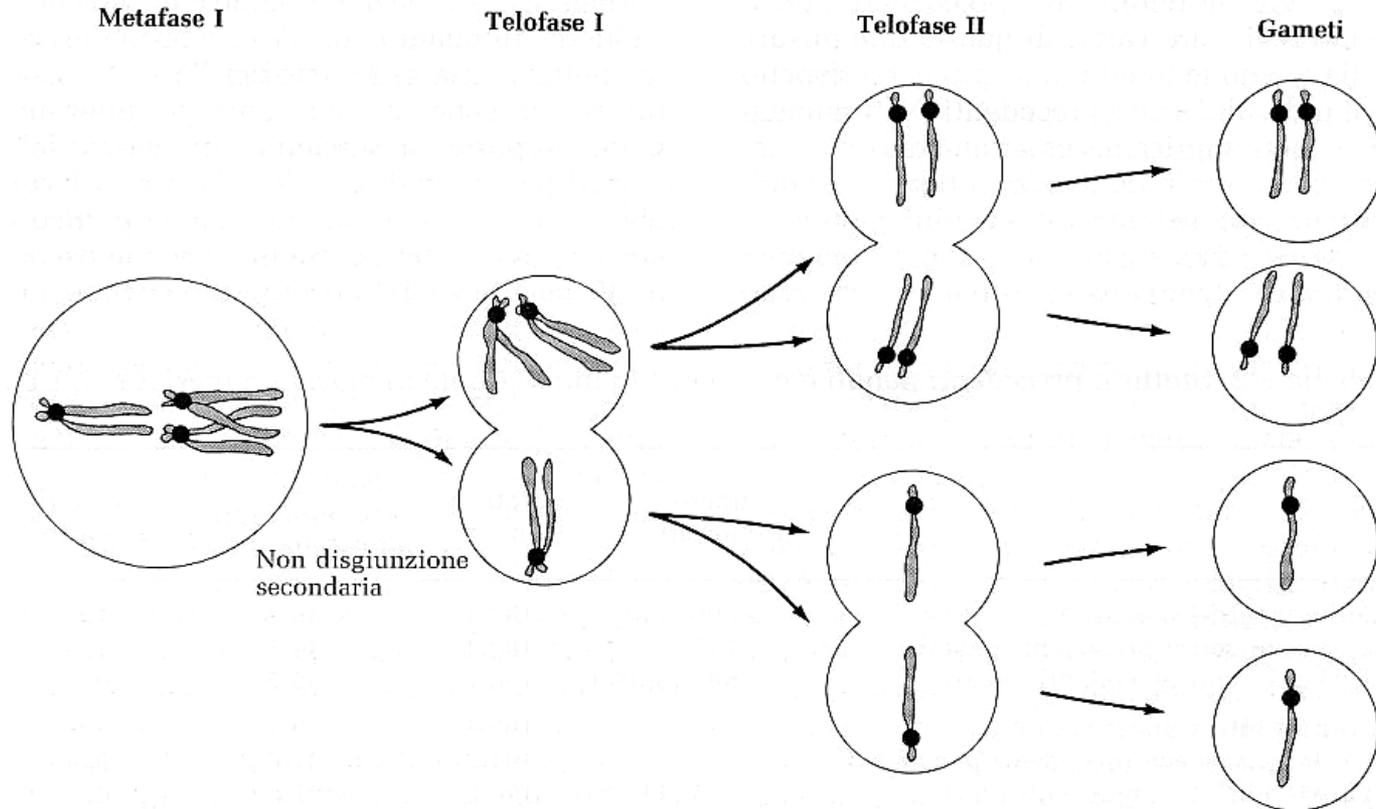


Fig. 6.3. Per non-disgiunzione secondaria si intende la produzione di gameti anormali negli individui trisomici. Come mostrato, la meiosi in un

individuo trisomico produce due gameti con una copia sovrannumeraria del cromosoma in questione e due gameti normali.

Anomalie del numero di cromosomi

Anomalie dei cromosomi sessuali

Secondo una regola generale della genetica umana *le anomalie cromosomiche degli autosomi hanno effetti fenotipici più gravi di quelle dei cromosomi sessuali.*

1. Un dosaggio anomalo del cromosoma Y ha un effetto più moderato di un autosoma perché sull'Y sono localizzati pochi geni oltre a quelli per lo sviluppo della mascolinità.
2. Le conseguenze di un numero anormale di cromosomi X sono rese meno drastiche rispetto ad un numero anomalo di autosomi dalla compensazione del dosaggio e dal principio del singolo X attivo.

In realtà la trisomia dei cromosomi sessuali in alcuni casi può avere effetti fenotipici così lievi che gli individui affetti possono condurre una vita pressoché normale. D'altra parte la **monosomia** del cromosoma X è molto **grave** e quella per il cromosoma Y è **sempre letale** (incompatibile con la vita) ad uno stadio embrionale molto precoce.

Questo contrasto fra gli effetti lievi della trisomia e quelli drastici della monosomia ci conduce ad un'altra generalizzazione: *un aumento della dose di uno o più geni ha effetti fenotipici meno gravi rispetto ad una diminuzione della dose degli stessi geni.*

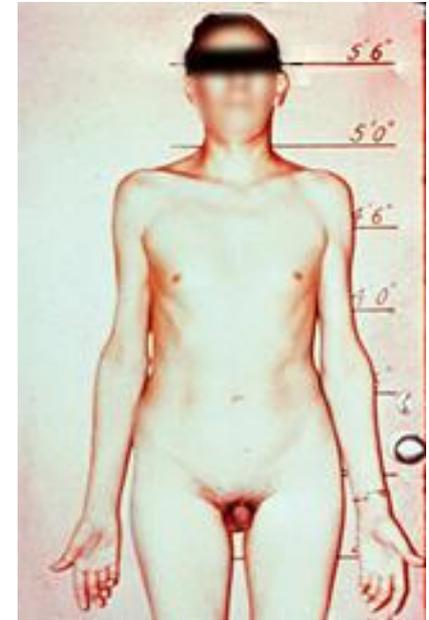
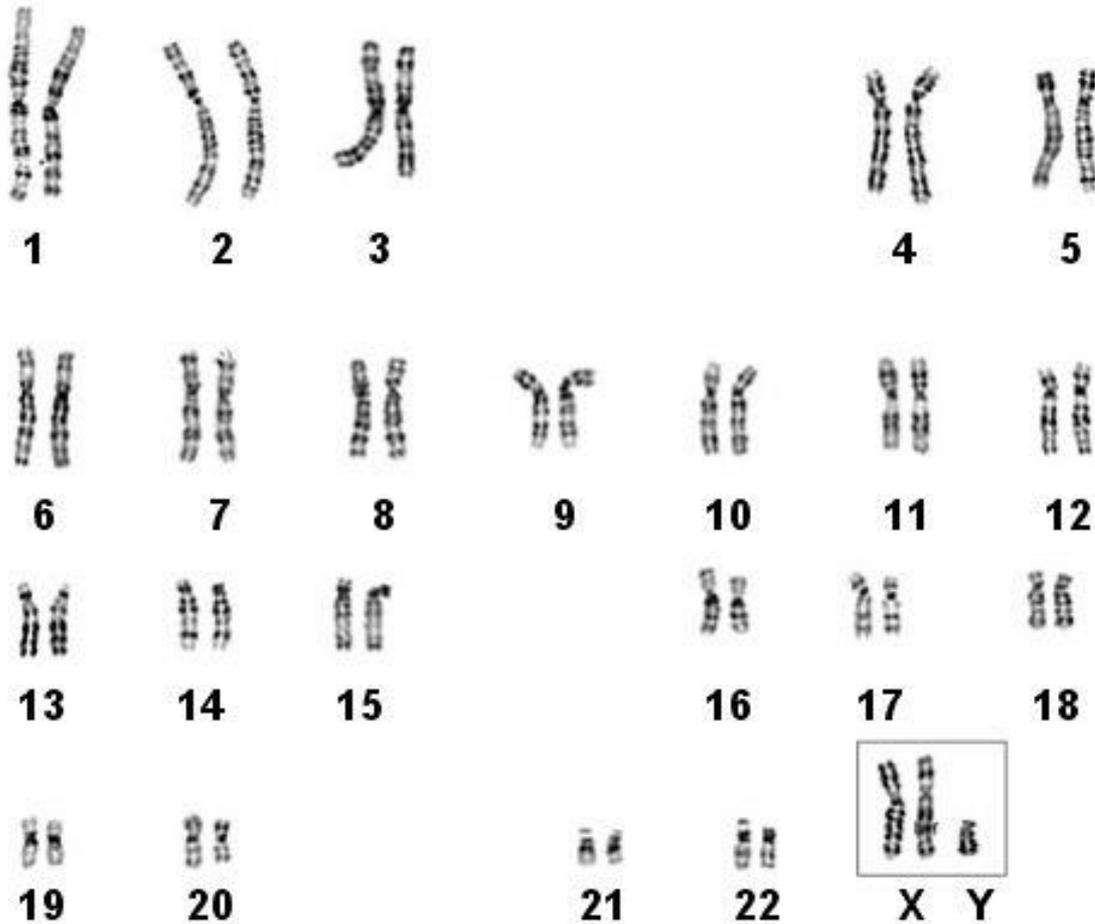
Anomalie del numero dei cromosomi sessuali

Alcune fra le anomalie dei cromosomi sessuali più frequenti nell'uomo

Anomalia	Nome della sindrome	Frequenza approssimativa	Sintomi principali
XXX (47,XXX)	Trisomia X	1 ogni 950 neonate femmine	Femmina; fisicamente pressoché normale; tendenza al ritardo mentale; fertile.
XYY (47,XYY)	Sindrome dell'extra Y	1 ogni 950 neonati maschi	Maschio; tendenza alla statura alta; effetti comportamentali incerti; fertile.
XXY (47,XXY)	Sindrome di Klinefelter	1 ogni 1000 neonati maschi	Maschio; tendenza alla statura alta; mancanza di maturazione sessuale, a volte c'è un certo ingrossamento del petto; associato frequentemente a ritardo mentale; sterile.
XO (45,X)	Sindrome di Turner	1 ogni 5000 neonate femmine	Femmina; statura bassa; a volte c'è un rialzamento della pelle fra il collo e le spalle; mancanza di maturazione sessuale; capacità mentali pressoché normali; sterile

Anomalie del numero dei cromosomi sessuali

Sindrome di Klinefelter: XXY



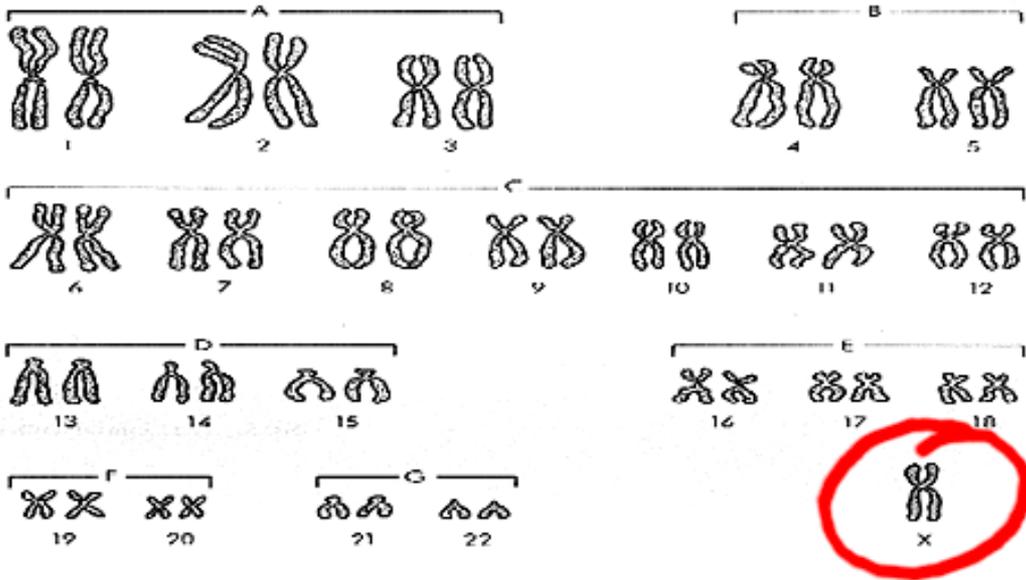
1 ogni 1000

Maschio; tendenza alla statura alta; mancanza di maturazione sessuale, a volte c'è un certo ingrossamento del petto; associato frequentemente a ritardo mentale sterile.

Nei 2/3 dei casi la condizione è il risultato di una non-disgiunzione primaria nella madre che ha prodotto un uovo con due cromosomi X.

Anomalie del numero dei cromosomi sessuali

Sindrome di Turner: XO



Femmina; statura bassa; a volte c'è un rialzamento della pelle fra il collo e le spalle; mancanza di maturazione sessuale; capacità mentali pressoché normali; sterile



1 ogni 5000

Dal 15 al 20% dei feti che vanno incontro ad aborto spontaneo e che hanno una anomalia cromosomica rilevabile sono XO e ciò fanno di questa condizione una delle più comuni anomalie cromosomiche fra gli aborti spontanei. Più dell'1% di tutte le gravidanze accertate riguardano embrioni con assetto cromosomico XO e circa i 3/4 di queste sono provocate da spermatozoi anomali privi del cromosoma sessuale.

Anomalie del numero dei cromosomi autosomi

La maggior parte delle trisomie degli autosomi e la totalità delle monosomie sono talmente gravi da non essere compatibili con la vita. Il risultato dell'anomalia può essere il mancato impianto della blastocisti, l'aborto spontaneo o un embrione con grossolane malformazioni.

Cionondimeno esistono tre trisomie degli autosomi che sono compatibili con lo sviluppo embrionale e con la nascita, che danno però origine a bambini gravemente anormali.

Le più frequenti trisomie cromosomiche tra i nati vivi.

Trisomia	Nome della sindrome	Frequenza approssimativa
13 (47, + 13)	S. di Patau	1 su 5.000
18 (47, + 18)	S. di Edwards	1 su 6.500
21 (47, + 21)	S. di Down	1 su 750

Anomalie del numero dei cromosomi autosomi

La sindrome di Down: trisomia 21

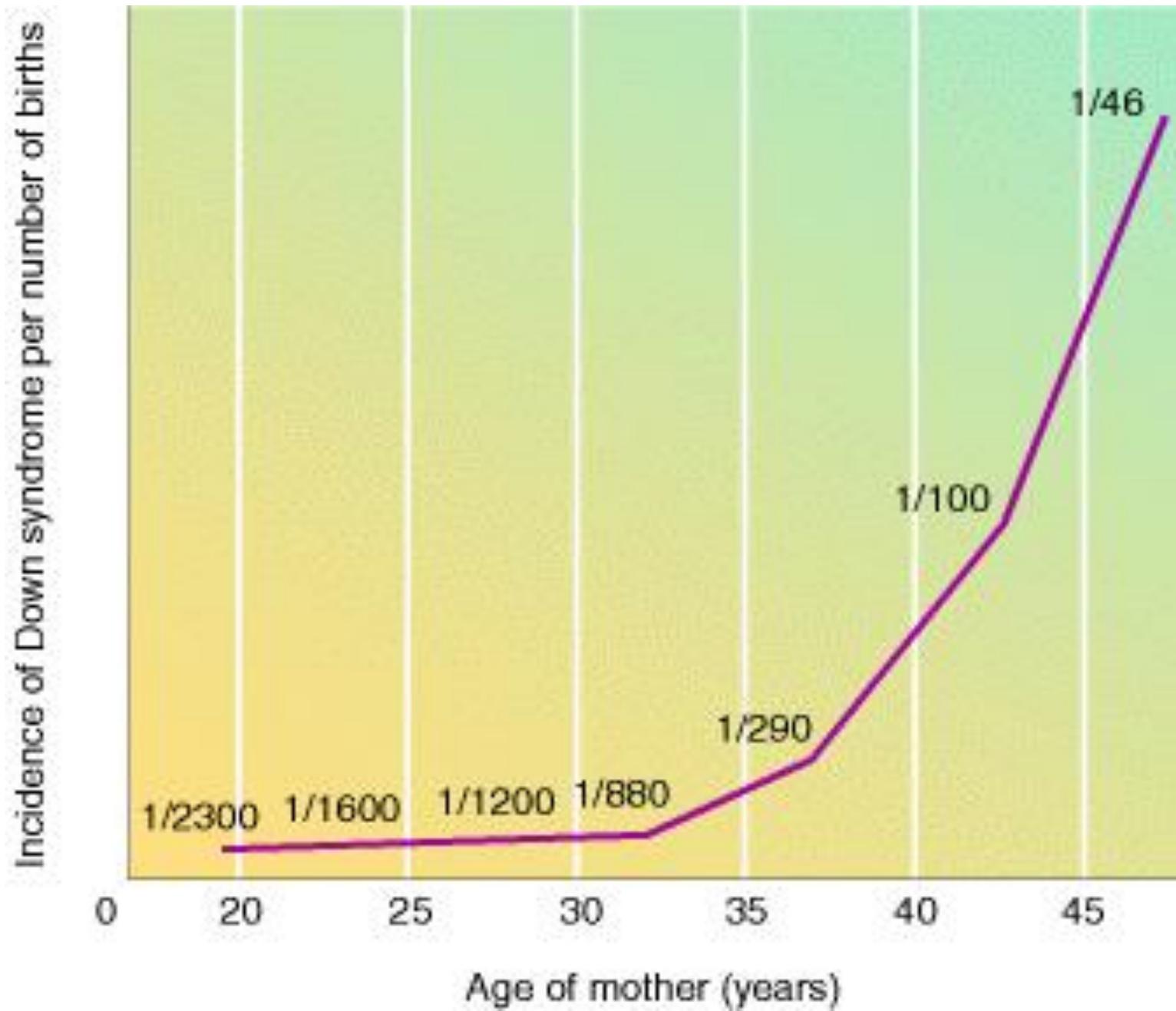
1 su 750

Nel 97% dei casi i bambini trisomici sono il prodotto di una non-disgiunzione primaria che ha generato un gamete con due copie del cromosoma 21. Nel 3% uno dei genitori, anche se fenotipicamente normale, è portatore di una mutazione cromosomica che conferisce un alto rischio di trisomia 21 per il figlio.



Costantemente ritardati; statura bassa per difetti nella maturazione dell'apparato scheletrico e il tono muscolare è scarso e conferisce un aspetto facciale caratteristico ai bambini più grandi e adulti; il 40% ha difetti cardiaci; molti presentano l'epicanto, una piccola plica cutanea nell'angolo interno dell'occhio vicino alle ghiandole lacrimali che dà all'occhio stesso un aspetto orientaloide da cui deriva il nome volgare della malattia: mongolismo.

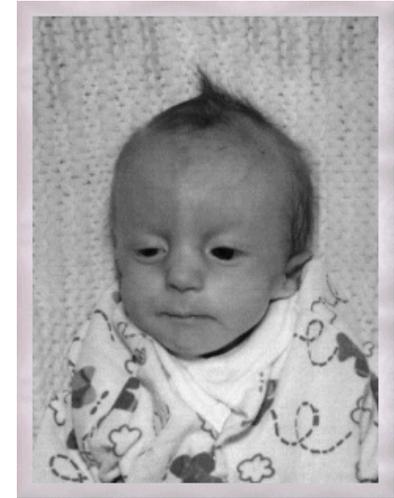
Sindrome di Down ed età materna



Anomalie del numero dei cromosomi autosomi

La sindrome di Edwards: trisomia 18

1 su 6.500

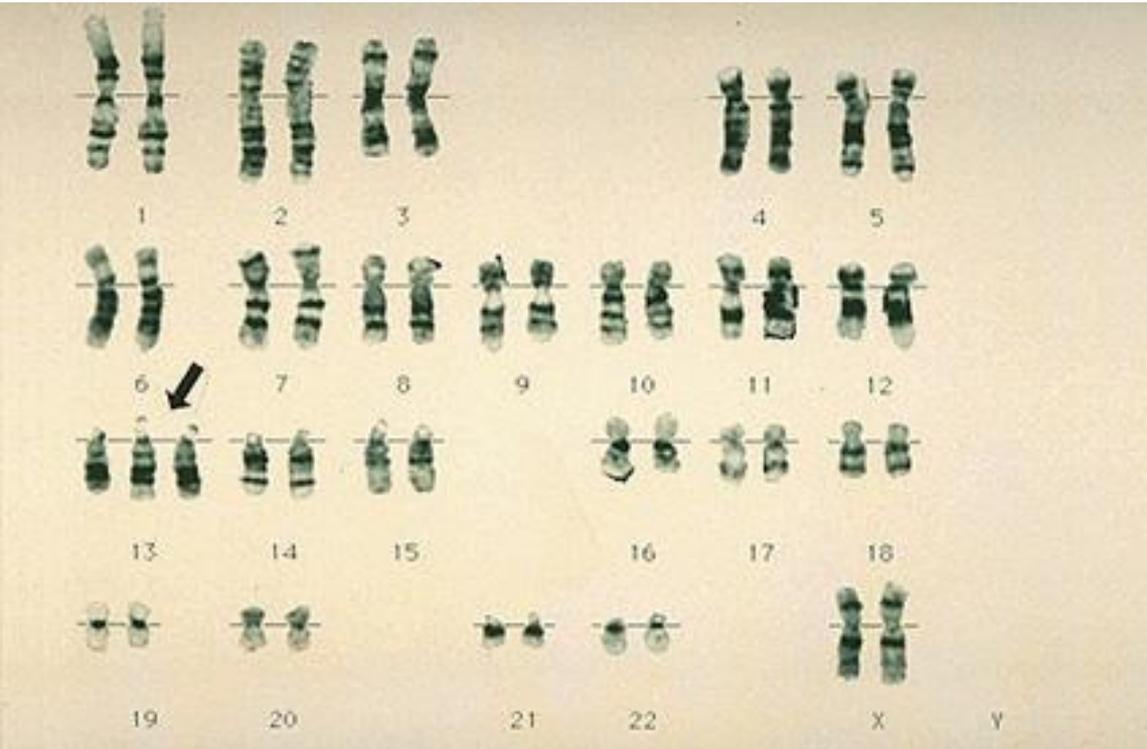


Ritardo fisico e mentale; cranio allungato e orecchie malformate con un basso punto di inserzione; mandibola e cavità orale piccole; dita in posizione anormale con il secondo che si sovrappone al terzo; tutti con difetti cardiaci. Il 65% degli affetti è femmina, probabilmente perché i maschi vanno incontro con maggiore facilità all'aborto spontaneo.

Anomalie del numero dei cromosomi autosomi

La sindrome di Patau: trisomia 13

1 su 5.000



Gravemente ritardati mentalmente e fisicamente; cranio e occhi piccoli; orecchie malformate e spesso sordità; nella maggioranza dei casi vi è labioschisi o palatoschisi; dita malformate e sovranumerarie; nel 70% vi sono difetti cardiaci. Rapporto sessi 1:1. Sopravvivenza 3-4 mesi.

Anomalie del numero dei cromosomi

L'amniocentesi

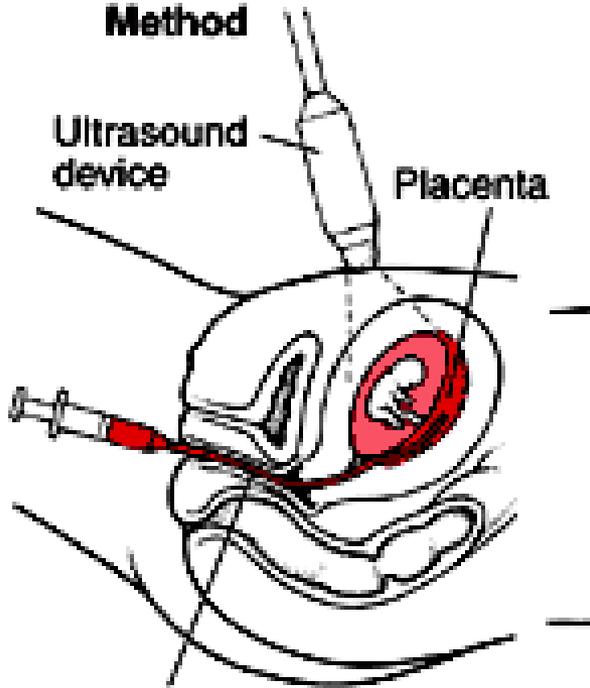


La membrana più interna che avvolge feto si chiama amnios ed è piena di fluido acquoso chiaro che ripara il feto stesso da sollecitazioni meccaniche e impedisce l'adesione di quelle parti del feto che possono accidentalmente venire a contatto. Nel liquido amniotico si trovano cellule che sono desquamate dal feto o dalla membrana dell'amnios e che, naturalmente, sono geneticamente identiche a quelle del feto. Tra la 14^a e la 16^a settimana l'amnios diventa sufficientemente grande da consentire l'inserimento di un ago e il prelievo di un campione di liquido amniotico attraverso l'addome materno.

Prelievo dei villi coriali

1

Transcervical Method



Ultrasound device

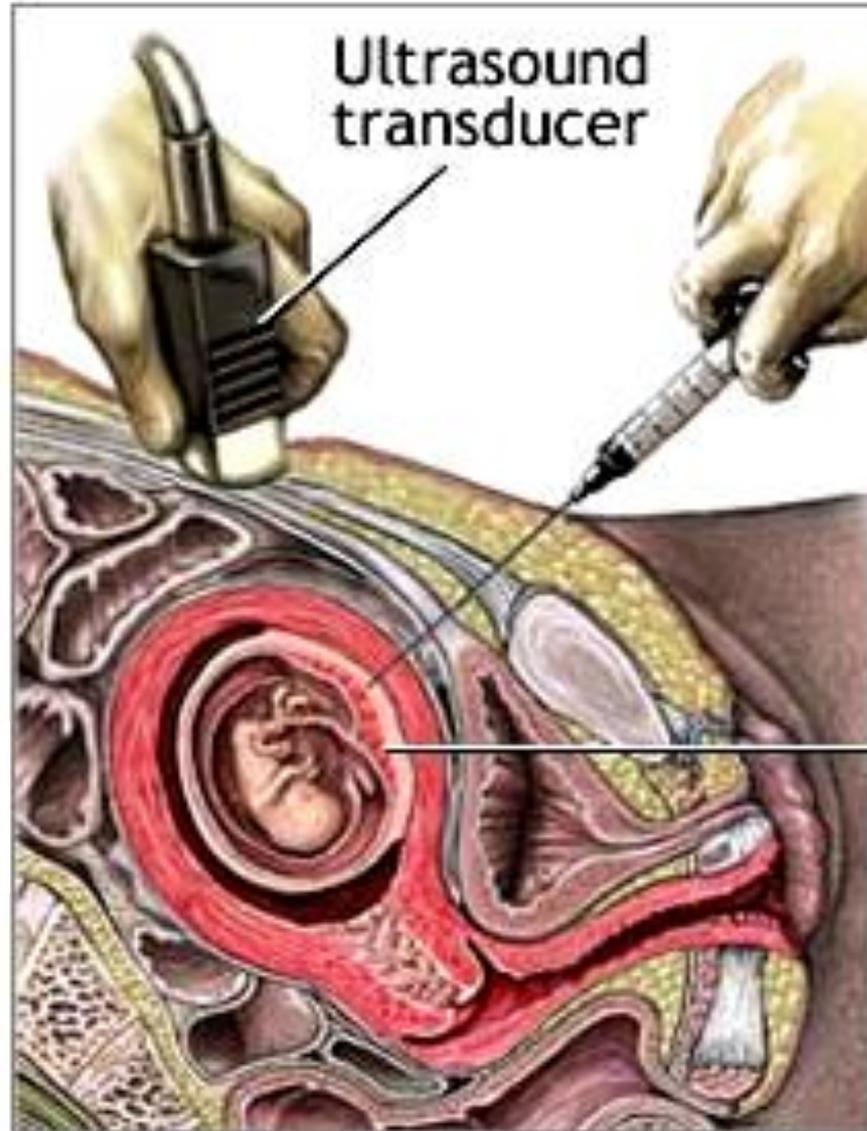
Placenta

Catheter

Raccolta di villi coriali

2

Transabdominal procedure



Ultrasound transducer

Placenta

Anomalie del numero dei cromosomi

Numero e tipo delle anomalie cromosomiche negli aborti spontanei e nei nati vivi rapportati a 100.000 gravidanze accertate

		100.000 gravidanze accertate	
		15.000 aborti spontanei 7.500 anomalie cromosomiche	85.000 nati vivi 550 anomalie cromosomiche
Trisomia			
A:	{ 1	0	0
	{ 2	159	0
	{ 3	53	0
B:	{ 4	95	0
	{ 5	0	0
C:	6-12	561	0
D:	{ 13	128	17
	{ 14	275	0
	{ 15	318	0
E:	{ 16	1229	0
	{ 17	10	0
	{ 18	223	13
F:	19-20	52	0
G:	{ 21	350	113
	{ 22	425	0
Cromosomi sessuali			
	XYY	4	46
	XXY	4	44
	XO	1350	8
	XXX	21	44
Traslocazioni			
	Bilanciate	14	164
	Non bilanciate		52
		225	
Poliploidia			
	Triploidia	1275	0
	Tetraploidia	450	0
Altro (mosaici, ecc.)		280	49
TOTALE		7.500	550

Anomalie della struttura dei cromosomi

I cromosomi anomali si originano per rotture cromosomiche: infatti i cromosomi sono strutture relativamente fragili che, talvolta, si rompono spontaneamente. L'incidenza delle rotture viene notevolmente aumentata dall'esposizione dei cromosomi stessi ad una grande varietà di agenti, fra cui i raggi X ed alcuni composti chimici. Gli effetti di questi agenti sono particolarmente accentuati nelle cellule in divisione, come ad esempio le cellule embrionali. I cromosomi rotti tendono a subire il processo della riparazione: le estremità rotte si comportano come se fossero adesive (si avvicinano e si fondono) e nel processo intervengono forse enzimi particolari che facilitano la riparazione. Nella maggioranza dei casi i cromosomi rotti si riparano correttamente e le estremità si ricongiungono al punto di frattura. Altre volte il processo non è corretto e da ciò deriva un'anomalia cromosomica.

I tipi di anomalie più importanti sono 4:

delezioni: un segmento di cromosoma si rompe e viene perduto

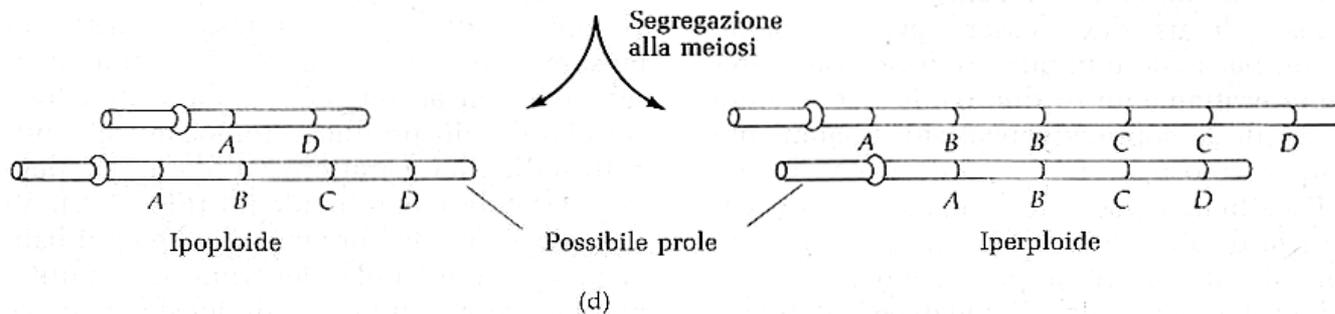
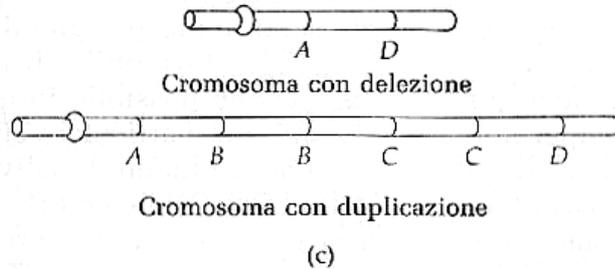
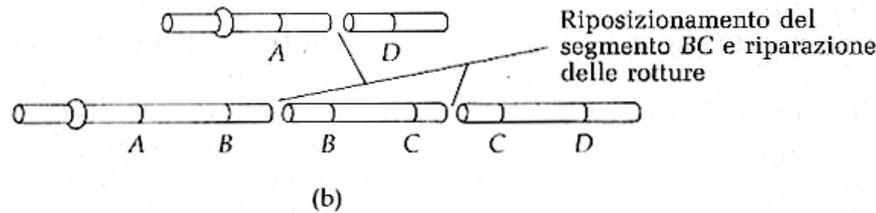
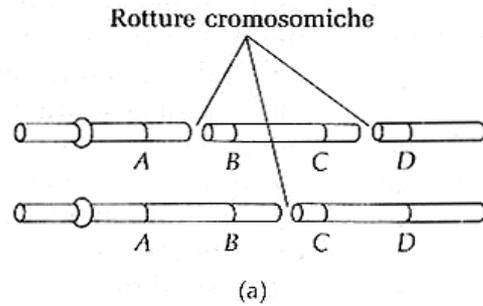
duplicazioni: un segmento cromosomico è rappresentato un n° di volte maggiore del normale

inversioni: un segmento di cromosoma è inserito in modo invertito

traslocazioni: due cromosomi non omologhi si rompono e i loro tratti terminali vengono scambiati

Anomalie della struttura dei cromosomi

Duplicazioni e delezioni



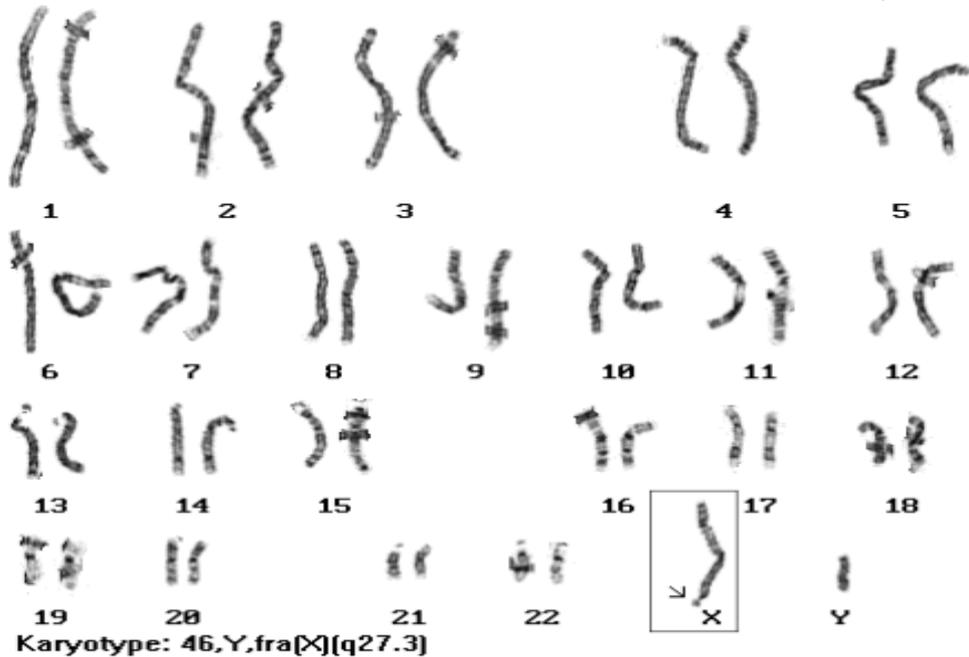
Nelle figura sono visibili due cromosomi omologhi rotti in tre punti.

Fig. 7.1. Origine di un cromosoma portatore di una delezione (c in alto) e di uno portatore di una duplicazione (c in basso) a partire dalle rotture

cromosomiche riportate in a e dalla saldatura mostrata in b. (d) Possibile prole del soggetto con il corredo riportato in c.

Anomalie della struttura dei cromosomi

Duplicazioni

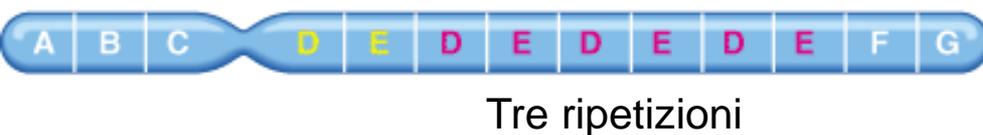
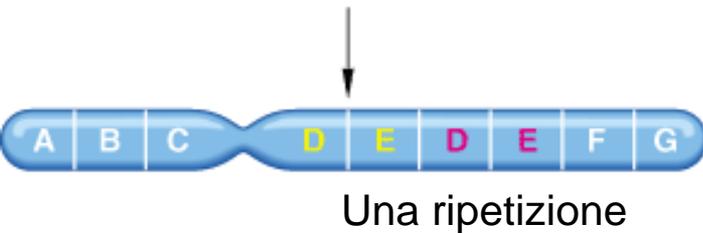


Sindrome dell'X fragile.

Rappresenta la forma più comune di ritardo mentale. La maggior parte delle persone normali hanno 29 "ripetizioni" alla fine del cromosoma X ma quelle affette dalla sindrome dell'X fragile ne hanno fino a 700 dovute alle duplicazioni.

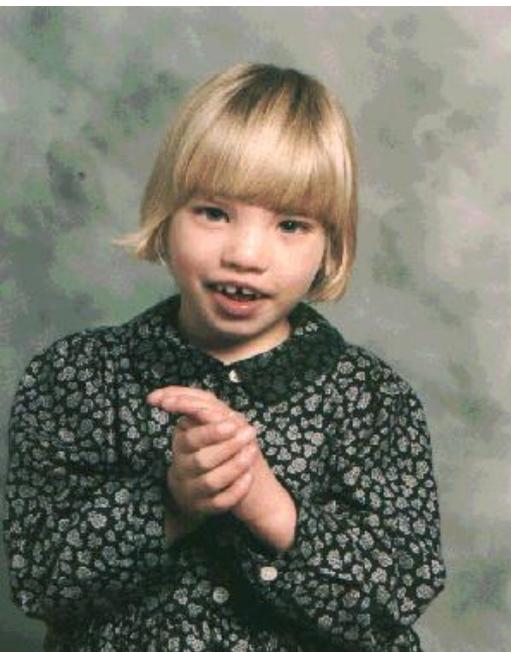
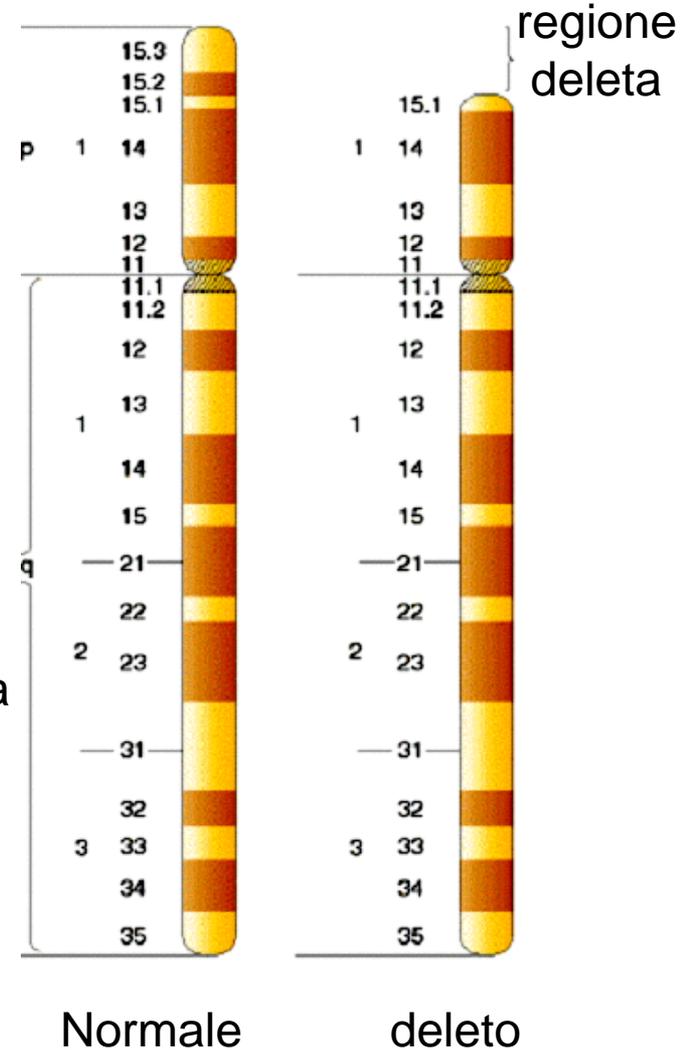
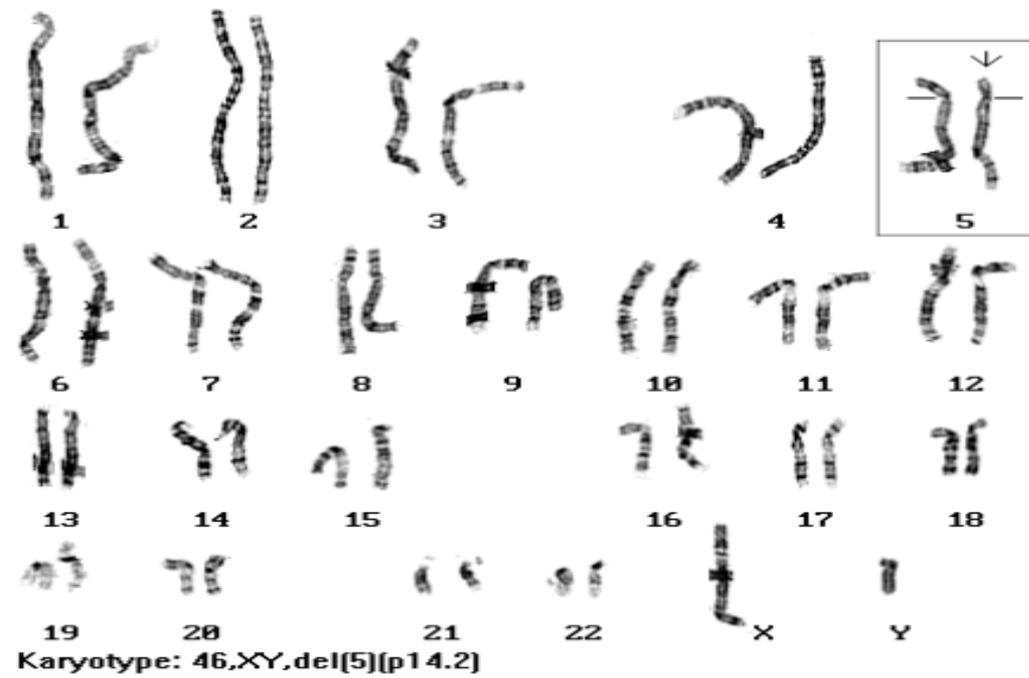
Maschi affetti 1 : 1.500

Femmine affette 1 : 2.500



Anomalie della struttura dei cromosomi Delezioni

Sindrome di Lejeune o cri du chat (miagolio del gatto). Delezione del cromosoma 5.



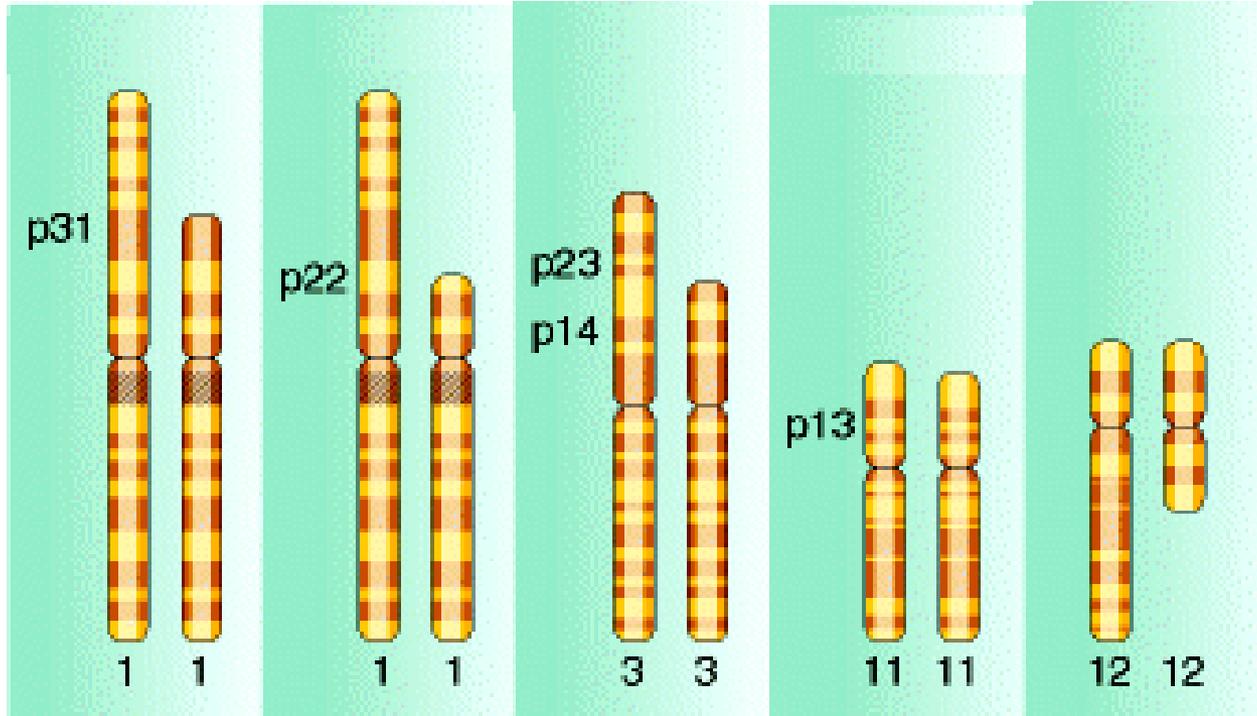
Il pianto del bambino affetto somiglia al miagolio di un gatto a causa di una malformazione alla laringe.

Gli affetti sono in maggioranza di sesso femminile, probabilmente a causa di una maggiore mortalità dei maschi affetti. Gli affetti sono ritardati fisicamente e mentalmente, difetti cardiaci, cranio piccolo con orecchie malformate, strabismo ed altre anomalie. La condizione è molto

Anomalie della struttura dei cromosomi

Delezioni

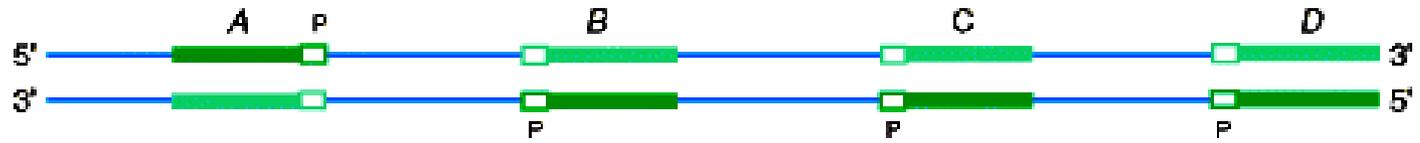
Neuroblastoma Tumore del polmone a cellule piccole Tumore di Wilms Tumore del testicolo



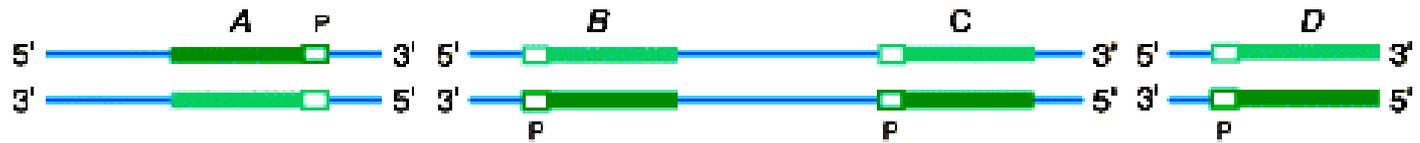
Anomalie della struttura dei cromosomi

Inversioni

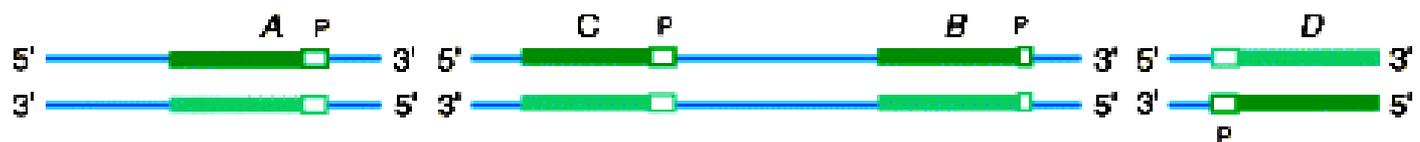
Sequenza normale



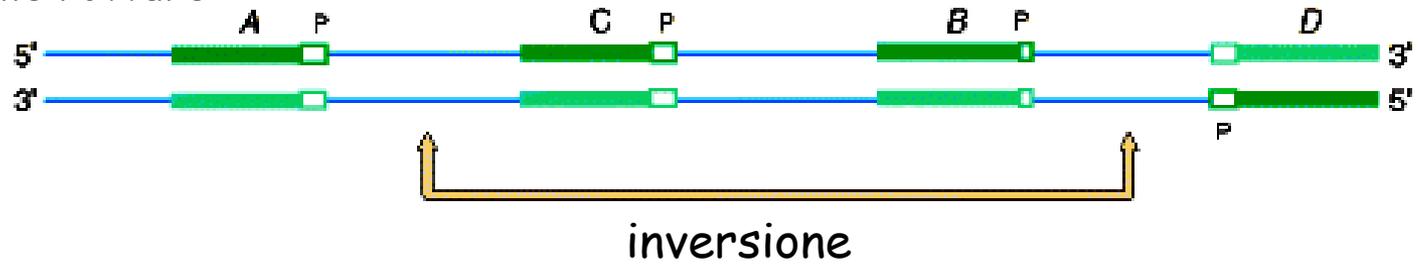
Rottura nel DNA



Allineamento invertito



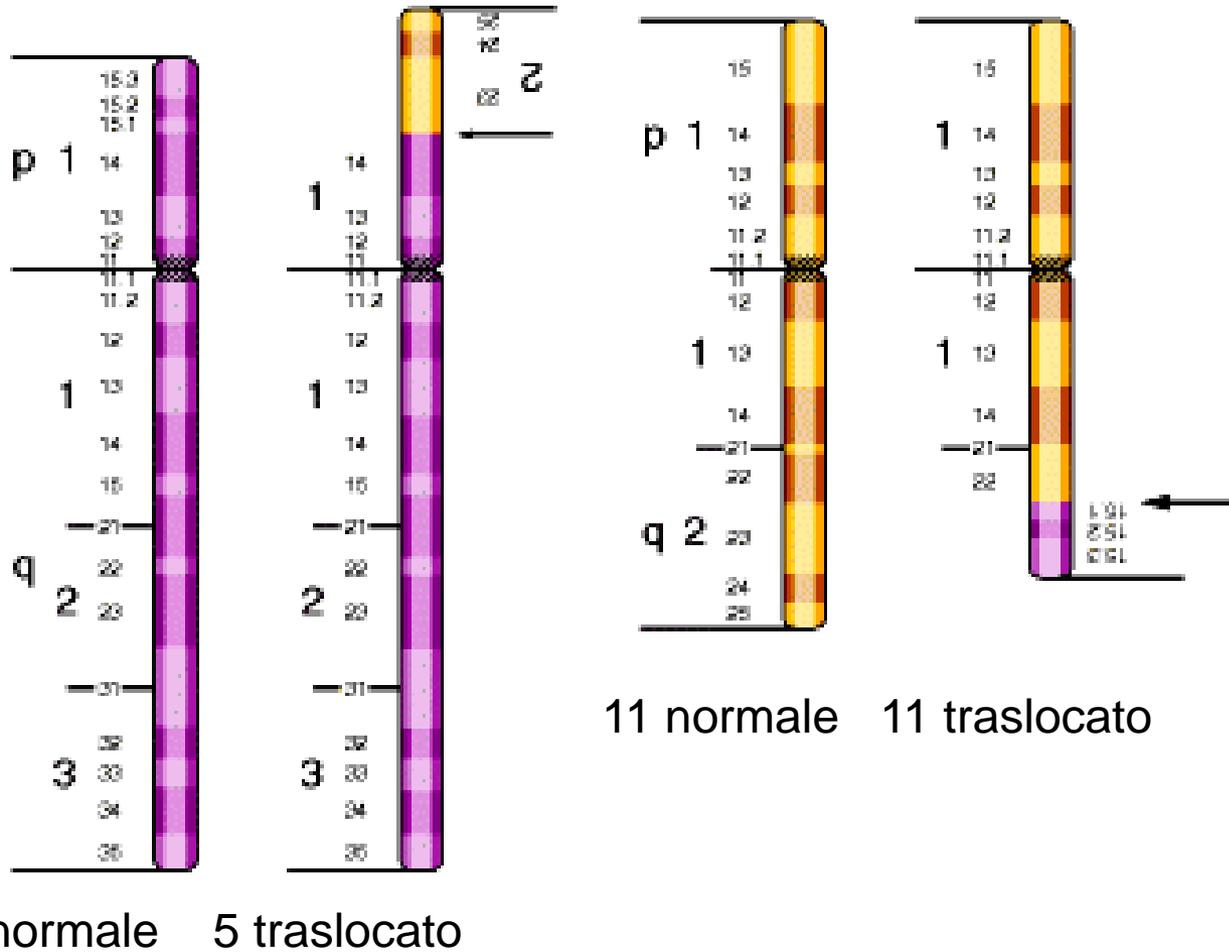
Legame delle rotture



Anomalie della struttura dei cromosomi

Traslocazioni

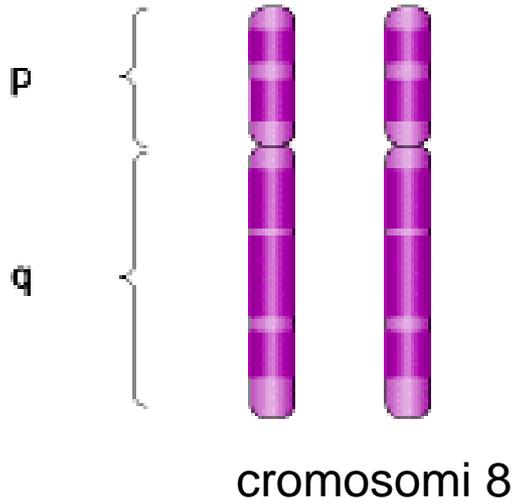
5p15; 11q23



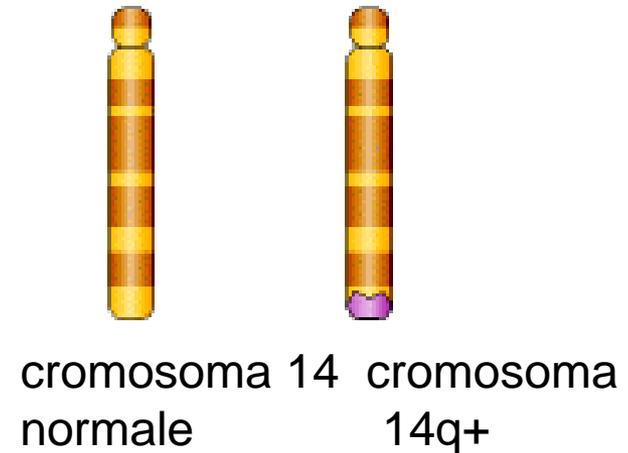
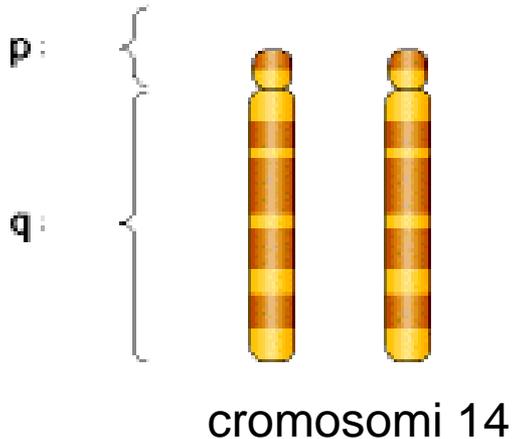
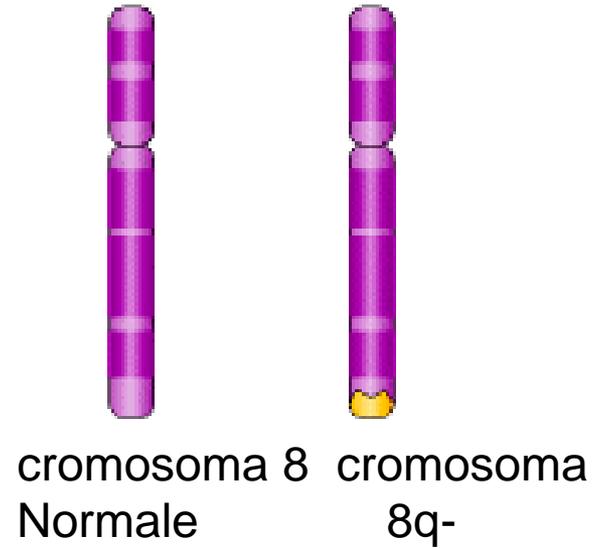
Anomalie della struttura dei cromosomi

Traslocazioni: Linfoma di Burkitt

Omozigote per i cromosomi normali



Eterozigote per la traslocazione



Le Mutazioni

Nella genetica vi sono tre processi fondamentali:

1. Trasmissione genica: modo in cui i geni vengono passati da una generazione all'altra, regolata dalle leggi di Mendel.
2. Espressione genica: processo mediante il quale i geni esercitano il loro effetto su cellule e organismi.
3. La mutazione: cambiamenti ereditari del materiale genetico.

Le Mutazioni

1. Mutazioni somatiche: non vengono trasmesse alla progenie (gli individui in cui si verifica una mutazione somatica sono mosaici: es colore degli occhi, colore dei capelli, della pelle).
2. Mutazioni germinali: vengono trasmesse alla progenie (le più importanti in genetica).

Le Mutazioni

Mutazioni di senso (missense)

Anemia falciforme: il gene della β globina presenta una mutazione puntiforme nel 6° codone (mutazione β^S).

(a)	Tipo di emoglobina	Sequenza amminoacidica e sequenza dei nucleotidi del DNA
A		<p style="text-align: right;">GAG: acido glutammico</p> <p style="text-align: center;">- P r o - G l u - G l u - - C C T - G A G - G A G -</p> <p style="text-align: center;">Sito Mst II</p> <p style="text-align: right;">Mutazione $\left(\frac{T}{A}\right) \rightarrow \left(\frac{A}{T}\right)$ (trasversione)</p>
S		<p style="text-align: right;">GTG: valina</p> <p style="text-align: center;">- P r o - V a l - G l u - - C C T - G T G - G A G -</p>

Le sostituzioni di basi in cui una purina (A o G) viene sostituita da una pirimidina (T o C) → **TRASVERSIONI**

Le sostituzioni di una purina con purina o pirimidina con pirimidina → **TRANSIZIONI**

Le Mutazioni

Mutazioni di senso (missense)

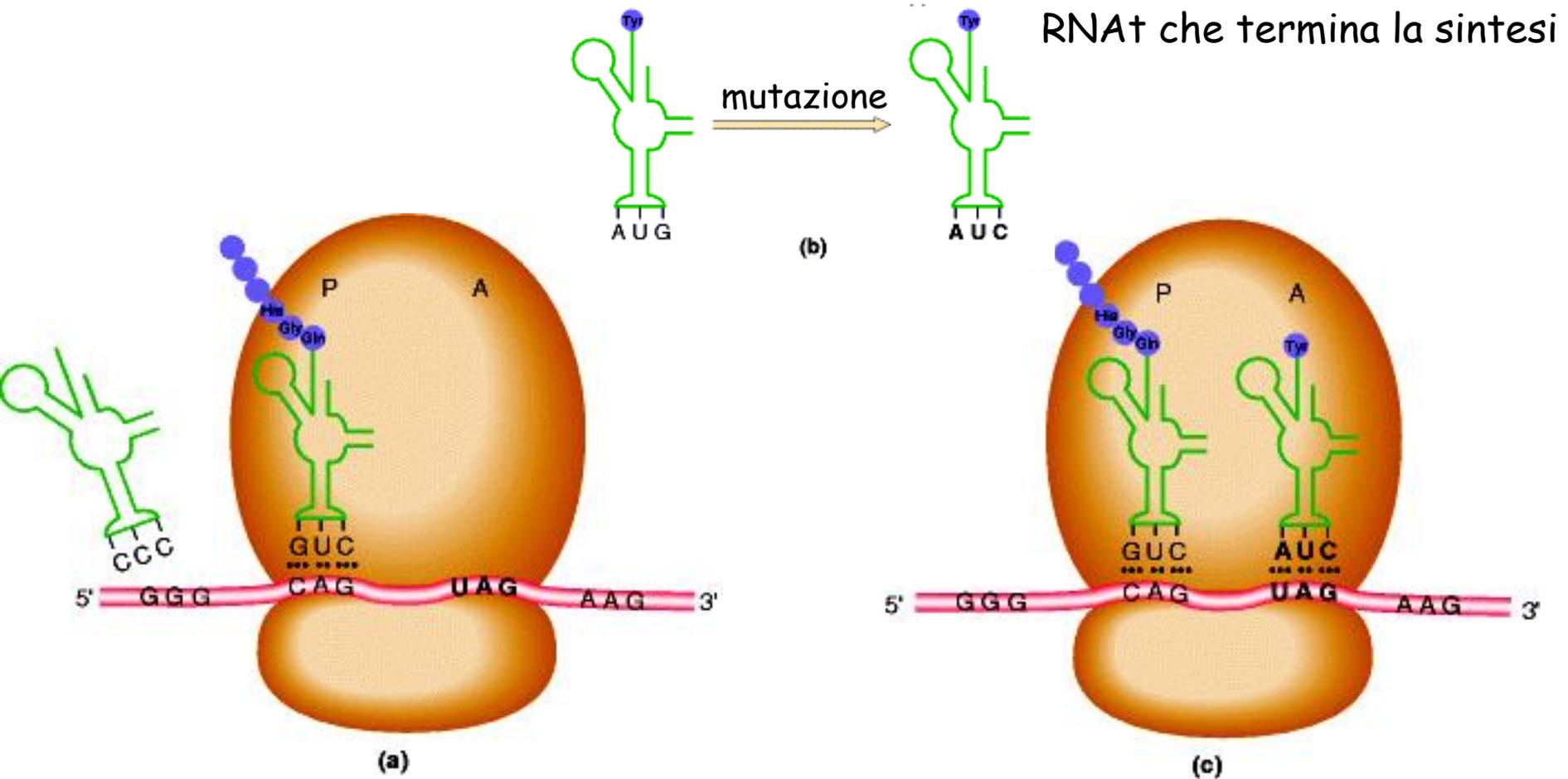
Anemia falciforme: il gene della β globina presenta una mutazione puntiforme nel 6° codone (mutazione β^C). Questa forma di anemia è prevalentemente presente nelle regioni malariche e sembra proteggere dalla malaria stessa

(b)	Tipo di emoglobina	Sequenza amminoacidica e sequenza dei nucleotidi del DNA
	A	<p>- P r o - G l u - G l u - GAG: acido glutammico - C C T - G A G - G A G -</p> <p> └──────────┘</p> <p> Mutazione $\left(\frac{C}{G}\right) \rightarrow \left(\frac{T}{A}\right)$ (transizione)</p>
	C	<p>- P r o - L i s - G l u - AAG: lisina - C C T - A A G - G A G -</p>

Le Mutazioni

Mutazioni non senso (nonsense)

Sono quelle che creano, in una regione codificante, un codone di terminazione: UAA, UAG, UGA. Si crea un polipeptide tronco.



Riassunto delle alterazioni genomiche

(a) Mutazioni puntiformi e piccole delezioni

Seq. normale

	N-Phe	Arg	Trp	Ile	Ala	Asn-C
RNA ^m	5'-UUU	CGA	UGG	AUA	GCC	AAU-3'
DNA	3'-AAA	GCT	ACC	TAT	CGG	TTA-5'
	5'-TTT	CGA	TGG	ATA	GCC	AAT-3'

Mutazione senso

3'-AAT	GCT	ACC	TAT	CGG	TTA-5'
5'-TTA	CGA	TGG	ATA	GCC	AAT-3'
N-Leu	Arg	Trp	Ile	Ala	Asn-C

Mutazione non senso

3'-AAA	GCT	ATC	TAT	CGG	TTA-5'
5'-TTT	CGA	TAG	ATA	GCC	AAT-3'
N-Phe	Arg	Stop			

Slittamento del quadro di lettura per inserzione di base

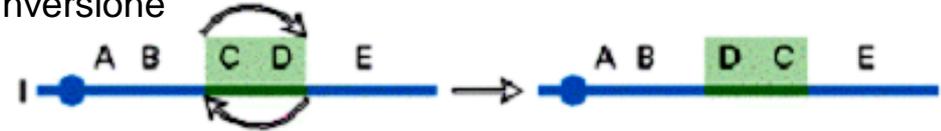
3'-AAA	GCT	ACC	ATA	TCG	GTT A-5'
5'-TTT	CGA	TGG	TAT	AGC	CAA T-3'
N-Phe	Arg	Trp	Tyr	Ser	Gln

Slittamento del quadro di lettura per delezione di basi

	GCTA				
	CGAT				
3'-AAA	CCT	ATC	GGT	TA-5'	
5'-TTT	GGA	TAG	CCA	AT-3'	
N-Phe	Gly	Stop			

(b) Anomalie cromosomiche

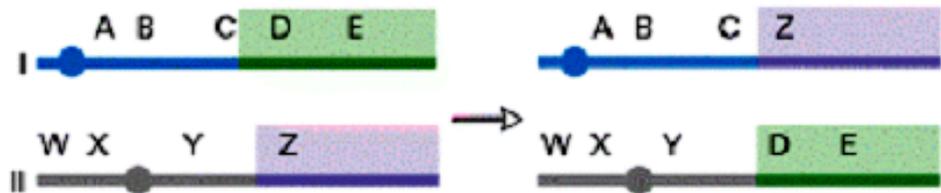
Inversione



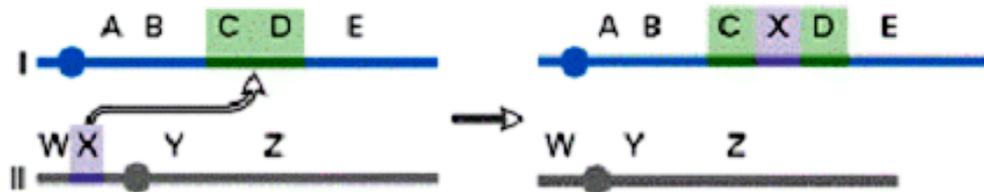
Delezione



Traslocazione bilanciata



Inserzione/duplicazioni



GENETICA DEL CANCRO

- Il cancro è una malattia genetica delle cellule somatiche
- Solo il 5% circa delle malattie tumorali è ereditabile
- Il cancro è una malattia multifattoriale, vale a dire oligogenica e con il contributo di fattori ambientali
- Il cancro è una malattia che insorge con un meccanismo multifasico

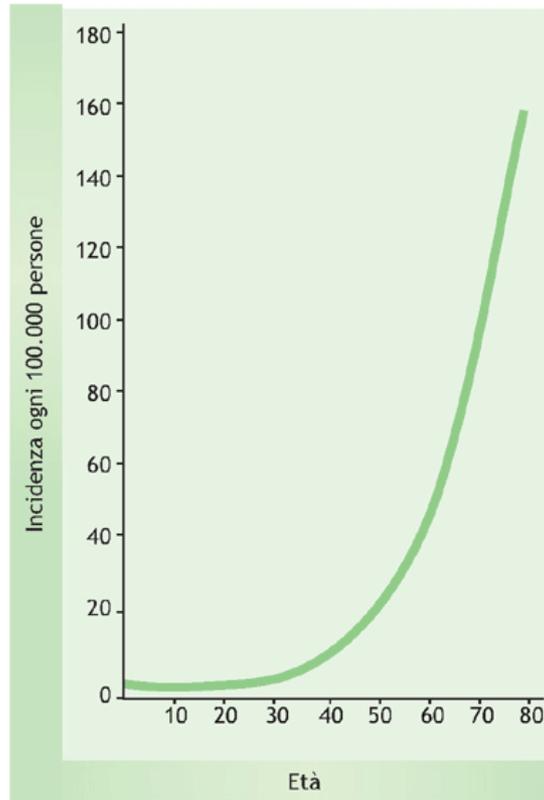


Tra gli agenti cancerogeni annoveriamo:

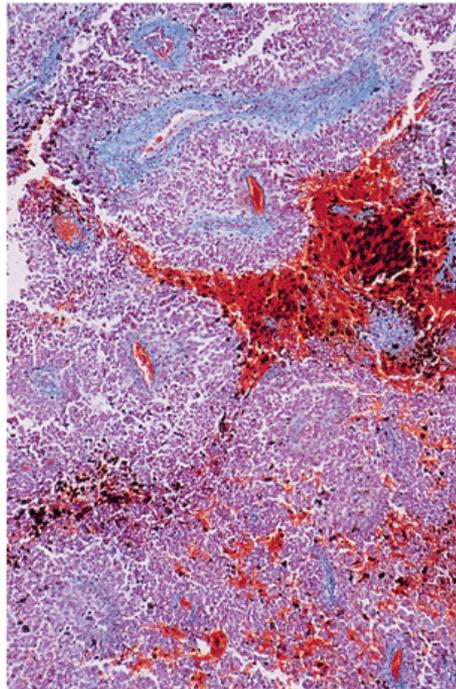
- Agenti fisici, come le radiazioni U.V., gamma e X
- Agenti chimici, come i derivati del petrolio e carbone
- Agenti biologici, come virus oncogeni, specifici batteri (*Helicobacter pylori*, *Chlamydiae* sp.), funghi (*Aspergillus* sp.), protozoi (*Plasmodium* sp.), vermi platelminti (*Schistosoma* sp.)

Tognon
2015





■ **Figura 12.1** Incidenza annuale del cancro in funzione dell'età. Il numero di nuovi casi è espresso in rapporto al numero totale di individui per ciascun gruppo d'età.



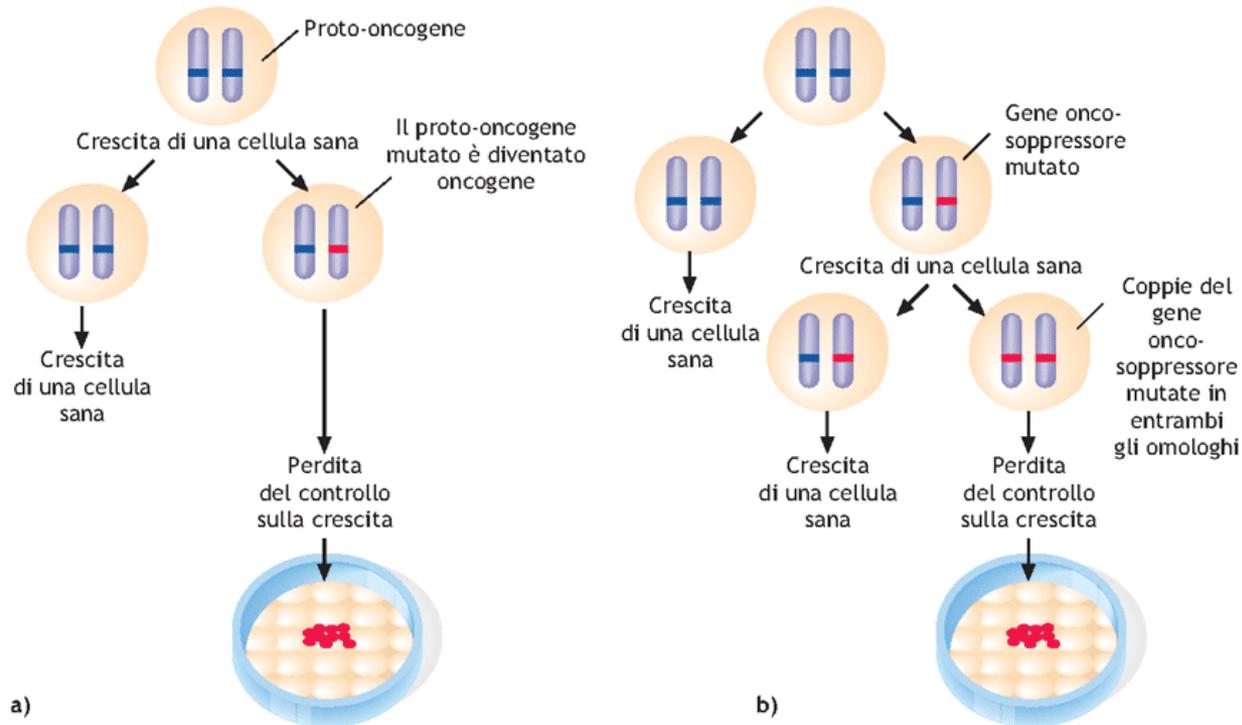
■ **Figura 12.2** La formazione di metastasi. La micrografia mostra la metastasi epatica (in rosso) di un melanosarcoma. È evidente la capacità delle cellule tumorali di invadere ed alterare la organizzazione del parenchima epatico.



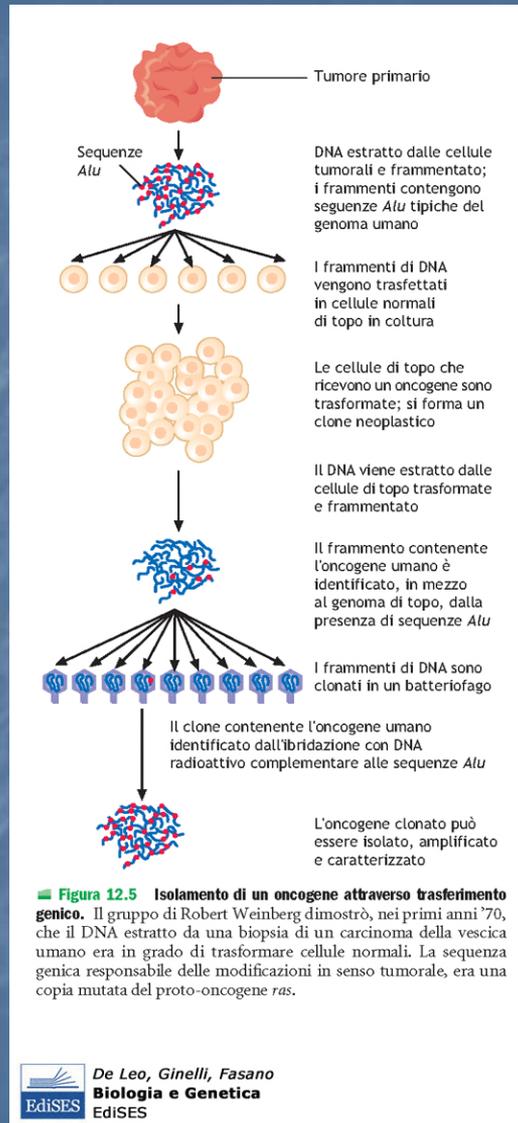
De Leo, Ginelli, Fasano
Biologia e Genetica
EdiSES

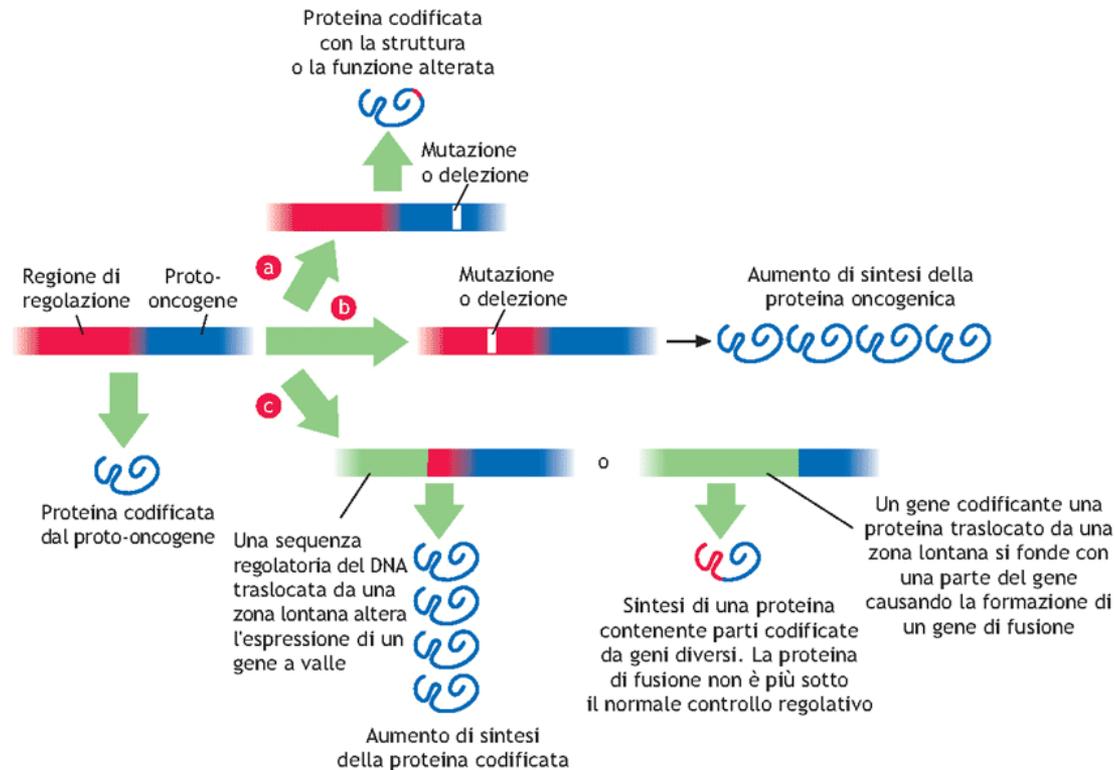


■ **Figura 12.3** Alterazioni genetiche nella progressione del carcinoma del colon. Secondo i dati sperimentali del gruppo di Vogelstein, lo sviluppo di un tumore maligno al colon segue un modello riproducibile di attivazione di oncogeni e perdita di oncosoppressori. *APC* – Gene che determina poliposi adenomatosa del colon.

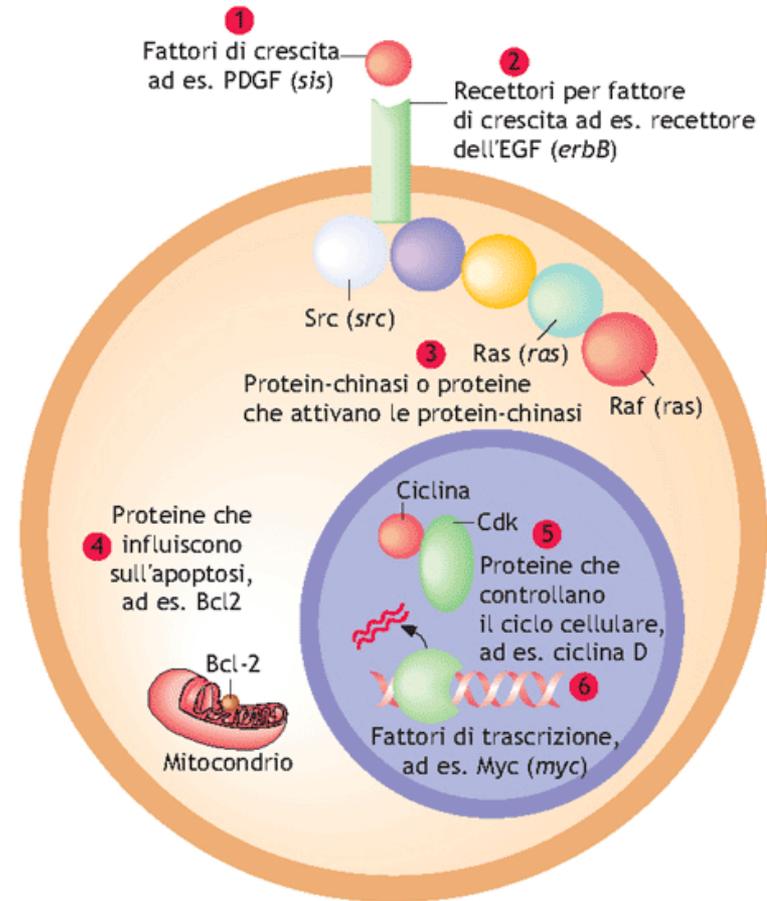


■ **Figura 12.4** Modalità di azione degli oncogeni ed oncosoppressori. **(a)** Un unico evento mutazionale in una delle due copie alleliche di un oncogene è sufficiente affinché la cellula acquisi un fenotipo tumorale. **(b)** Nel caso di un oncosoppressore, entrambe le copie dei geni sui due cromosomi omologhi devono essere alterate per indurre la cellula ad acquisire proprietà tumorigeniche.





■ **Figura 12.6 Meccanismi di attivazione di un proto-oncogene in un oncogene.** Le modalità con cui un proto-oncogene può diventare un oncogene sono illustrate schematicamente in figura. Nella via (a), una mutazione missenso determina un cambiamento nella struttura e funzione della proteina codificata. In (b), una mutazione in una delle sequenze di regolazione dell'espressione genica causa una alterazione dei livelli della proteina oncogenica. Infine, in (c) un riarrangiamento genico porta alla formazione di geni di fusione la cui espressione è deregolata o che codificano per proteine a funzione alterata.



■ **Figura 12.7** Oncogeni e localizzazione cellulare dei loro prodotti. Le proteine codificate dagli oncogeni possono essere dei fattori di crescita (1), recettori per i fattori di crescita (2), molecole citoplasmatiche per la trasduzione del segnale (3), componenti del processo apoptotico (4), proteine nucleari che regolano il ciclo cellulare (5) e fattori di trascrizione (6).

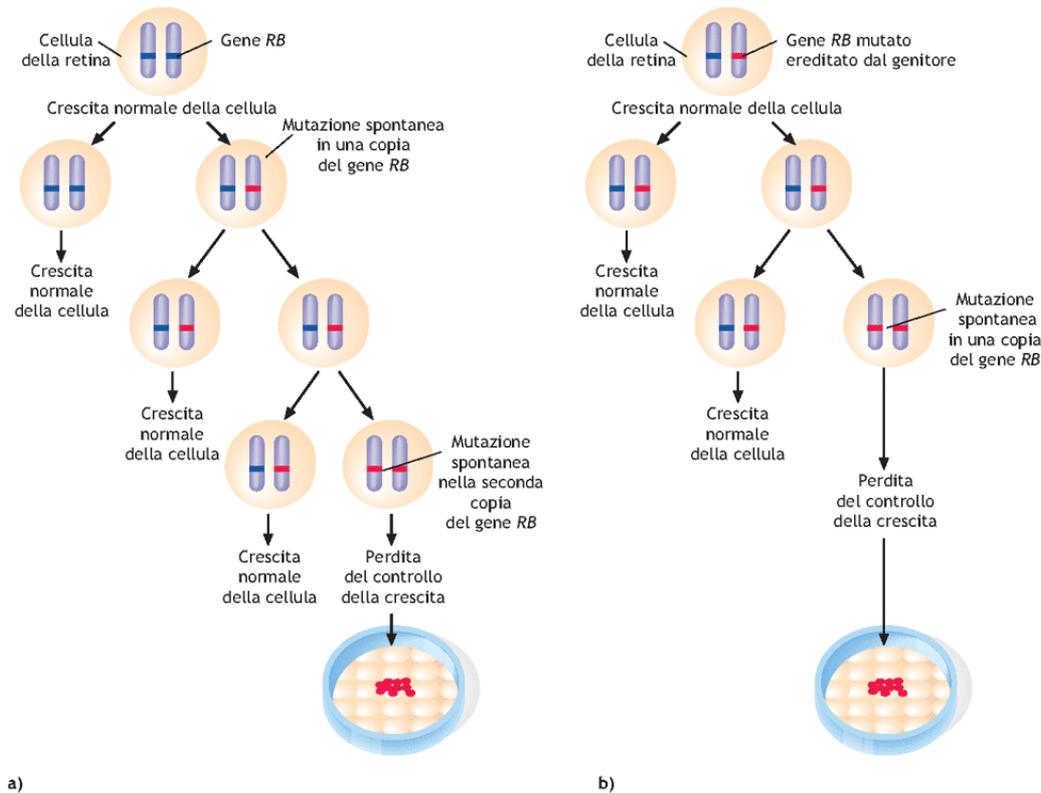
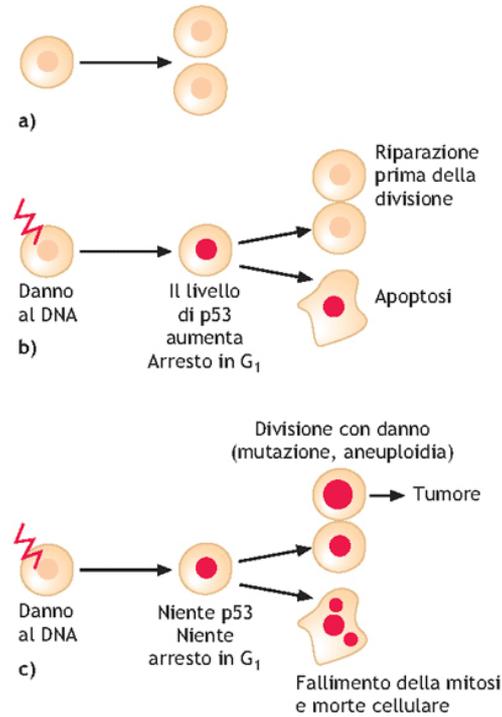
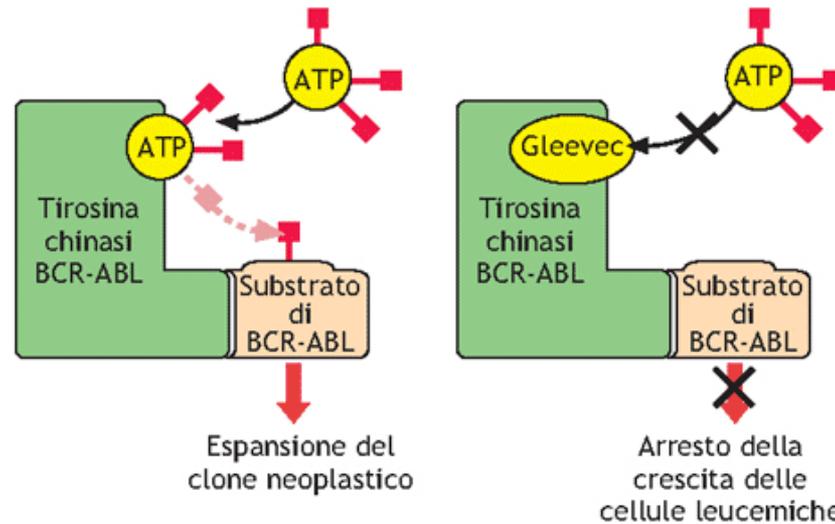


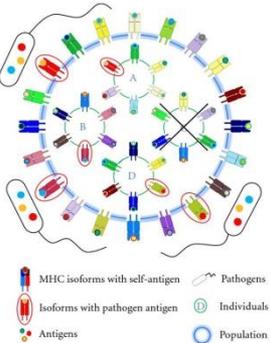
Figura 12.8 Mutazioni dell'oncosoppressore *RB* durante lo sviluppo del retinoblastoma. **(a)** Nel retinoblastoma sporadico, il tumore si sviluppa quando una cellula della retina accumula mutazioni indipendenti in entrambi gli alleli del gene. **(b)** Nei casi familiari (retinoblastoma ereditario), una copia mutata del gene viene ereditata dal genitore affetto. L'individuo quindi presenta in tutte le sue cellule un allele *RB* mutato. Se l'altro allele *RB* viene inattivato, in una cellula retinica, da una seconda mutazione somatica, questa cellula andrà incontro a trasformazione neoplastica, originando una massa tumorale.



■ **Figura 12.9 Azione dell'oncosoppressore p53.** In una cellula normale **(a)**, l'aumento dei livelli della p53 in seguito al danno al DNA induce il processo apoptotico portando la cellula alla morte o attiva i sistemi di riparazione del materiale genetico. **(b)** Nelle cellule dove la p53 è mutata, i danni al DNA determinano o la morte cellulare o la espansione neoplastica di cloni cellulari con mutazioni puntiformi o con un assetto cromosomico alterato **(c)**.

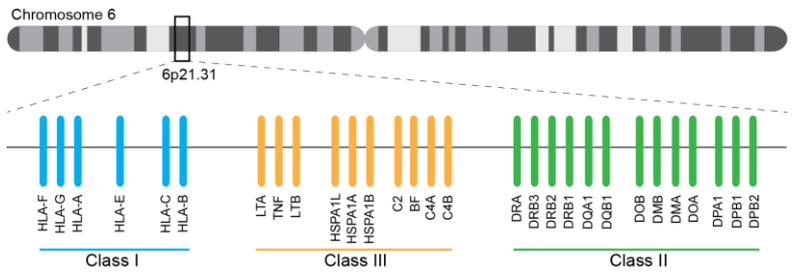


■ **Figura 12.10** **Modalità di azione del Gleevec.** La proteina tirosina chinasi BCR-ABL è costitutivamente attiva nelle cellule di leucemia mieloide cronica e rappresenta l'evento molecolare patogenetico per questa neoplasia. Il Gleevec, legandosi alla tasca enzimatica dell'ATP, blocca la capacità di BCR-ABL di fosforilare i suoi substrati e determina l'arresto della crescita delle cellule leucemiche.



Il Complesso Maggiore di Istocompatibilità (MHC) (Major Histocompatibility Complex)

Human Leukocyte Antigens (HLA)



Dott.ssa RITA SELVATICI
Sez. Genetica Medica
Dipartimento di Scienze Mediche

**Complesso genico identificato a metà degli
anni '30 nel topo (complesso H2)
da George Snell perché coinvolto
nell'attecchimento dei trapianti di cute e
d'organo.**

**Negli anni '60 e '70 è stato scoperto che i
geni di questa regione sono di fondamentale
importanza per tutte le risposte immunitarie
agli antigeni proteici**

Tutte le specie di mammiferi possiedono un gruppo di geni strettamente associati, il **complesso maggiore di Istocompatibilità (MHC)**, i cui prodotti proteici sono coinvolti nel riconoscimento cellulare e nella discriminazione self e non-self.

Viene denominato HLA (human leukocytes antigen) nell'uomo

MHC svolge un ruolo fondamentale nel determinare se un tessuto trapiantato può essere accettato come self (istocompatibile) o rigettato (istoincompatibile)

MHC è fondamentale nello sviluppo delle risposte sia umorali che di tipo cellulare

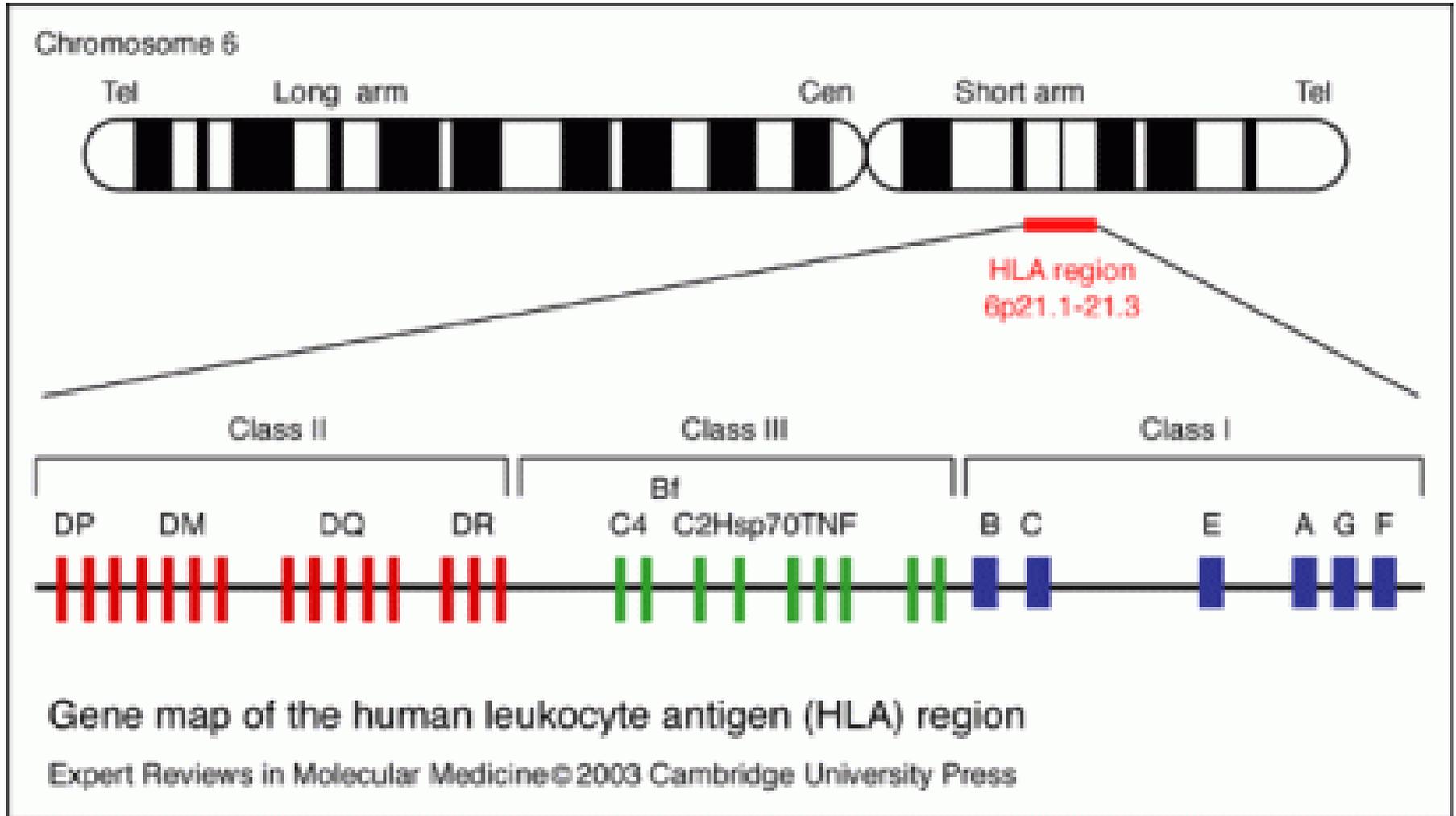
I linfociti T riconoscono gli antigeni estranei solo se associati a molecole **MHC**.

- Tutte le specie di mammiferi possiedono il **complesso maggiore di Istocompatibilità (MHC)**, i cui prodotti proteici sono coinvolti nel riconoscimento cellulare self e non-self.
- MHC è fondamentale nello sviluppo delle **risposte umorali** (mediate dalla secrezione di anticorpi prodotti nelle cellule dei linfociti B) e anche **di tipo cellulare** (attivazione di macrofagi, delle cellule natural killer, dei linfociti T e il rilascio di varie citochine in risposta ad un antigene estraneo).
- Le proteine codificate dai geni HLA sono presenti sulle cellule di tutti i tessuti e sono coinvolte nella discriminazione fra **self e non self** e nel riconoscimento di antigeni estranei da parte dei linfociti T.
- I linfociti T riconoscono gli antigeni estranei solo se associati a molecole MHC.
- MHC svolge un ruolo fondamentale nel determinare se un tessuto trapiantato può essere accettato come self (istocompatibile) o rigettato (non-self-istoincompatibile)

Organizzazione del complesso HLA

- E' localizzato sul cromosoma 6 nell'uomo e sul cromosoma 17 nel topo
- HLA comprende più di 200 geni codificanti
- Il locus contiene i geni che codificano per le proteine HLA «classiche» di I e II classe e le proteine di III classe:
 - geni HLA di classe I (A, B, C)**
 - geni HLA di classe II (DP, DQ, DR)**
 - geni HLA di classe III (C2, C4, TNF)**

Organizzazione del complesso HLA



Organizzazione del complesso HLA

Nell'uomo il complesso maggiore di istocompatibilità è localizzato nel braccio corto del cromosoma 6, in una regione corrispondente a 2-3 cM.

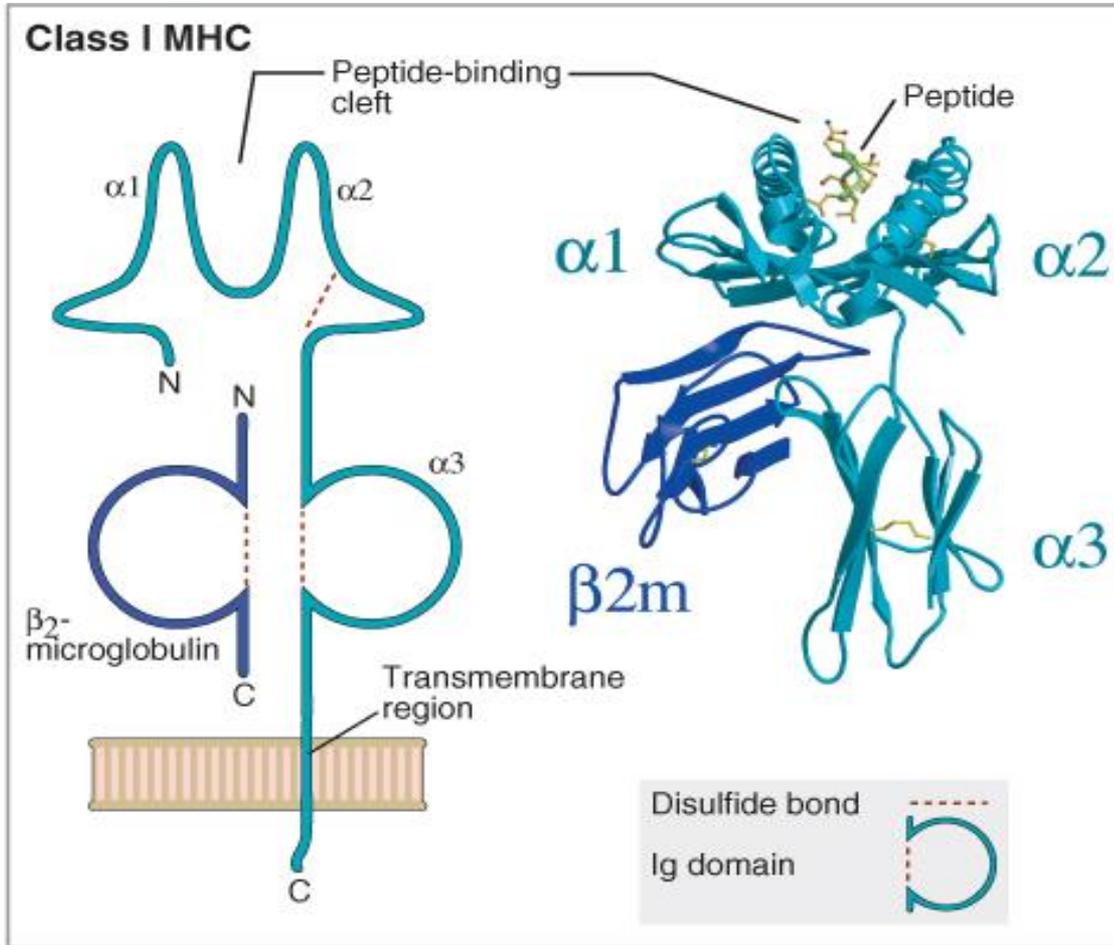
È suddiviso in **tre regioni** che prendono il nome di **classe I, classe II e classe III**.

La regione I contiene i loci A, B e C che codificano per le molecole di classe I.

La regione II contiene i loci DP, DQ e DR che codificano per le molecole di classe II.

La regione III, interposta tra le regioni I e II, contiene i geni che codificano per le molecole C2 e C4 del complemento e il **Tumor necrosis factors** (un gruppo di citochines che causa morte cellulare

STRUTTURA DELLE MOLECOLE HLA DI CLASSE I

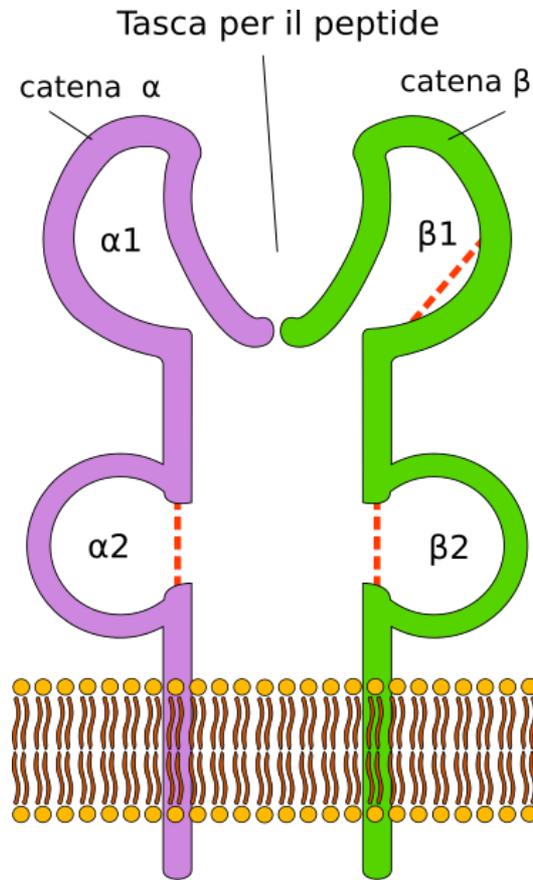


- Sono distinguibili 4 regioni:
- una regione legante il peptide antigenico (**alloantigenic site**) compresa tra i domini $\alpha 1$ e $\alpha 2$
 - una regione altamente conservata $\alpha 3$ alla quale si legano i linfociti T CD8+
 - una regione idrofobica di transmembrana
 - una regione citoplasmatica che contiene siti di fosforilazione e di legame per le proteine del citoscheletro

© Elsevier 2005. Abbas & Lichtman: Cellular and Molecular Immunology 5e www.studentconsult.com

Le molecole di classe I sono composte da una catena α polimorfica attaccata in maniera non covalente alla catena β_2 -microglobulina (β_2m) non polimorfica.

STRUTTURA DELLA MOLECOLA HLA DI CLASSE II

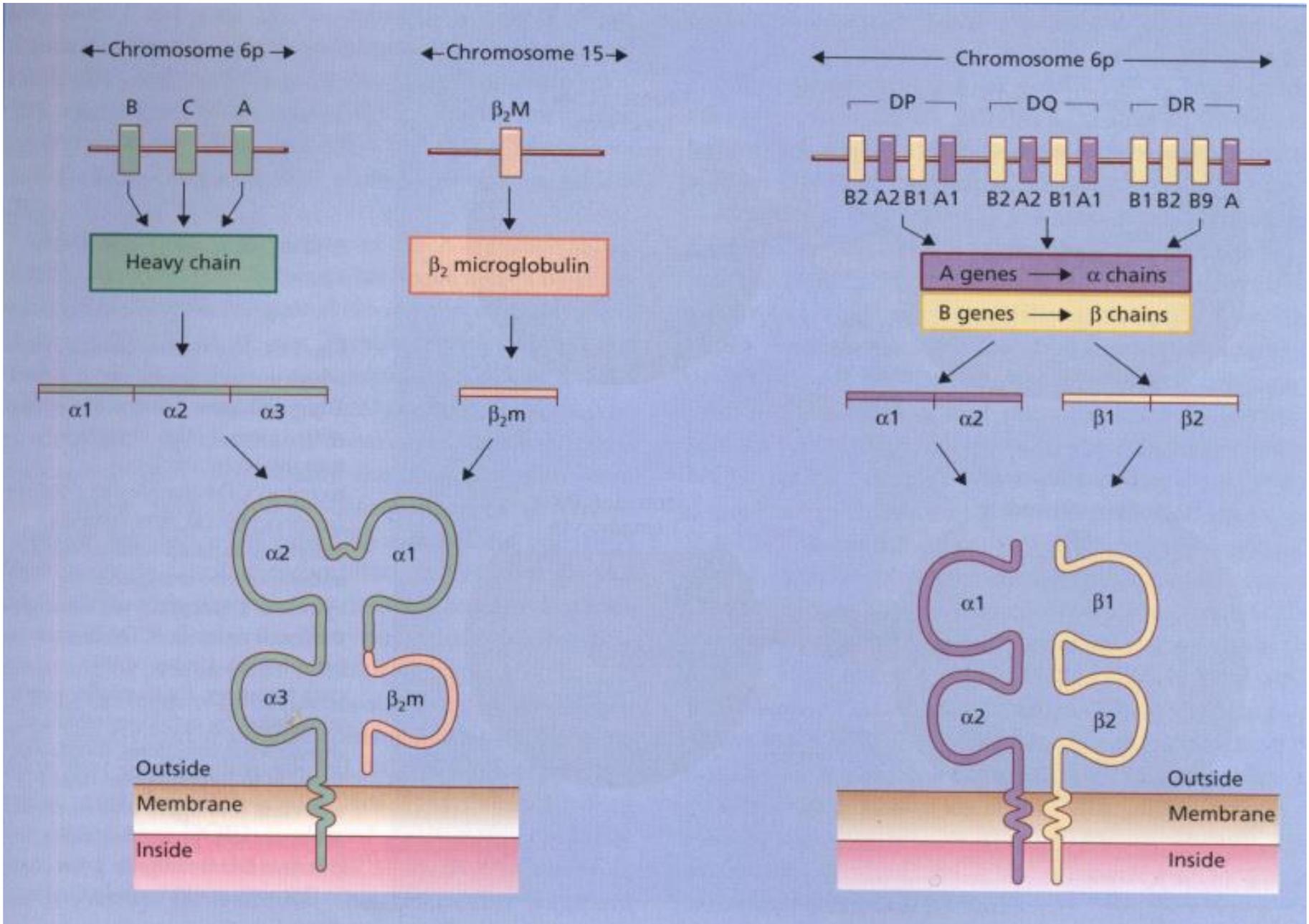


L'MHC di classe II è formato da due catene polipeptidiche di lunghezza simile: una catena α e una catena β . Si riconoscono 4 regioni:

- una regione di legame per il peptide, tra i domini $\alpha 1$ e $\beta 1$, sede di polimorfismi
- una regione Ig-like, $\beta 2$ alla quale si legano i linfociti T CD4
- una regione di transmembrana
- una regione citoplasmatica che contiene siti di fosforilazione e di legame per proteine del citoscheletro.

HLA DI CLASSE I

HLA DI CLASSE II



CARATTERISTICHE DELLE MOLECOLE MHC DI CLASSE I e II

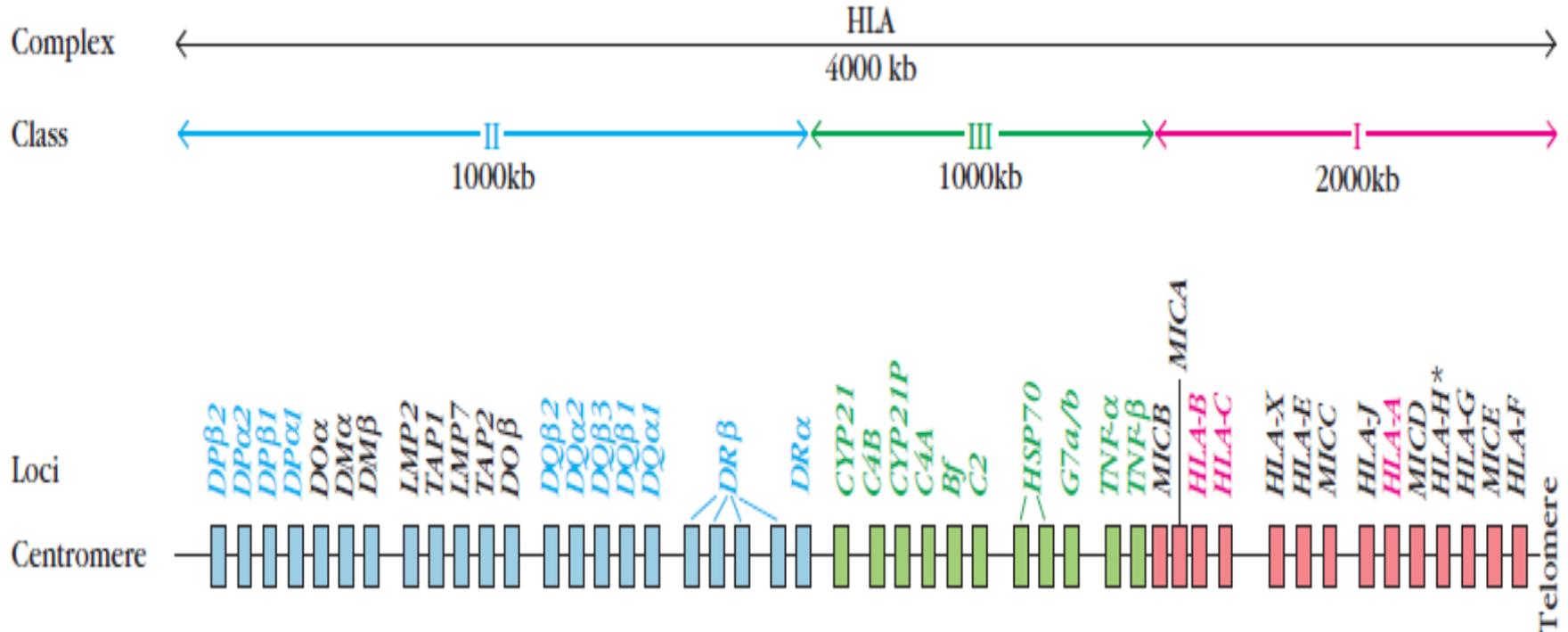
Caratteristiche	MHC classe I	MHC classe II
Catene polipeptidiche	α (44-47 kD) β_2 -microglobulina (12 kD)	α (32-34 kD) β (29-32 kD)
Localizzazione dei residui polimorfici	Domini $\alpha 1$ e $\alpha 2$	Domini $\alpha 1$ e $\beta 1$
Siti di legame per il co-recettore cell T	Regione $\alpha 3$ lega CD8	Regione $\beta 2$ lega CD4
Lunghezza della tasca che lega il peptide	Legano peptidi di 8-11 aa	Legano peptidi di 10-30 aa o più
Nomenclatura umana	HLA-A, HLA-B, HLA-C	HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP
Nomenclatura murina	H-2K, H2-D, H-2L	I-A, I-E

Caratteristiche del sistema **HLA**

1. è **poligenico** - il locus comprende circa 200 geni che codificano per le proteine di **I** e **II** classe con una diversa specificità per i peptidi.
2. è **polimorfico** - esistono numerose varianti alleliche per ogni gene.
3. è **codominante** - in ogni individuo sono espressi i prodotti di entrambi gli alleli ereditati dai genitori.

HLA E' POLIGENICO

HUMAN CHROMOSOME 6



**Sono stati identificati 253 loci,
57% dei quali vengono espressi**

HLA E' POLIMORFICO

Le molecole MHC espresse da un individuo non si modificano nel tempo ma possono differire da quelle espresse da un altro individuo della stessa specie



POLIMORFISMO

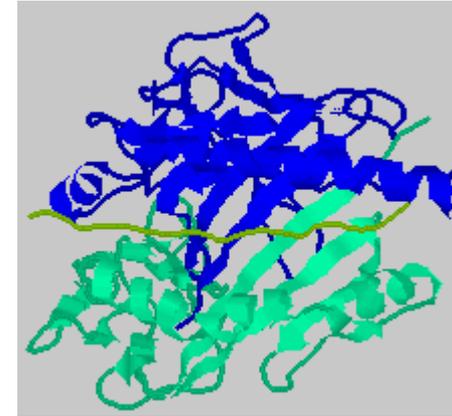
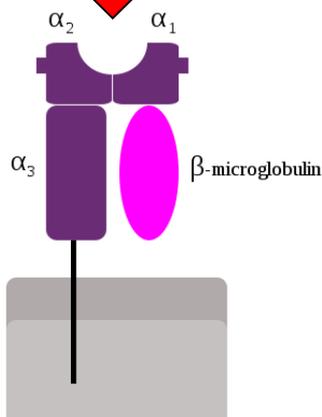
MHC è uno dei complessi genetici più polimorfici dei vertebrati più evoluti e possiede un numero straordinariamente elevato di alleli diversi per ciascun locus.

Gli alleli differiscono del 5%-10% nella sequenza del DNA da un individuo all'altro.

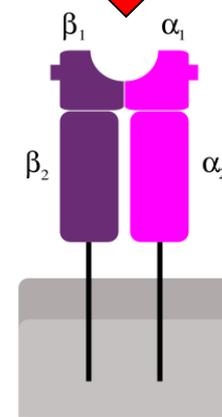
Localizzazione del polimorfismo allelico delle molecole HLA



Class I

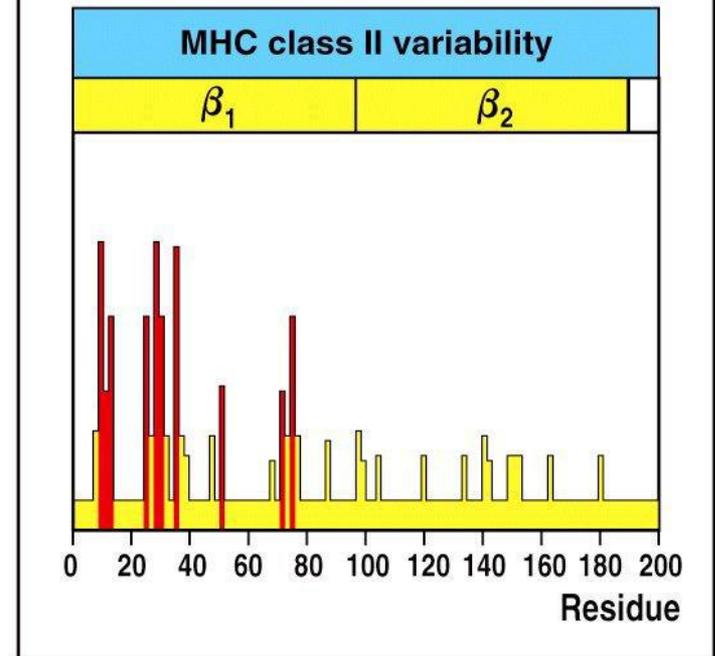
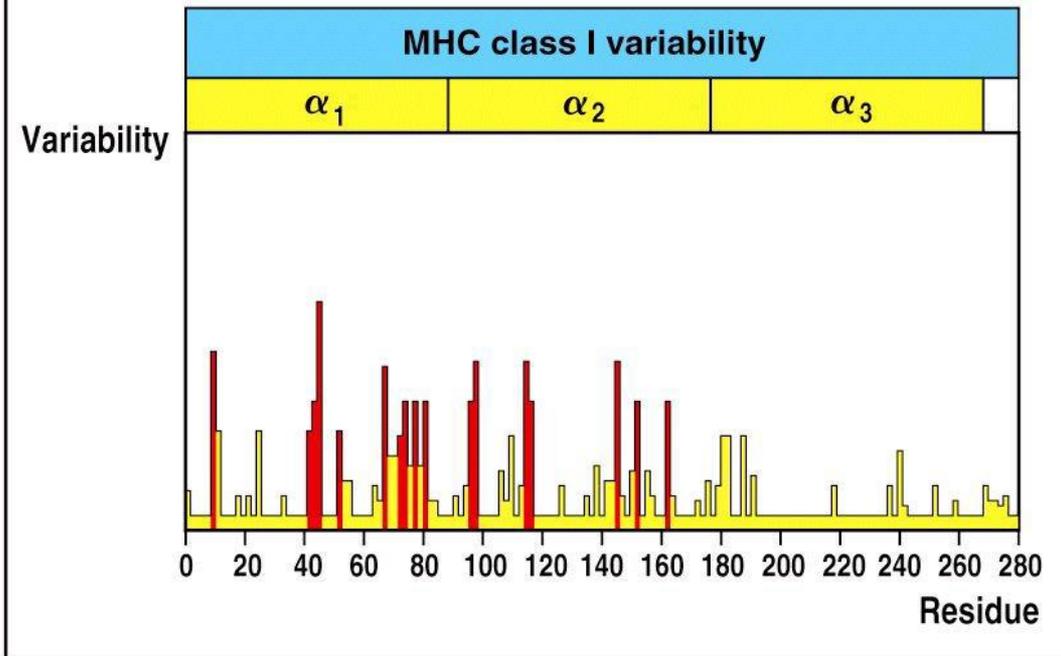
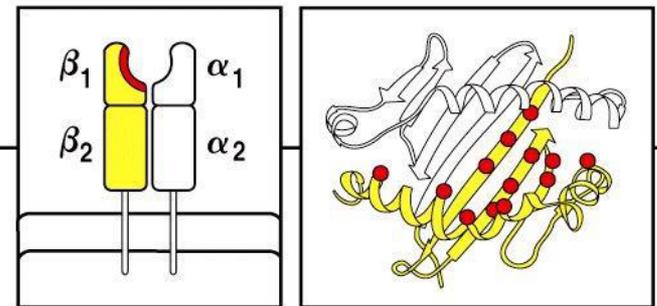
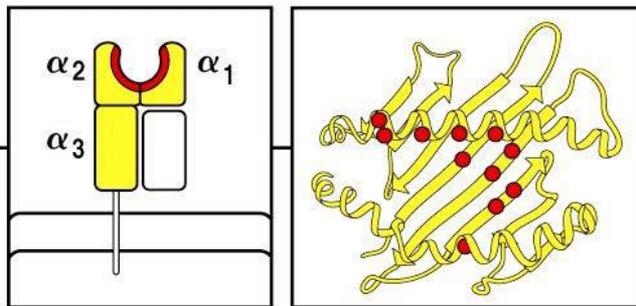


Class II



Il polimorfismo delle molecole HLA è quasi esclusivamente a carico della tasca di riconoscimento antigenico

Il polimorfismo delle proteine MHC è concentrato in regioni della molecola che interagiscono con il peptide antigenico.

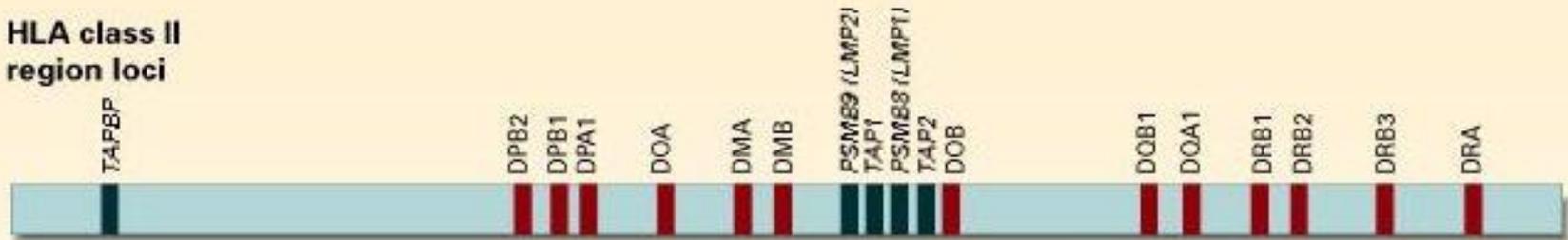


POLIMORFISMO ALLELI HLA

HLA class I region loci



HLA class II region loci



HLA genotype	HLA species
HLA-A	A*01, A*02, A*23, A*24, A*25, A*26, A*34, A*66, A*29, A*30, A*31, A*32, A*33, A*74, A*68, A*69, A*03, A*11, A*36, A*43, A*80
HLA-B	B*07, B*08, B*13, B*14, B*15, B*18, B*27, B*35, B*37, B*38, B*39, B*40, B*41, B*42, B*44, B*45, B*46, B*47, B*48, B*49, B*50, B*51, B*52, B*53, B*54, B*55, B*56, B*57, B*58, B*59, B*67, B*73, B*78, B*81, B*82, B*83
HLA-Cw	C*01, C*02, C*03, C*04, C*05, C*06, C*07, C*08, C*12, C*14, C*15, C*16, C*17, C*18
HLA-DR	DRB1*01, B1*03, B1*04, B1*07, B1*08, B1*09, B1*10, B1*11, B1*12, B1*13, B1*14, B1*15, B1*16, DRB3, DRB4, DRB5

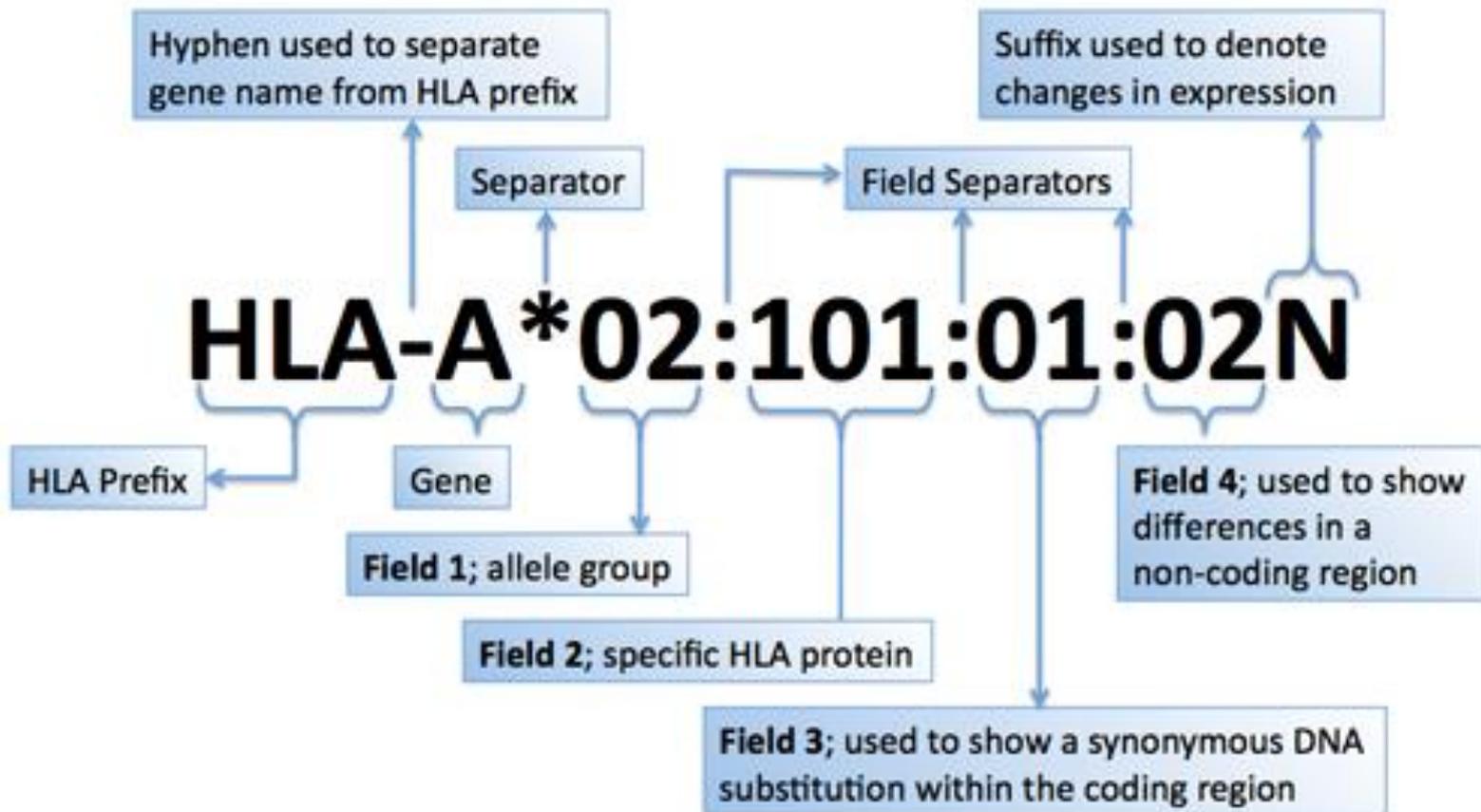
NOMENCLATURA HLA

Nomenclature of human leukocyte antigen (HLA) loci and alleles

Nomenclature	Definition
HLA	The HLA region and prefix for an HLA gene
HLA-DRB1	A particular HLA locus (i.e., DRB1)
HLA-DRB1*13	A group of alleles that encode the DR13 antigen defined serologically by microlymphocytotoxicity or by mixed lymphocyte reactivity
HLA-DRB1*1301	A specific HLA allele
HLA-DRB1*1301N	A null allele (i.e., nonexpressed)
HLA-DRB1*13012	An allele that differs by a synonymous mutation (i.e., identical amino acid encoded by a different codon)
HLA-DRB1*1301102	An allele that contains a mutation outside the coding region
HLA-DRB1*1301102N	A null allele that contains a mutation outside the coding region

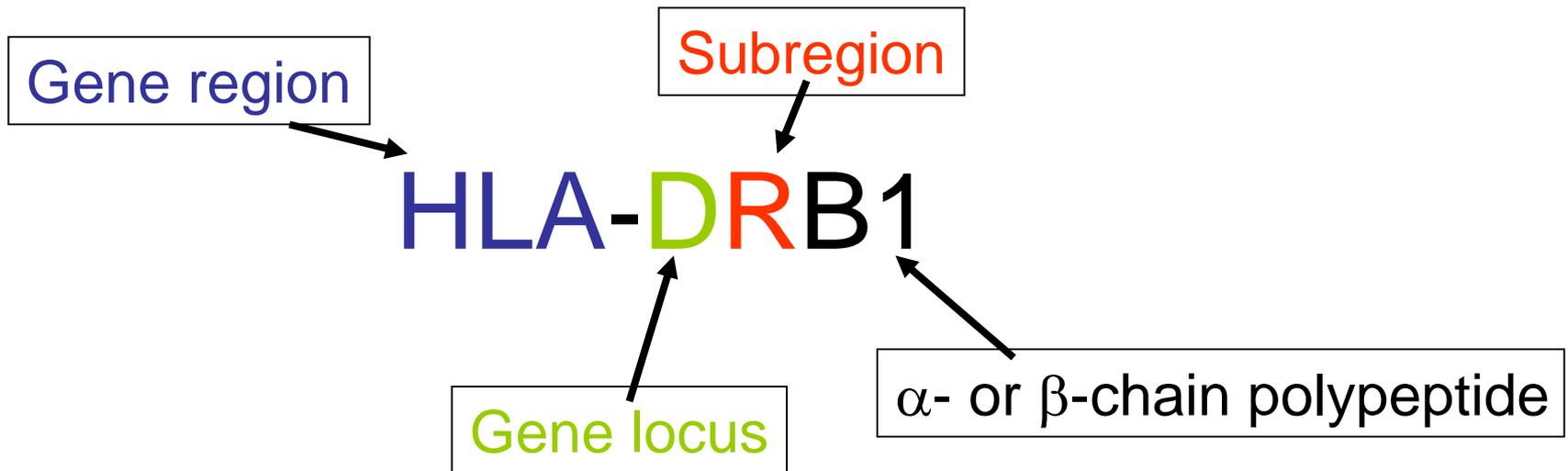
HLA Allele Nomenclature

A **standard nomenclature** has been established by the World Health Organization (WHO) Nomenclature Committee.



HLA Allele Nomenclature

A **standard nomenclature** has been established by the World Health Organization (WHO) Nomenclature Committee.



Frequenze degli alleli HLA nelle diverse etnie

Le molecole HLA non sono distribuite in maniera casuale nella popolazione: gli alleli segregano secondo la progenie e la razza

FREQUENZA %

Group of alleles	CAU	AFR	AS
HLA-A1	15.18	5.72	4.48
HLA- A2	28.65	18.88	24.63
HLA- A3	13.38	8.44	2.64
HLA- A28	4.46	9.92	1.76
HLA- A36	0.02	1.88	0.01

**Qual è la ragione di questo
elevatissimo polimorfismo ?**

L'elevato polimorfismo ha una spiegazione di tipo evolutivo:

Esiste infatti una **pressione selettiva** che nel corso dell'evoluzione ha determinato una aumentata frequenza (pressione selettiva) di alcuni alleli HLA, ***al di fuori dell'equilibrio di Hardy-Weinberg.***

Il **vantaggio evolutivo** del **polimorfismo** e del **poligenismo** risiede nel fatto che è maggiore la possibilità di avere combinazioni diverse di alleli che possono presentare in maniera ottimale un determinato antigene, quindi di poter riconoscere il maggior numero di peptidi diversi ai linfociti T.

Polimorfismo MHC e sopravvivenza della specie

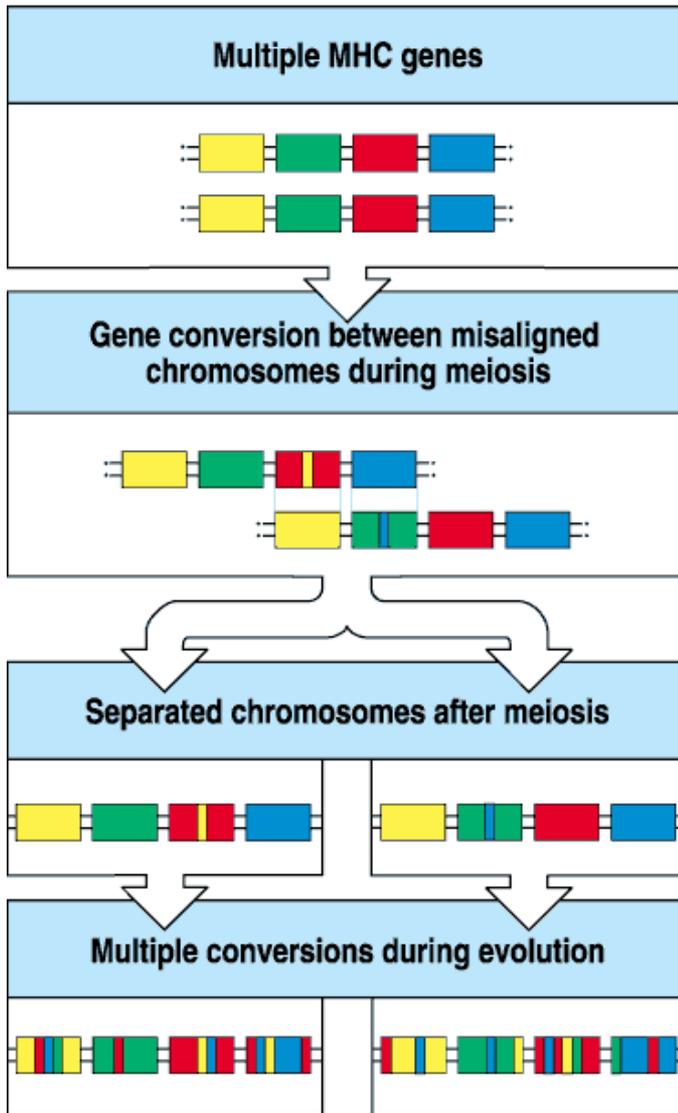
Nell'uomo alcuni alleli HLA sono più frequenti di altri.

Il grandissimo numero di alleli, oltre ad aumentare la probabilità del singolo individuo di essere eterozigote per i vari loci HLA, garantisce una grande variabilità intra-popolazione → individui con aplotipi HLA diversi presenteranno peptidi diversi.

Difficilmente potrà comparire un patogeno «non presentabile» da nessun individuo della popolazione

Poligenia e Polimorfismo dei Loci MHC:

Come è avvenuto?



- Poligenia molto probabilmente è derivata dalla duplicazione genica.
- Polimorfismo probabilmente è sorto da mutazioni puntiformi ed eventi conversione genica, in cui lo scambio tra loci è a senso unico.

Dove sono espresse le molecole HLA

- **HLA di classe I** viene espresso da **tutte le cellule nucleate**. E' facilmente inducibile dall'IFN- γ che è prodotto in caso di infezione virale. In questo modo è favorita la presentazione dell'antigene e la conseguente morte della cellula infetta.
- I globuli rossi, in quanto cellule non nucleate, non esprimono MHC di classe I e II
- **HLA di classe II** è invece espresso dalle cellule che presentano l'antigene: **monociti e macrofagi, cellule dendritiche, linfociti B e alcuni tipi di cellule T.**

HLA e ereditarietà

Aplotipo

Ogni individuo possiede nel proprio patrimonio genetico due copie di geni di ciascun locus HLA, uno di origine paterna e uno di origine materna (il set di geni continui, ereditato in blocco, viene definito **aplotipo**)



Daddy

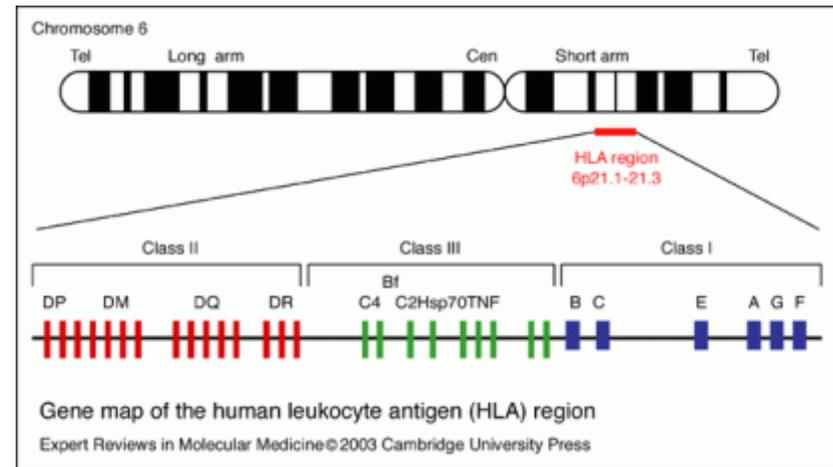
A*0101 B*0801 C*0701 DRB1*0301 DQB1*0201

A*0302 B*3501 C*0401 DRB1*0401 DQB1*0301

Mom



Linkage disequilibrium e complesso MHC

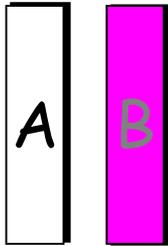


Nella regione MHC il tasso di ricombinazione è molto basso, per cui generalmente tale regione è ereditata in blocco (aplotipo HLA)

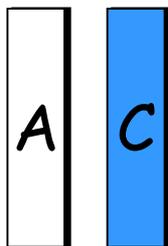
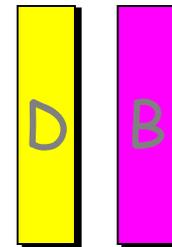
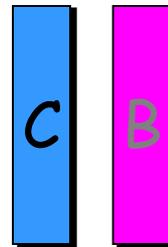
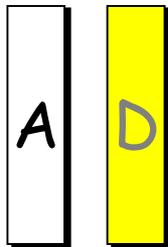
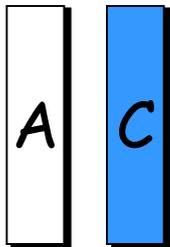
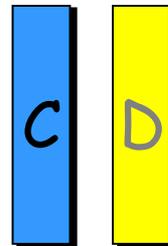
La probabilità di identità tra fratelli è del 25%, mentre nel 25% dei casi due fratelli non condivideranno alcun allele HLA e nel restante 50% si osserverà la condivisione di un aplotipo

Ereditarietà degli antigeni HLA

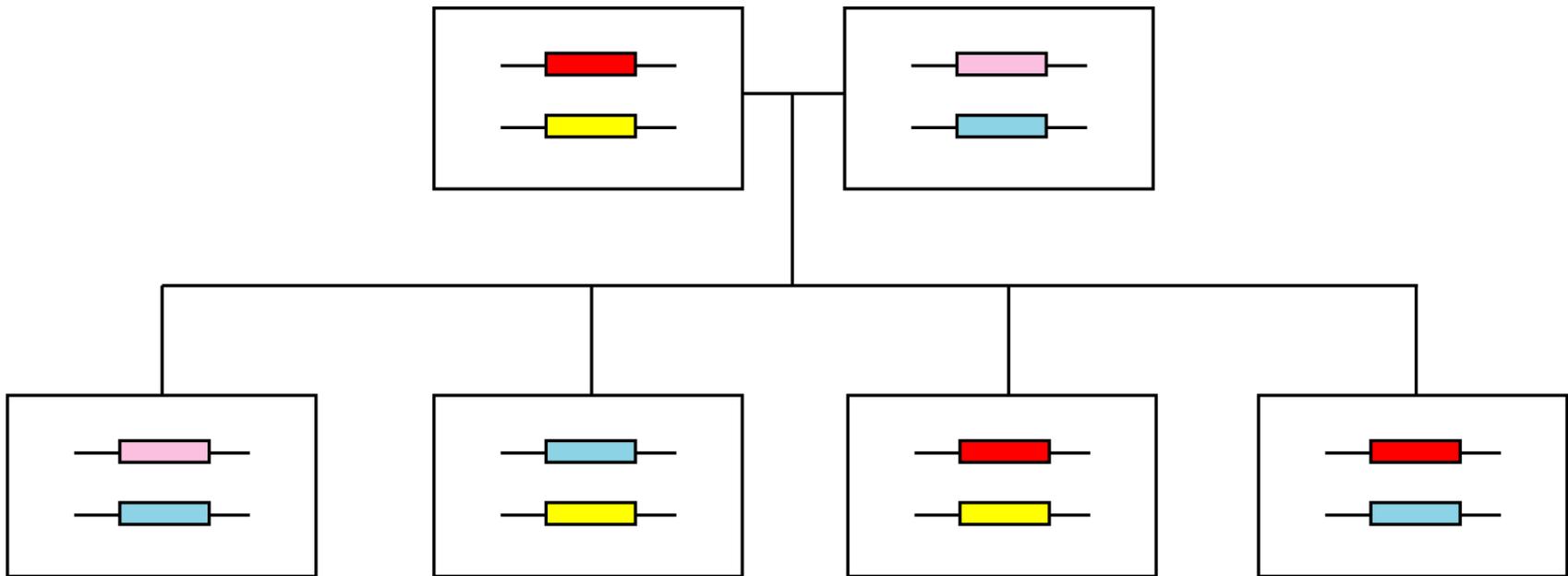
Madre



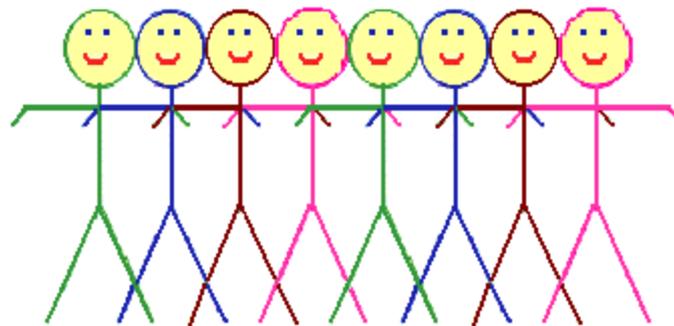
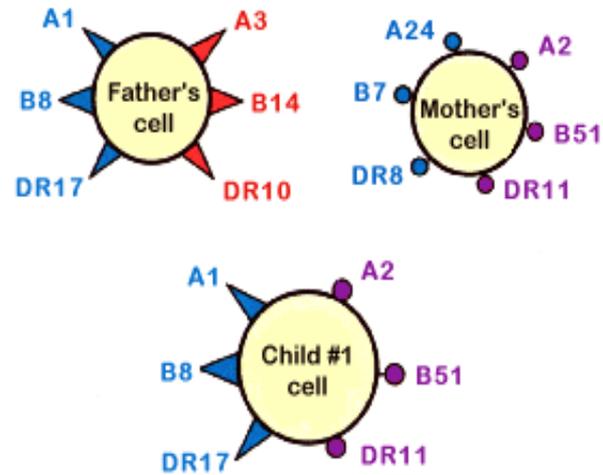
Padre



Espressione dell'HLA è codominante



Trasmissione ereditaria degli antigeni HLA



Tipizzazione HLA e studio familiare

Madre

A24, A2; B7, B51; DR8, DR11;

Padre

A1, A3; B8, B14; DR10, DR17;

Figlio 1:

A1, B8; DR17;

A24; B7; DR8

Figlio 2:

A3; B14; DR10

A2; B51; DR11

Qual è la loro funzione ?

I geni MHC codificano antigeni di superficie che sono espressi sulle cellule nucleate di tutti i tessuti e sono coinvolti nella discriminazione fra self e non self e nel riconoscimento di peptidi estranei.

Qual è la loro funzione ?

Possono essere considerate delle navette che portano sulla superficie cellulare peptidi derivati dalla proteolisi di proteine sintetizzate dalla cellula (MHC I) o di proteine che sono state internalizzate per endocitosi (MHC II).

I peptidi sulla superficie cellulare vengono passati al vaglio delle cellule del sistema immunitario e, se riconosciuti come 'non self', vengono attivate funzioni effettrici specifiche.

A cosa serve il sistema HLA?

Il suo ruolo è importante:

- **nella risposta immunitaria**
- nei trapianti d'organo
- nella predisposizione a malattie genetiche

Antigen presenting cells (APC)

- Le molecole MHC di classe I e classe II legano il peptide derivante dal processamento dell'Ag
- Gli Ag di classe I si associano a molecole derivanti da **antigeni endogeni**
- Gli Ag di classe II legano molecole derivate da **antigeni esogeni**
- MHC di classe I sono su tutte le cellule (non specializzate)
 - Fibroblasti, cellule gliali (cervello), cellule endoteliali, epiteliali, ecc.
- MHC di classe II solo su cellule specializzate:
 - Linfociti B
 - Cellule dendritiche
 - Macrofagi

LE MOLECOLE DI CLASSE I e II appartengono alla superfamiglia delle immunoglobuline

Entrambe presentano l'antigene ai linfociti T

Le molecole di classe I sono espresse in tutte le cellule nucleate che presentano gli antigeni endogeni processati ai linfociti CD8⁺

Le molecole di **classe II sono espresse solo in numero limitato di cellule presentanti l'antigene (macrofagi, cellule dendritiche, linfociti B) che presentano gli Antigeni esogeni processati dai linfociti **CD4⁺****

Restrizione immunitaria per le molecole MHC:

I linfociti T citotossici CD8 sono ristretti alla classe MHC I

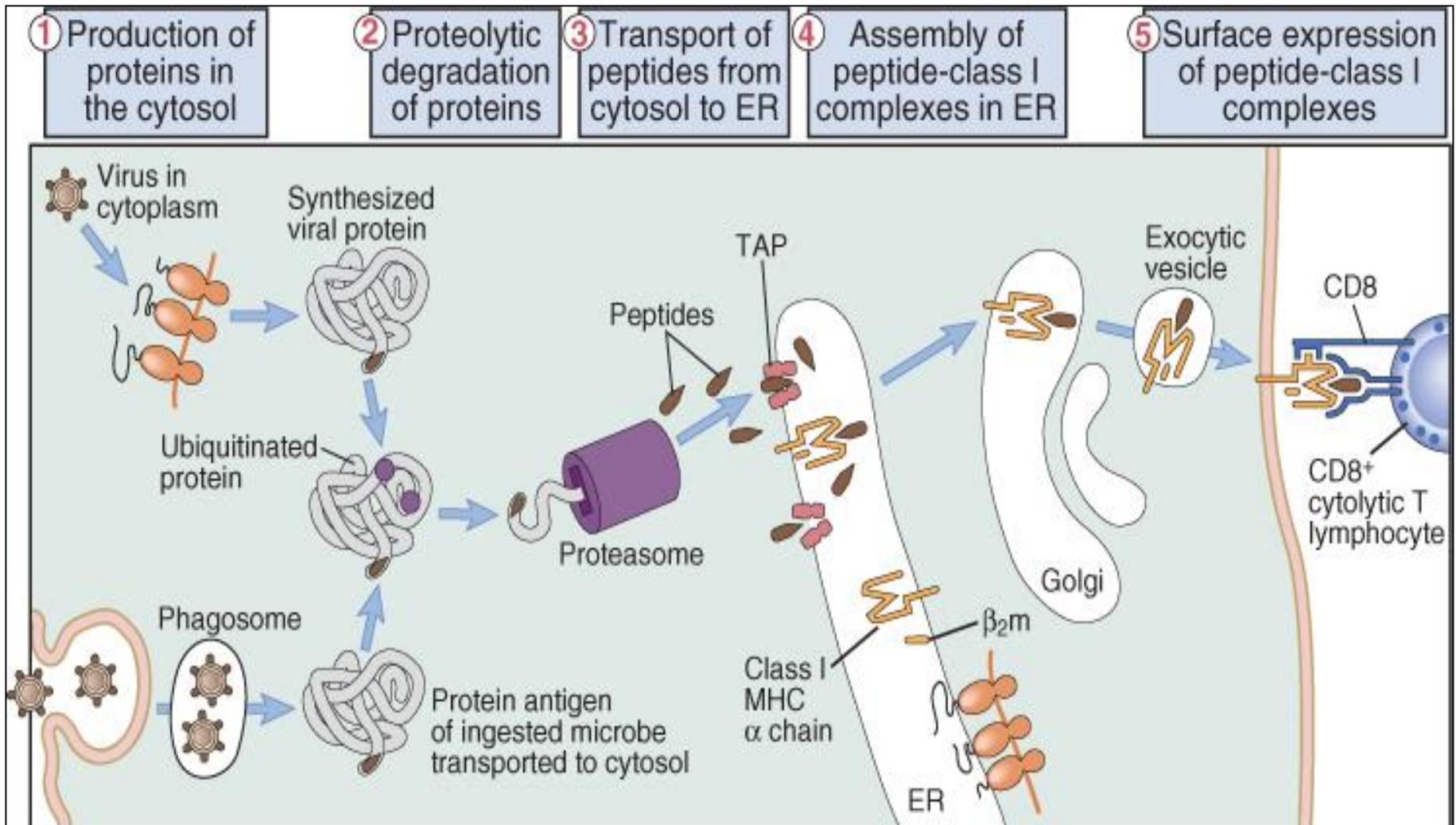
I linfociti T_H CD4 alle molecole di classe MHC II

A seconda della provenienza dell'antigene, intracellulare (endogeno) o extracellulare (esogeno), il sistema immunitario viene attivato in modo diverso

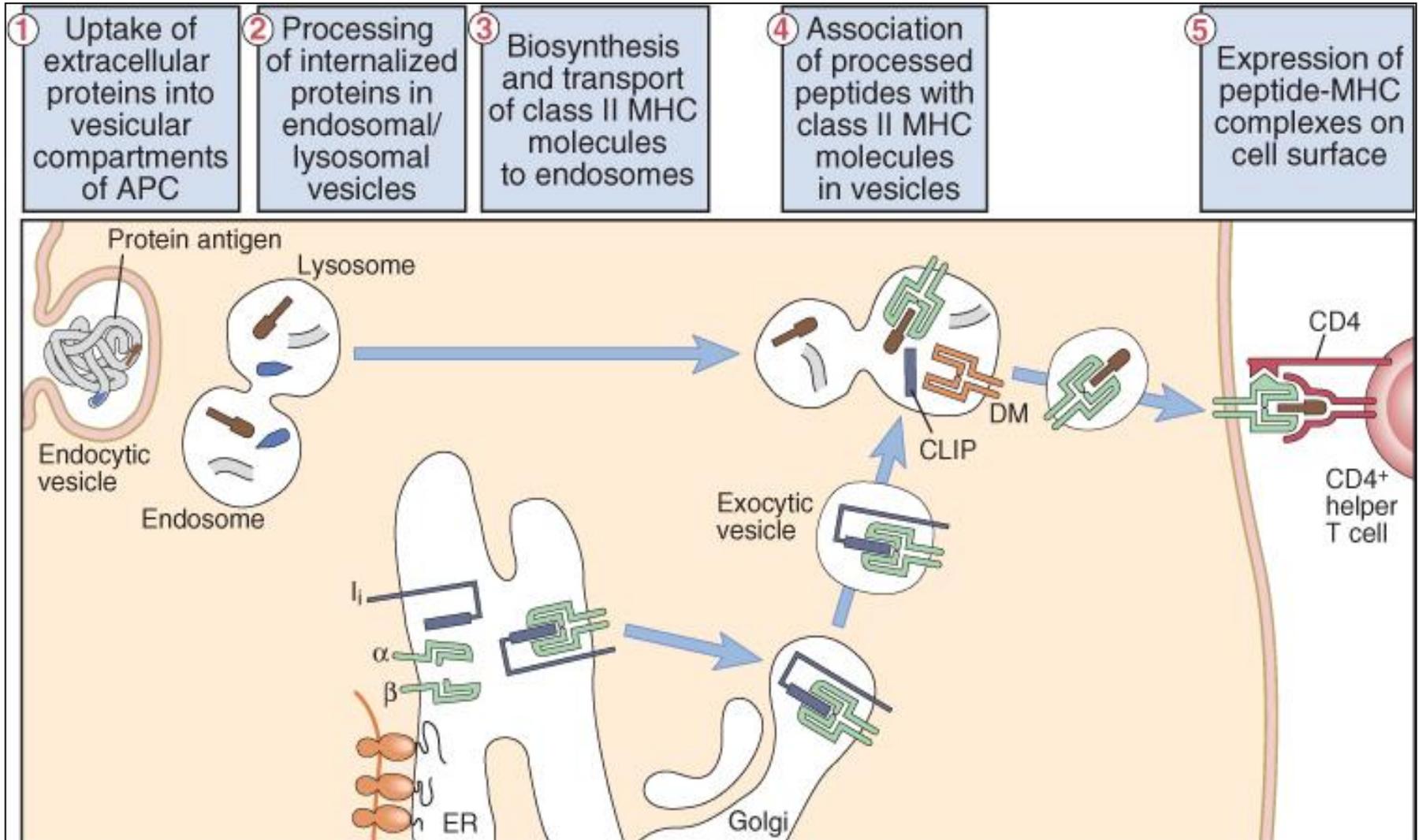
Antigeni esogeni: ciclo endocitico

Antigeni endogeni: ciclo citosolico

PRESENTAZIONE DELL'ANTIGENE DA PARTE DELL'MHC DI CLASSE I (ciclo citosolico)



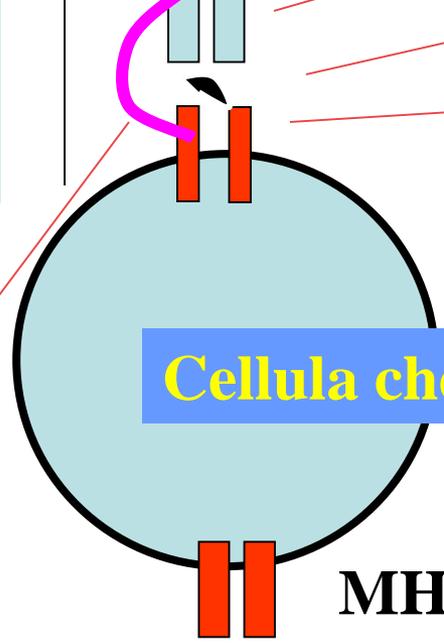
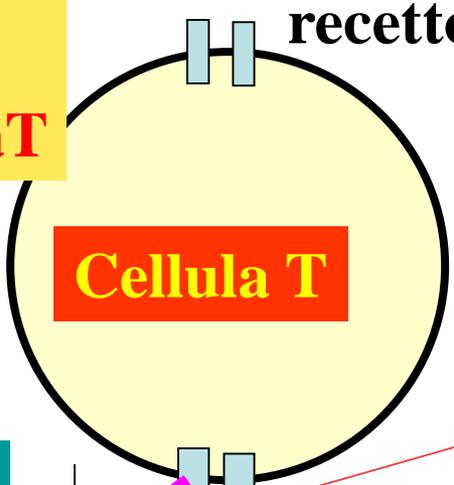
PRESENTAZIONE DELL'ANTIGENE DA PARTE DELL'MHC DI CLASSE II (ciclo endocitico)



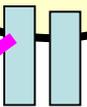
SCHEMA GENERICO

**Complesso
APC/MHC-pep/CellulaT**

**Complesso peptide
estraneo/recettore/
MHC**



recettore



recettore

Peptide estraneo

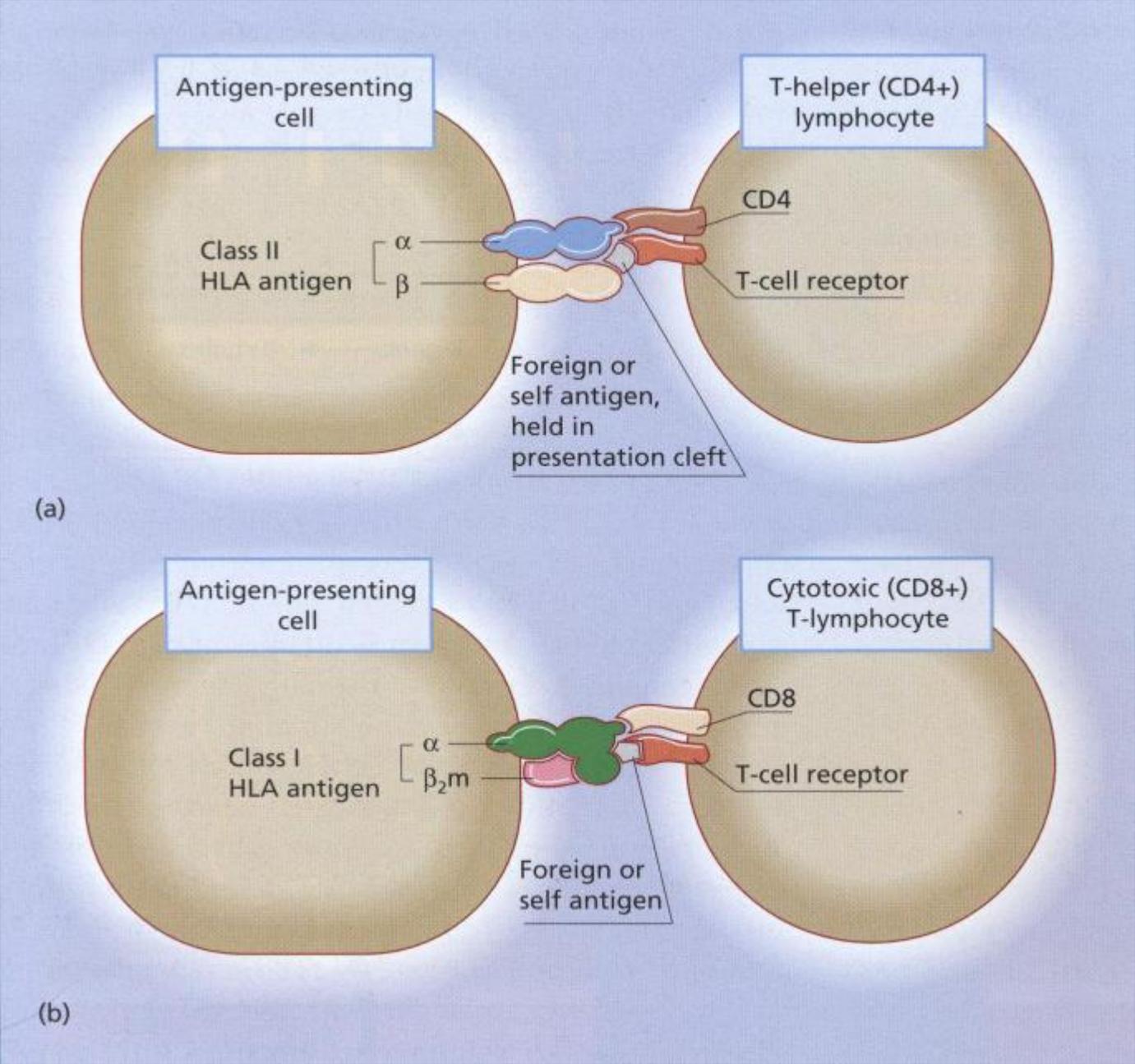
MHC (I o II)

CD4/8



MHC

Peptide estraneo



Caratteristiche di MHC

1. Le molecole MHC sono legate alla membrana. Il riconoscimento da parte dei linfociti T richiede il contatto cell-cell
2. Il peptide dal citosol si associa con l'MHC di classe I ed è riconosciuto dai linfociti T citotossici (CD8+).
3. Il peptide dal citosol si associa con l'MHC di classe II ed è riconosciuto dai linfociti T helper (CD4+).
4. C'è un alto grado di polimorfismo
5. Le cellule T mature dovrebbero avere un recettore (TcR) che riconosce il peptide associato con MHC
6. Ogni molecola MHC ha un unico sito di legame con il peptide. I differenti peptidi si possono legare allo stesso sito ma solo uno alla volta
7. Il polimorfismo MHC è determinato nella linea germinale. Non ci sono meccanismi ricombinazionali per generare la diversità
8. Poiché ogni molecola MHC può legare molti differenti peptidi, il legame è definito "degenerato"
9. Le citochine incrementano il livello di espressione dell'MHC
10. I geni allelici MHC sono CODOMINANTI. Ogni prodotto genico è espresso sulla superficie cellulare delle cellule nucleate di un individuo

Perché' esiste questo alto grado di polimorfismo ?

Per la sopravvivenza della specie

A cosa serve il sistema HLA?

Il suo ruolo è importante:

- nella risposta immunitaria
- **nei trapianti d'organo**
- nella predisposizione a malattie genetiche

HLA e trapianti d'organo

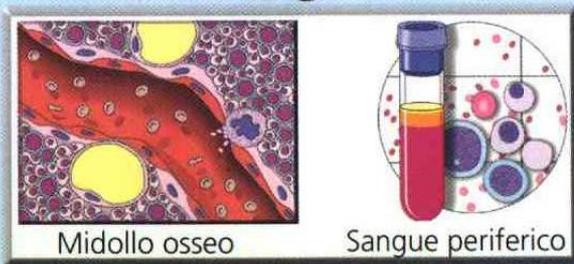
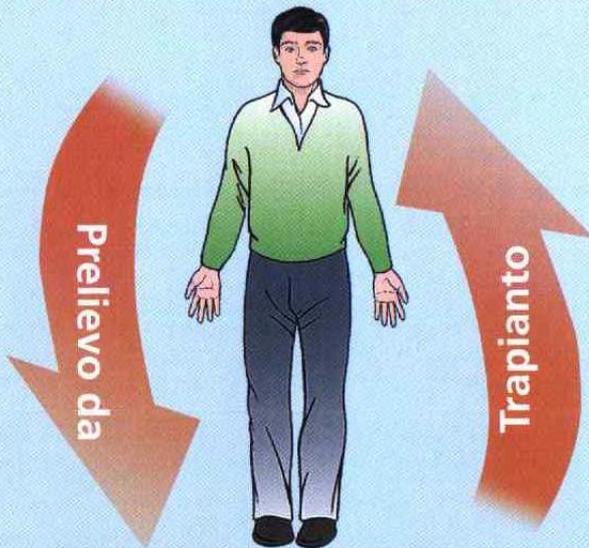
Per un trapianto di successo di un organo o di cellule staminali è necessario paragonare l'aplotipo MHC del donatore e del ricevente, che devono essere il più possibile simili.

Per trovare un buon “match” è necessario fare la tipizzazione tissutale dei linfociti.

Ogni cellula ha un doppio set di sei principali markers HLA, HLA-A, B e C e tre tipi di HLA-D.

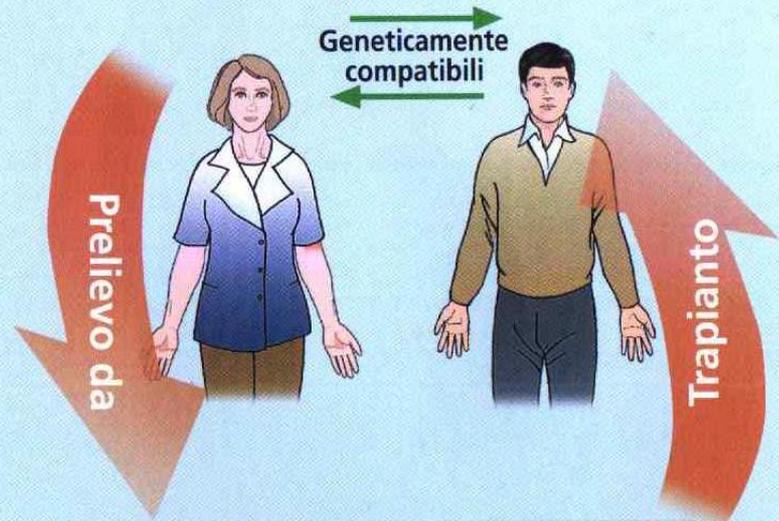
IL TRAPIANTO

TRAPIANTO AUTOLOGO



Il donatore è il paziente stesso

TRAPIANTO ALLOGENICO



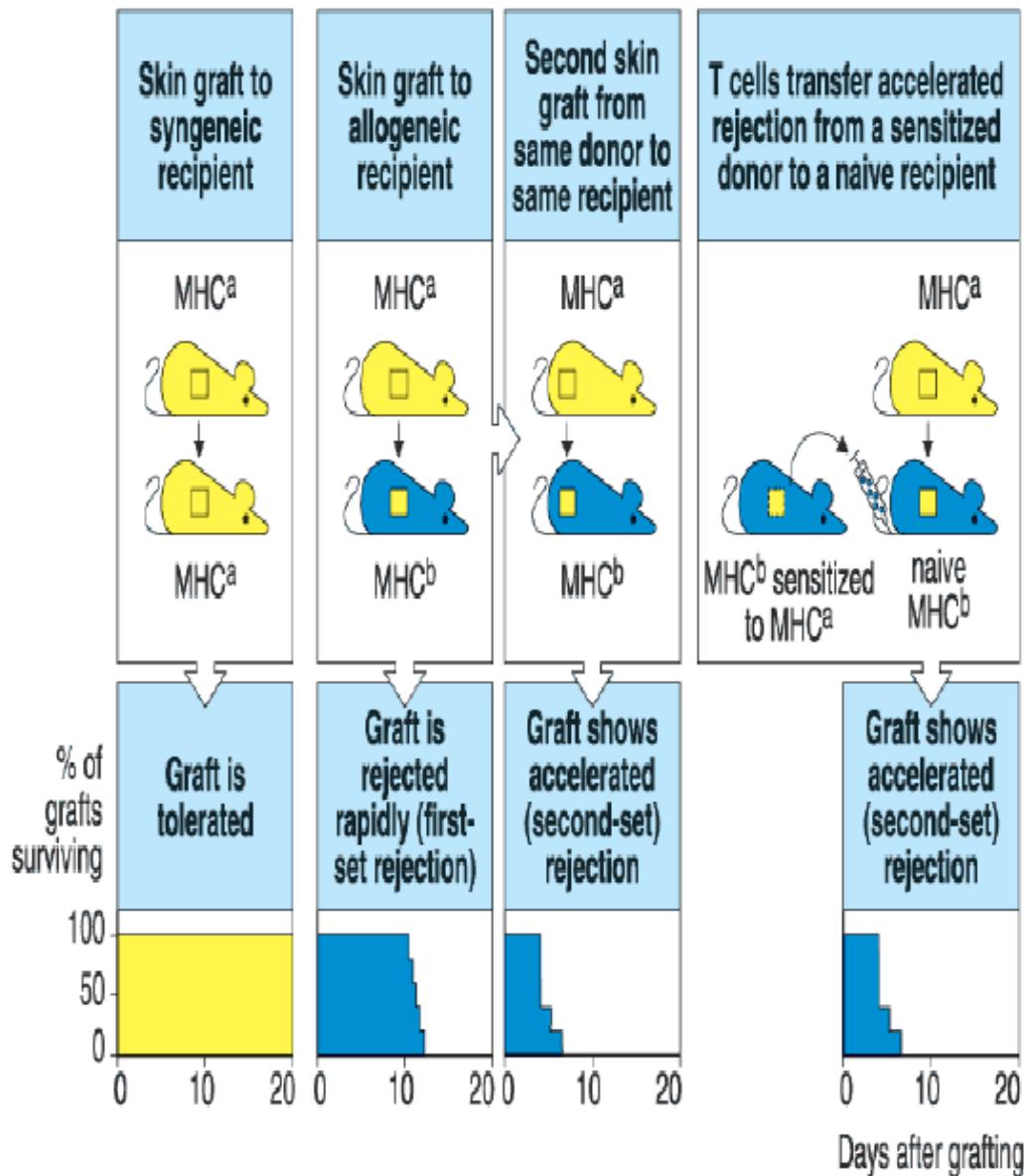
Il donatore è diverso dal paziente

Controlli pre-trapianto

- **Gruppo sanguigno**
- **Tipizzazione tissutale HLA** (anticorpi anti MHC)
- **Tipizzazione genomica HLA** (tramite PCR)
- **Cross-match o incrocio reciproco**: incubazione in presenza di complemento dei linfociti del donatore col siero del ricevente, se ci sono Ab preformati contro le molecole MHC del donatore si ha la lisi di queste cellule

La compatibilità HLA influenza:

- Attecchimento /rigetto
- Reazione di rigetto dell'ospite (GVHD)
- Reazione di “rigetto” del donatore contro le cellule leucemiche del ricevente (GVL)



Gli antigeni MHC causano il rigetto del Trapianto in **10-14 giorni.**

Al **secondo tentativo** il tempo necessario perché il rigetto si verifichi scende a **8 giorni.**

Le **Cellule T** sono implicate nel processo del Rigetto.

Fig 13.22 © 2001 Garland Science

Graft versus Host Disease Acuta cutanea



FIGURE 2. These photographs show a patient with severe acute graft-versus-host disease of the skin.

Trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT)

Sostituire cellule malfunzionanti:

- Difetti ematologici (talassemia major, anemia falciforme, anemia di Fanconi)
- Immunodeficienze congenite (SCID, CGD, etc)
- Malattie metaboliche

Sostituire e combattere cellule leucemiche

- Leucemie non responsive al trattamento farmacologico o con gravi fattori prognostici negativi

Sostituire cellule danneggiate dalla terapia (T. autologo)

- Tumori solidi (ad esempio Neuroblastoma ad alto rischio)

A cosa serve il sistema HLA?

Il suo ruolo è importante:

- nella risposta immunitaria
- nei trapianti d'organo
- **nella predisposizione a malattie genetiche**

Alcune malattie autoimmuni sono più frequenti in individui con particolari alleli MHC.

Associations of HLA serotype with susceptibility to autoimmune disease			
Disease	HLA allele	Relative risk	Sex ratio (♀:♂)
Ankylosing spondylitis	B27	87.4	0.3
Acute anterior uveitis	B27	10	<0.5
Goodpasture's syndrome	DR2	15.9	~1
Multiple sclerosis	DR2	4.8	10
Graves' disease	DR3	3.7	4-5
Myasthenia gravis	DR3	2.5	~1
Systemic lupus erythematosus	DR3	5.8	10-20
Type I insulin-dependent diabetes mellitus	DR3/DR4 heterozygote	~25	~1
Rheumatoid arthritis	DR4	4.2	3
Pemphigus vulgaris	DR4	14.4	~1
Hashimoto's thyroiditis	DR5	3.2	4-5

Fig 13.3

ASSOCIAZIONE HLA E MALATTIE

HLA class I associated disease	HLA	Relative Risk
Ankylosing spondylitis	B27	90
Reiter disease	B27	35
Psoriatic spondylitis	B27	12
Idiopathic hemochromatosis	A3	8
Psoriasis vulgaris	Cw6	13
Behçet disease	B51	16
HLA class II associated diseases	HLA	Relative risk
Rheumatoid arthritis	DR4	6
SLE	DRB1*1501	3
	DRB1*0301	3
Sjögren disease	DQB1*0201	12
IDDM	DR3	5
	DR4	6
	DR3/4	15
	DR2	0.2
Addison disease	DR3	6
Graves disease	DR3	3
Hashimoto disease	DQ7	5
Celiac disease	DR3	11
Pemphigus vulgaris	DR4	25
Hodgkin disease	DPw2	0.1
Multiple sclerosis	DRB1*1501	6
	DQB1*0602	6
Narcolepsy	DRB1*1501	29
Myasthenia gravis	DR3	7

HLA e malattie autoimmuni

Alcuni loci HLA sono associati con malattie autoimmuni:

- **Artrite reumatoide:** [HLA DR4](#) (RR=4). E' una poliartrite infiammatoria cronica, anchilosante e progressiva a patogenesi autoimmunitaria e ad eziologia sconosciuta, a carico delle articolazioni sinoviali.



- **Lupus eritematosus sistemico:** [HLA-DR2/DR3](#) (RR=5). E' una malattia cronica di natura autoimmune, che può colpire diversi organi e tessuti del corpo.

- **Spondilite anchilosante:** [HLA-B27](#) (RR=90). E' inserita nel gruppo delle Malattie Reumatiche Infiammatorie Croniche e Autoimmuni.



- **Celiachia:** [HLA DQ2 e DQ8](#). E' una malattia autoimmune dell'intestino tenue, che si verifica in individui di tutte le età, geneticamente predisposti.

HLA e malattie

L'associazione di un dato allele con la malattia si esprime in termini di **RISCHIO RELATIVO**

Il **RISCHIO RELATIVO** misura l'incremento di frequenza di presentazione di una malattia negli individui con un determinato allele rispetto a quelli senza l'allele stesso

In generale un **RISCHIO RELATIVO** maggiore di 1 indica l'associazione tra l'allele e la malattia.

Più alto è il rischio relativo maggiore è l'associazione

Rischio Relativo e Malattie Autoimmuni

Il Rischio Relativo (RR) è calcolato in base al n. di pazienti e di controlli che presentano un determinato allele HLA:

	allele HLA		
	+	-	
Pazienti	a	b	
Controlli	c	d	$RR = axd / bxc$

$RR = 1$ no associazione;

$RR > 1$ rischio positivo;

$RR < 1$ protezione

Popolazione sana 5/100 (controllo)

Popolazione malata 90/100 (malattia)

RISCHIO RELATIVO (RR) è calcolato dividendo la frequenza dell'allele HLA nella popolazione malata rispetto alla frequenza dello stesso allele nella popolazione generale (sana).

$$RR = \frac{(\text{Ag+}/\text{Ag-}) \text{ disease}}{(\text{Ag+}/\text{Ag-}) \text{ control}} = \frac{(90/10)}{(5/95)} = 171$$

ASSOCIAZIONE HLA E MALATTIE

HLA class I associated disease	HLA	Relative Risk
Ankylosing spondylitis	B27	90
Reiter disease	B27	35
Psoriatic spondylitis	B27	12
Idiopathic hemochromatosis	A3	8
Psoriasis vulgaris	Cw6	13
Behçet disease	B51	16
HLA class II associated diseases	HLA	Relative risk
Rheumatoid arthritis	DR4	6
SLE	DRB1*1501	3
	DRB1*0301	3
Sjögren disease	DQB1*0201	12
IDDM	DR3	5
	DR4	6
	DR3/4	15
	DR2	0.2
Addison disease	DR3	6
Graves disease	DR3	3
Hashimoto disease	DQ7	5
Celiac disease	DR3	11
Pemphigus vulgaris	DR4	25
Hodgkin disease	DPw2	0.1
Multiple sclerosis	DRB1*1501	6
	DQB1*0602	6
Narcolepsy	DRB1*1501	29
Myasthenia gravis	DR3	7

HLA e malattie autoimmuni

Alcuni loci HLA sono associati con malattie autoimmuni:

- **Artrite reumatoide:** [HLA DR4](#) (RR=4). E' una poliartrite infiammatoria cronica, anchilosante e progressiva a patogenesi autoimmunitaria e ad eziologia sconosciuta, a carico delle articolazioni sinoviali.



- **Lupus eritematosus sistemico:** [HLA-DR2/DR3](#) (RR=5). E' una malattia cronica di natura autoimmune, che può colpire diversi organi e tessuti del corpo.

- **Spondilite anchilosante:** [HLA-B27](#) (RR=90). E' inserita nel gruppo delle Malattie Reumatiche Infiammatorie Croniche e Autoimmuni.



- **Celiachia:** [HLA DQ2 e DQ8](#). E' una malattia autoimmune dell'intestino tenue, che si verifica in individui di tutte le età, geneticamente predisposti.

Che cosa è la celiachia ?

- **Definizione 1**

La celiachia è un' intolleranza al glutine geneticamente determinata

- **Definizione 2**

La celiachia è una condizione **permanente** di danno intestinale indotto dall'ingestione, in soggetti **geneticamente predisposti**, di alcune proteine, definite **prolamine**, contenute nel grano, nell'orzo e nella segale

Concetto importante :

la celiachia è una condizione definitiva , che si cura ma da cui non si guarisce e pertanto

DURA PER TUTTA LA VITA

Frequenza della celiachia

- In passato fra $1/4000$ e $1/1000$ nati vivi
- Attualmente $1/100$ - $1/150$ nati vivi
- Recenti studi $1/100$ - $1/70$ nati vivi

Eziopatogenesi della celiachia

Intolleranza al glutine



alterazioni
immunologiche

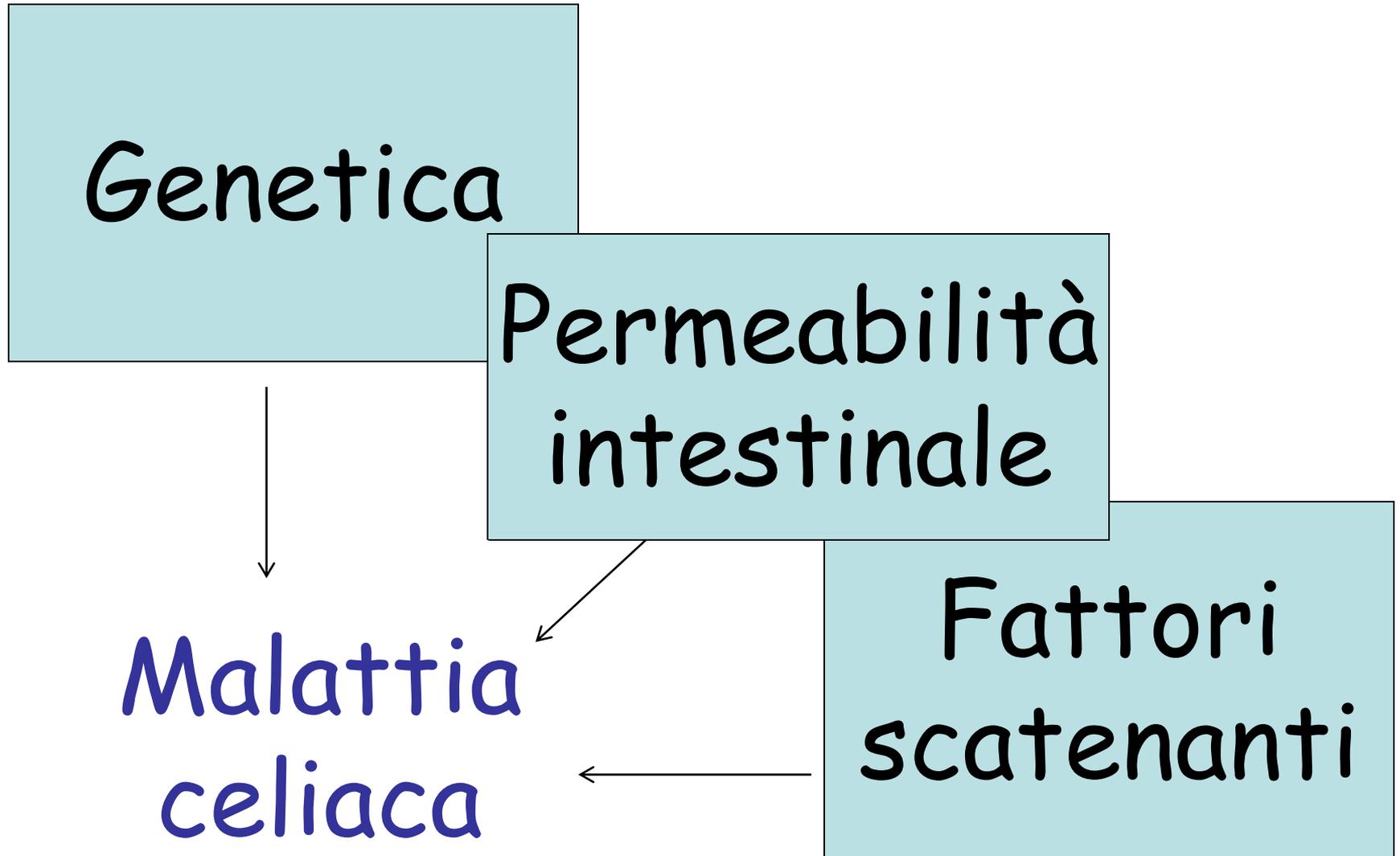
manifestazioni della
malattia



Il disturbo della tolleranza immunologica è specificamente limitato al glutine

E' un processo mediato dai T-Linfociti con produzione di anticorpi specifici (AGA, EMA, TTG)

Le cause della malattia celiaca:



La genetica della celiachia

- Marcatore genetico della **predisposizione** alla celiachia è il sistema HLA
- I soggetti predisposti alla celiachia hanno un sistema HLA particolare
- Posseggono i geni denominati DQ2 e/o DQ8
- A contatto con il glutine producono un auto-anticorpo (Transglutaminasi Tissutale)

La genetica della celiachia

HLA DQ2 e DQ8

Assenti = nessuna malattia

Presenti = malattia possibile

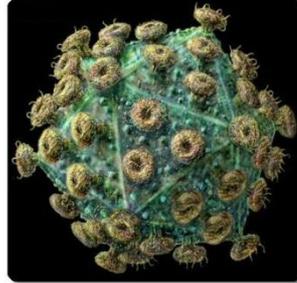
DQ2 e/o DQ8 presenti senza malattia

- Il 30% della popolazione generale
- il 60-70% dei parenti di primo grado

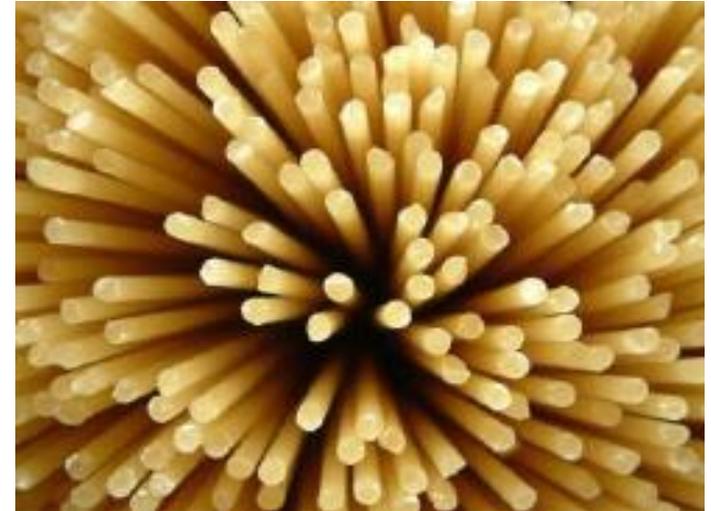
I fattori scatenanti

Sono numerosi e in parte ancora sconosciuti. Sicuro ruolo di :

- Infezioni



- Quantità di glutine nella dieta
- Qualità del glutine della dieta
 - Tipo di dieta



- Alimentazione prima infanzia

Spettro celiachia

Forma classica: Prevalente o esclusiva sintomatologia intestinale. Esordio nei primi due anni di vita

Forma atipica: Prevalenza di sintomi extraintestinali
mancanza di diarrea

Forma silente: Presenza di lesioni della mucosa intestinale tipiche della malattia in assenza di sintomatologia clinica. Dimostrata dallo screening dei familiari di pazienti celiaci di primo grado asintomatici

Forma latente: Malattia presente ma non ancora manifesta

DIAGNOSI

- Ricerca di anticorpi specifici:
 - Anticorpi anti-endomisio (EMA)
 - Anticorpo anti-transglutaminasi tissutale 2 (anti-TG2)
 - Anticorpi anti-peptidi della gliadina deamidati (anti-DGP).

- Tipizzazione HLA- DQ2 e HLA- DQ8
 - la negatività esclude la presenza di celiachia
 - la positività conferma la diagnosi nel 98% dei celiaci

- Biopsia enterica



Mucosa normale



Mucosa celiaca

L'eliminazione del glutine:

- rapida risoluzione dei sintomi clinici
- normalizzazione della mucosa intestinale

Cereali che contengono glutine

- Frumento
- Orzo
- Segale
- Farro
- Triticale

Cereali che non contengono glutine

- Riso
- Granturco/Mais
- Soia

Terapia

L'eliminazione del glutine

```
graph TD; A[L'eliminazione del glutine] --> B[rapida risoluzione dei sintomi clinici]; A --> C[normalizzazione della mucosa intestinale];
```

rapida risoluzione
dei sintomi clinici

normalizzazione della
mucosa intestinale

La dieta priva di glutine deve essere
proseguita **per tutta la vita**

Gratuità dei prodotti dietetici senza glutine

Il decreto legge 8 Giugno 2001 autorizza i pazienti affetti da Malattia Celiaca ad usufruire gratuitamente dei prodotti del commercio privi di glutine nella quantità pari al 35% del loro fabbisogno calorico totale giornaliero per sesso ed età



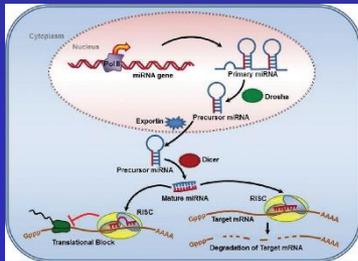
Università di Ferrara
Corso di Laurea in Medicina e Chirurgia
Corso di Genetica e Biologia
Primo anno
AA 2015-2016



I microRNA: il loro geni e i loro target

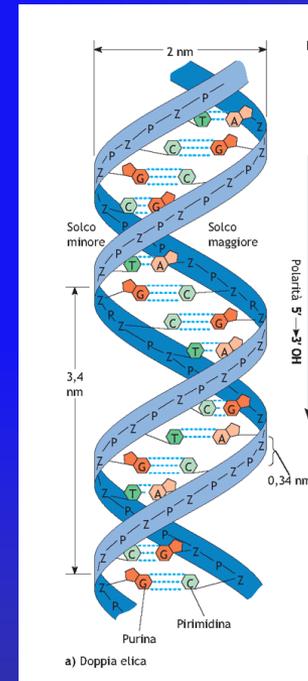
Dott. Ilaria Bononi

8 Aprile 2016

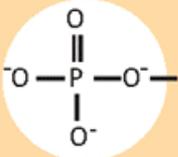
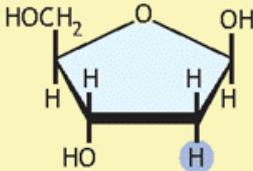
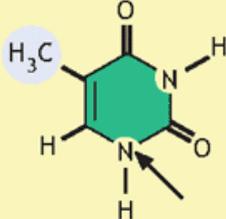
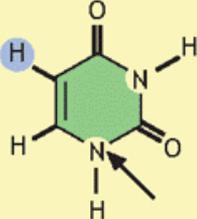
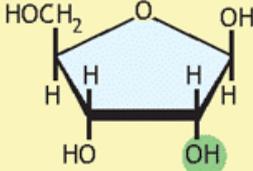
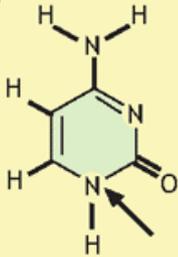


...ma prima di parlare dei miRNA vediamo alcuni cenni di biologia molecolare:

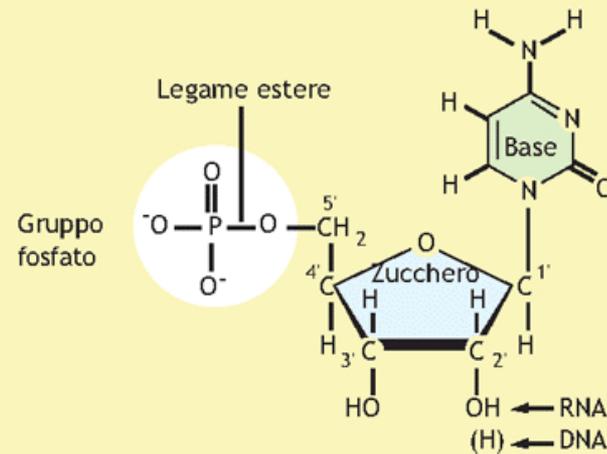
Gli acidi nucleici
Nucleotidi
DNA ed RNA
Appaiamento delle basi
Direzionalit 



Il nucleotide

Gruppo fosfato	Zuccheri	Basi		
		Purine	Pyrimidine	
	 <p>β-D-desossiribosio (nel DNA)</p>	 <p>Adenina (A)</p>	 <p>Timina (T) (nel DNA)</p>	 <p>Uracile (U) (nell'RNA)</p>
	 <p>β-D-ribosio (nell'RNA)</p>	 <p>Guanina (G)</p>	 <p>Citosina (C)</p>	

Nucleotide



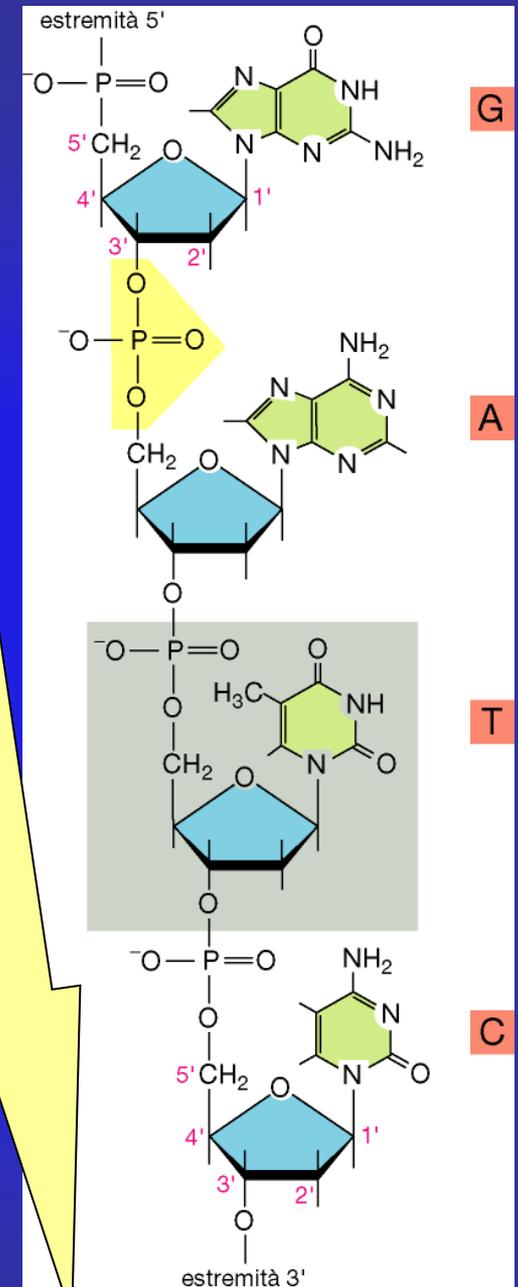
Il legame fosfodiester

Le catene di acido nucleico vengono sintetizzate a partire da nucleotidi trifosfato ricchi di **energia**, tramite una reazione di **condensazione** che libera pirofosfato inorganico, mentre si forma il legame fosfodiester

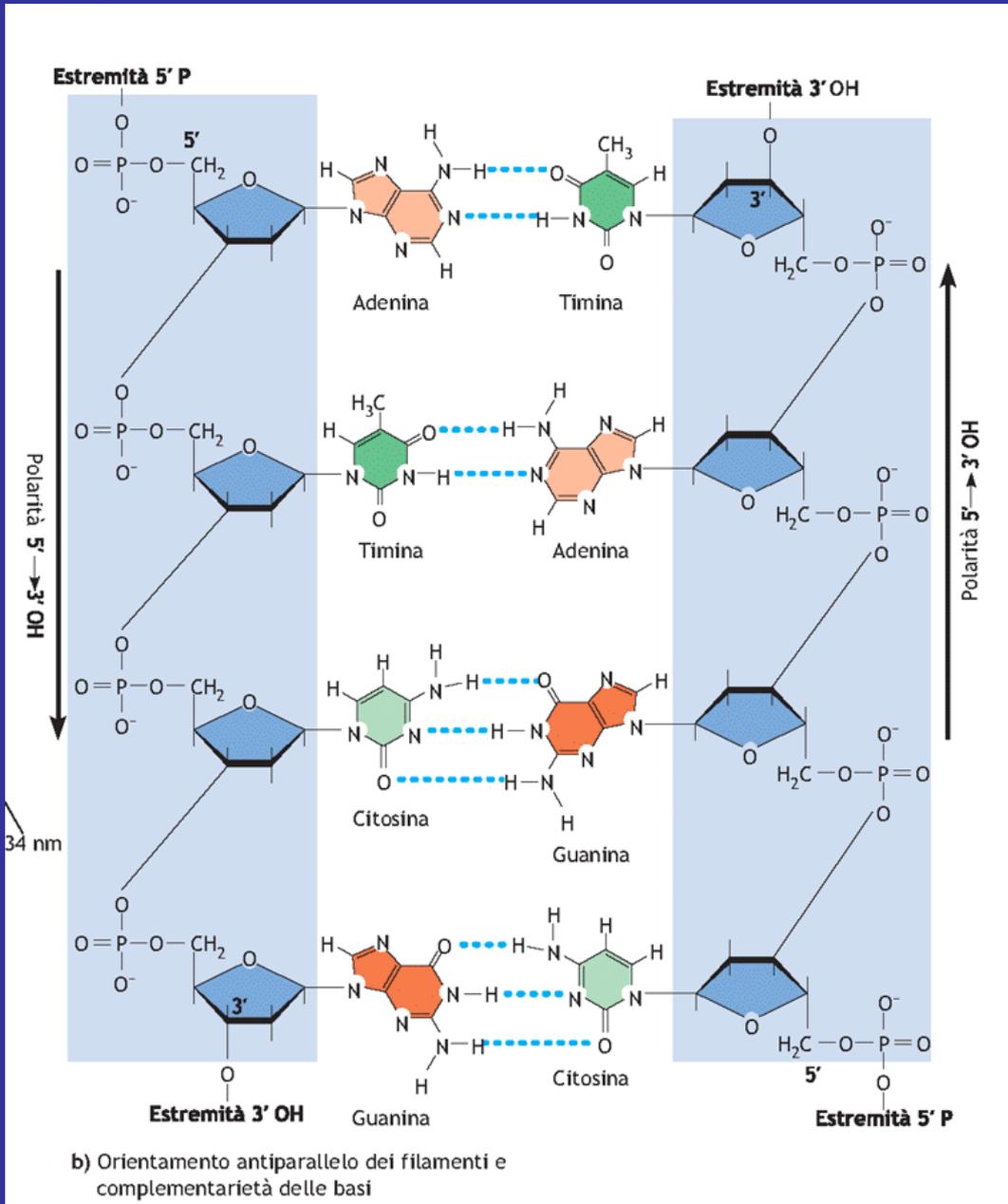
Molecole direzionali

Gli acidi nucleici hanno una precisa direzionalità, cioè una polarità strutturale:

- Gli acidi nucleici sono sintetizzati dal 5' al 3'
- la sequenza nucleotidica viene scritta nello stesso ordine



DNA: eliche antiparallele



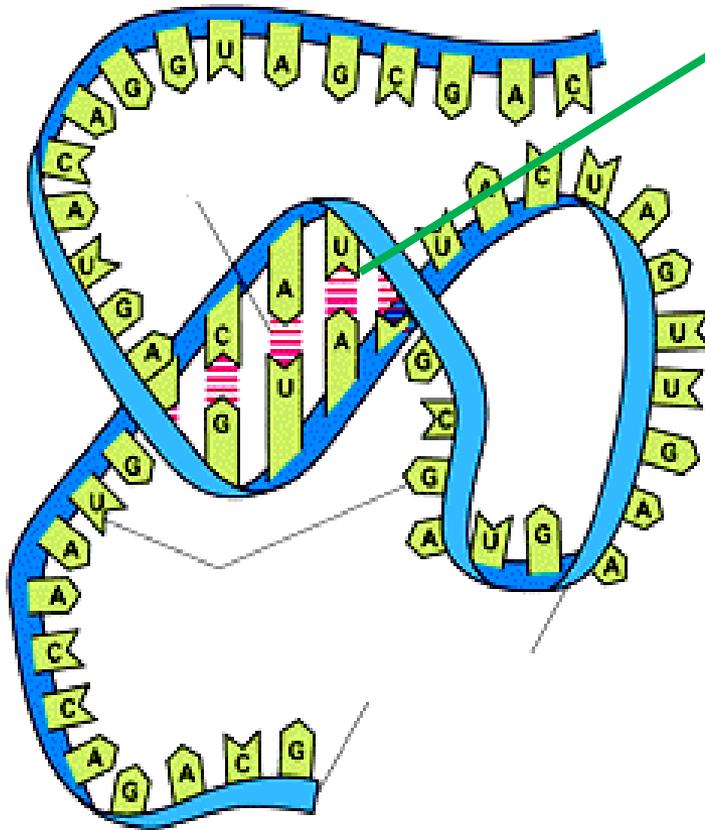
Le 2 singole eliche sono antiparallele, questo significa che le eliche corrono in direzioni opposte avendo entrambe la stessa polarità:

5'P → 3'OH

Struttura degli acidi nucleici

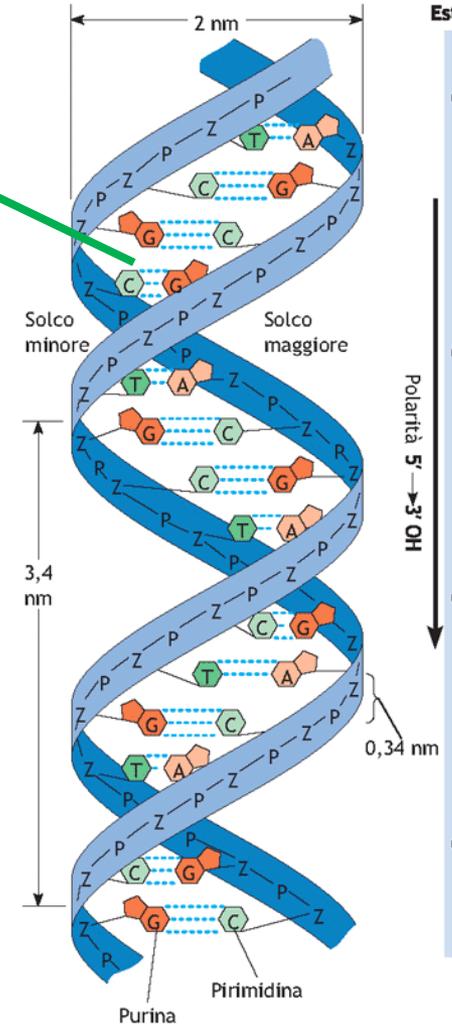
RNA

DNA



Appaiamento delle basi

Singola catena

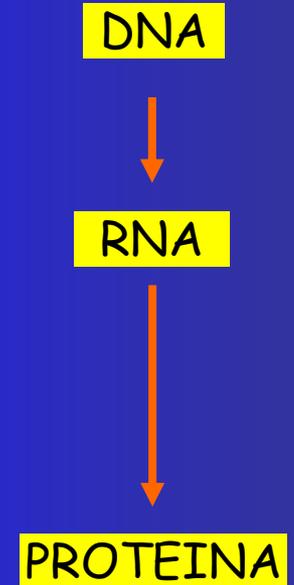
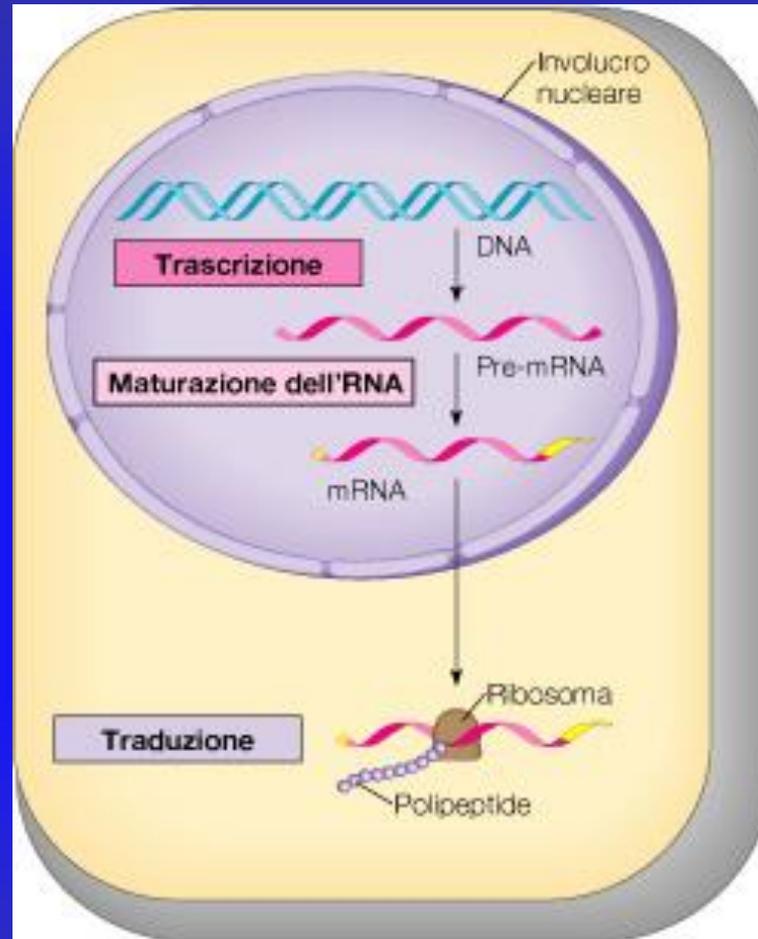


a) Doppia elica

Doppia catena

Flusso dell'informazione genetica - Dogma centrale

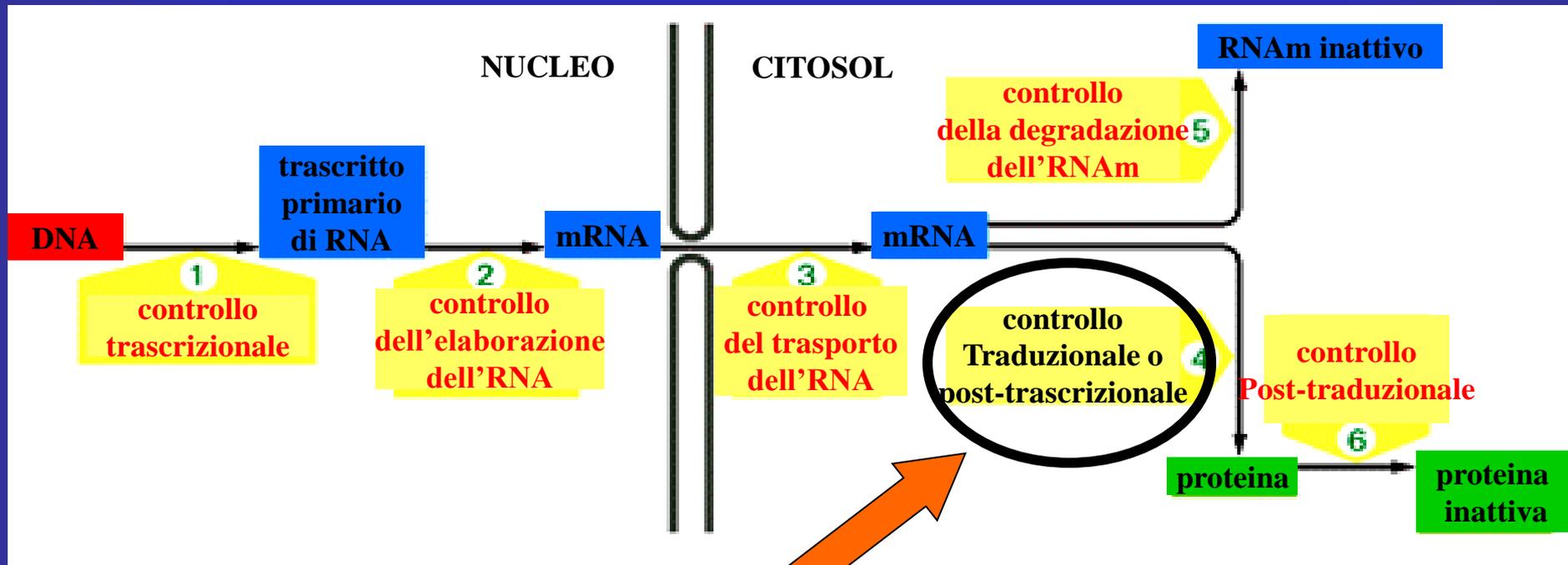
Quando la cellula ha bisogno di una particolare proteina, la sequenza nucleotidica di un preciso tratto di DNA, situato sulla infinitamente lunga molecola di un cromosoma, viene inizialmente ricopiata ad RNA che farà da stampo per dirigere la sintesi delle proteine



Dogma centrale della biologia molecolare:

L'informazione genetica fluisce continuamente dal DNA all'RNA alle proteine

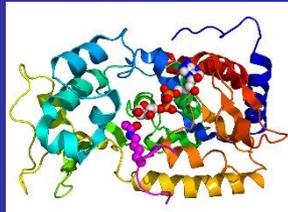
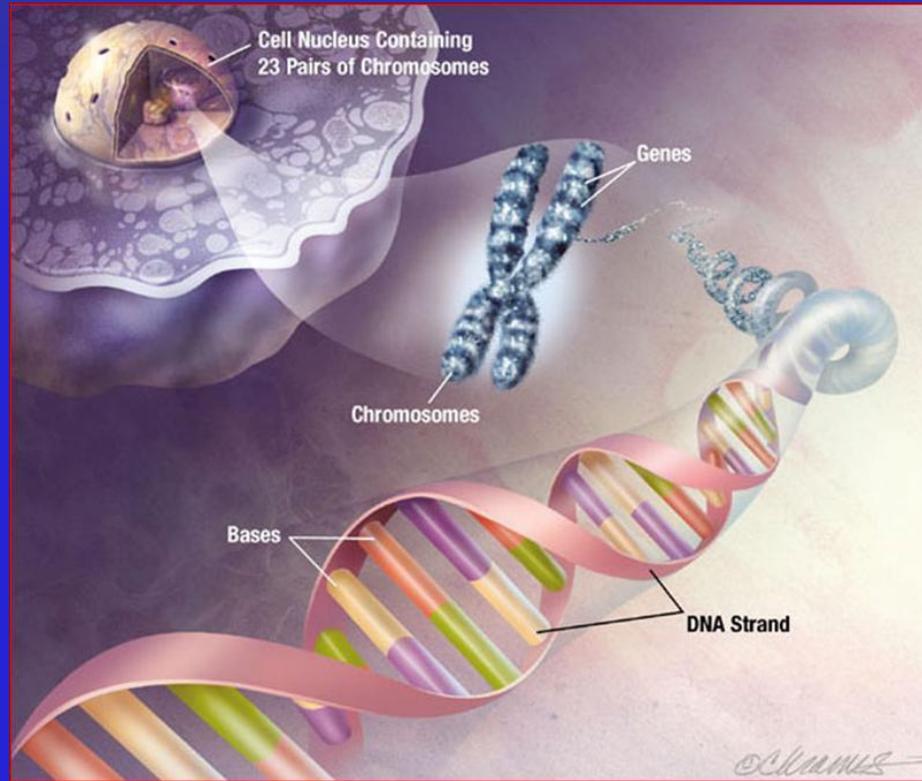
Il controllo dell'espressione dei geni negli eucarioti



L'espressione genica può essere regolata in più punti del percorso che conduce dal DNA all'RNA e quindi alle proteine

Flusso dell'informazione genetica

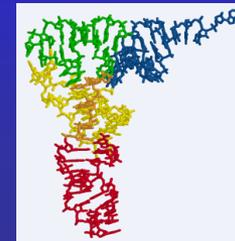
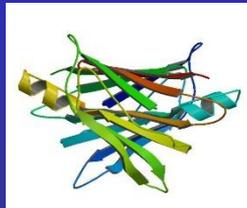
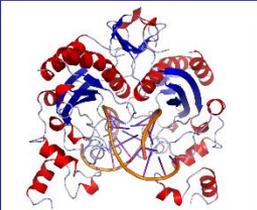
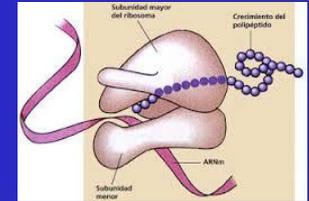
Stima del numero
di geni presenti
sul genoma
umano:
50 000 geni



Proteine

Prodotti genici

RNA



...ma non solo...

RNA: una molecola per molteplici funzioni

Classici RNA coinvolti nella sintesi proteica:

mRNA	RNA messaggero
rRNA	RNA ribosomiale
tRNA	RNA transfert

RNA coinvolti in duplicazione, compattamento, splicing, maturazione dell'RNA e sorting proteine:

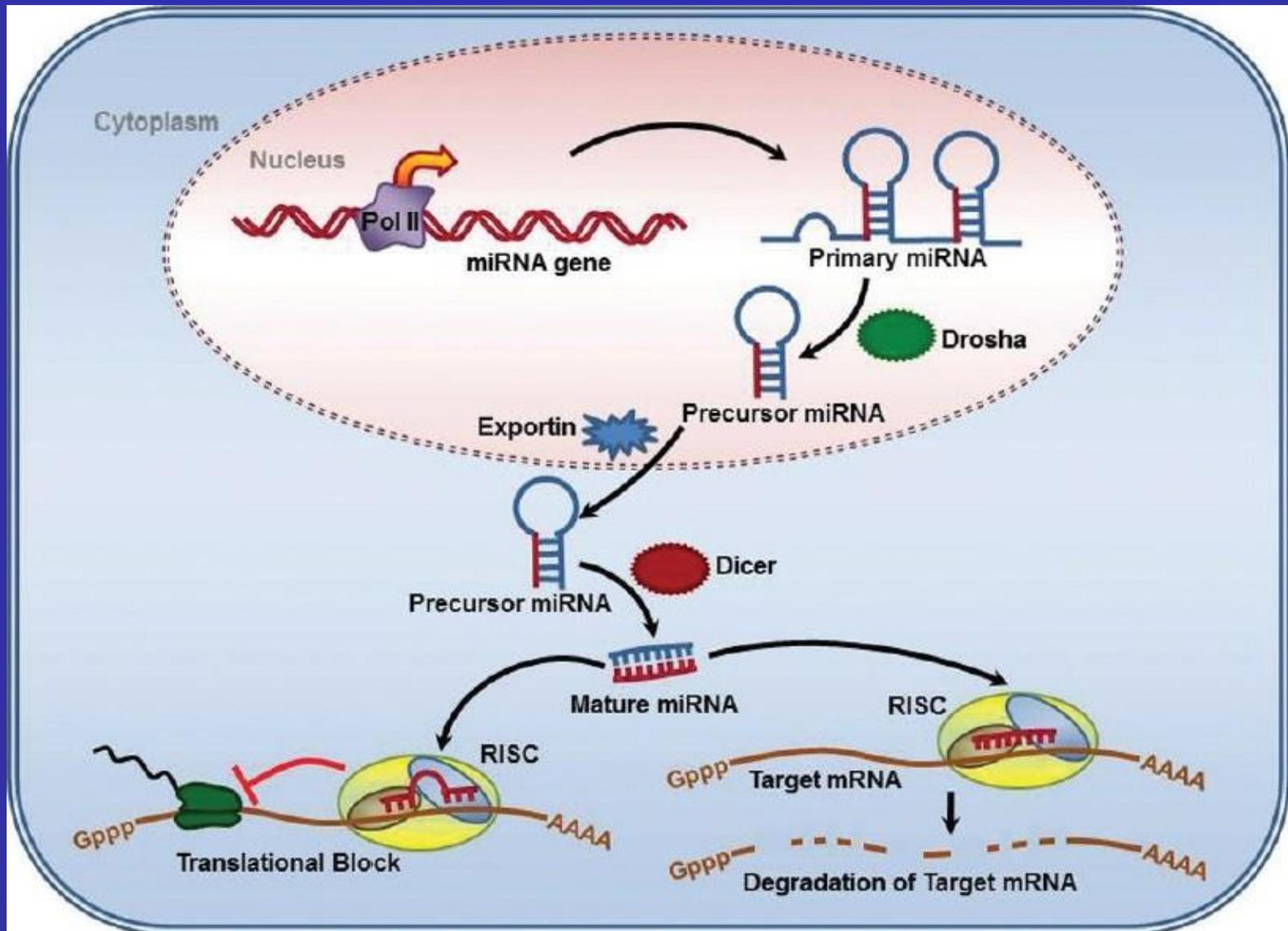
TERC <i>(Telomerase RNA component)</i>	Coinvolto nella duplicazione del DNA
Xist <i>(X inactive-specific transcript)</i>	Coinvolto nella formazione del corpo di Barr
snRNA <i>(small nuclear RNA)</i>	Coinvolti nello splicing
snoRNA <i>(small nucleolar RNA)</i>	Coinvolti nella maturazione dell'rRNA
scRNA <i>(small cytoplasmic RNA)</i>	Coinvolti nel sorting delle proteine

RNA: una molecola per molteplici funzioni

RNA non codificanti coinvolti nel controllo dell'espressione genica:

miRNA <i>(micro-RNA)</i>	Regolano negativamente l'espressione genica
siRNA <i>(Small interfering RNA)</i>	Piccoli RNA sintetizzati chimicamente o di origine virale (<u>invece i miRNA sono endogeni!</u>) Hanno la funzione di degradare l'mRNA bersaglio attraverso un meccanismo definito RNA interference (RNAi) Agiscono solo per complementarità perfetta: ogni siRNA può avere un unico mRNA bersaglio (<u>invece i miRNA possono avere più bersagli!</u>)
piRNA <i>(PiwiRNA)</i>	Generati da lunghi precursori ssRNA agiscono grazie alla proteina piwi (Ago) e sono coinvolte nello sviluppo delle cellule germinali
rasiRNA <i>(repeat associated small interfering RNA)</i>	Sottofamiglia dei piRNA, ma ancora tutta da scoprire
ncRNA <i>(longer non-coding RNA)</i>	70-5000 nt: funzione sconosciuta

MicroRNA

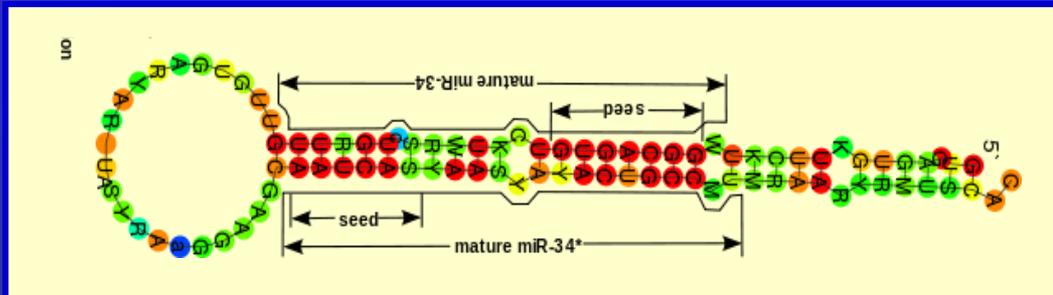


Cosa sono i MicroRNA o miRNA?

I microRNA sono un gruppo di piccoli RNA non codificanti a singolo filamento (ss) che sono stati identificati in molti organismi

Sono formati da 18-22 nucleotidi

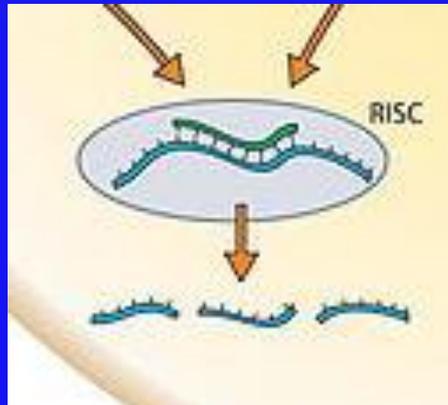
Sono originati da un precursore a stem-loop



Funzione dei microRNA

Il loro ruolo fondamentale è quello di

regolare negativamente l'espressione genica
a livello post-trascrizionale
(post-transcriptional gene silencing, PTGS)



I miRNA agiscono mediante il riconoscimento di specifici mRNA targets al fine di determinarne la degradazione o la repressione della traduzione.

- La funzione di molti miRNA non è nota, ma per alcuni è stata provata la partecipazione a processi fisiologici e patologici:
- Hanno un ruolo in proliferazione, apoptosi e differenziazione cellulare.
- Possono essere deregolati in malattie umane
- Possono essere coinvolti nella tumorigenesi.



Conservazione dei miRNA

Table II. **miRNAs conserved across phyla**

Name	Sequence ¹	Homologues ²
miR-1	UGGAAUGUAAAGAAGUAUGGAG	C, D, H
miR-2	UAUCACAGCCAGCUUUGA(G/U)G(U/A)GC ³	C, D
miR-7	UGGAAGACUAGUGAUUUUGUUGU	D, H
miR-34	AGGCAGUGUGGUUAGCUGGUUG	C, D, H
miR-60	UAUUAUGCACAUUUUCUAGUUCA	C, D, H
miR-79	AUAAAGCUAGGUUACCAAAGCU	C, D
miR-84	UGAGGUAGUAUGUAAUAUUGUA	C, D, H
miR-87	GUGAGCAAAGUUUCAGG(U/A)GU ³	C, D, H

¹RNA sequences are deduced from cDNA sequencing; no RNAs have yet been sequenced.

²C, *C. elegans*; D, *D. melanogaster*; H, *H. sapiens*.

³Letters in parentheses indicate variations in otherwise identical miRNAs from different organisms or variant genes within one organism.

Scoperta dei miRNA



Tappe della scoperta dei miRNA:

Chalfie, 1981;

Ambros, 1989;

Ruvkun, 1991

Lee, 1993

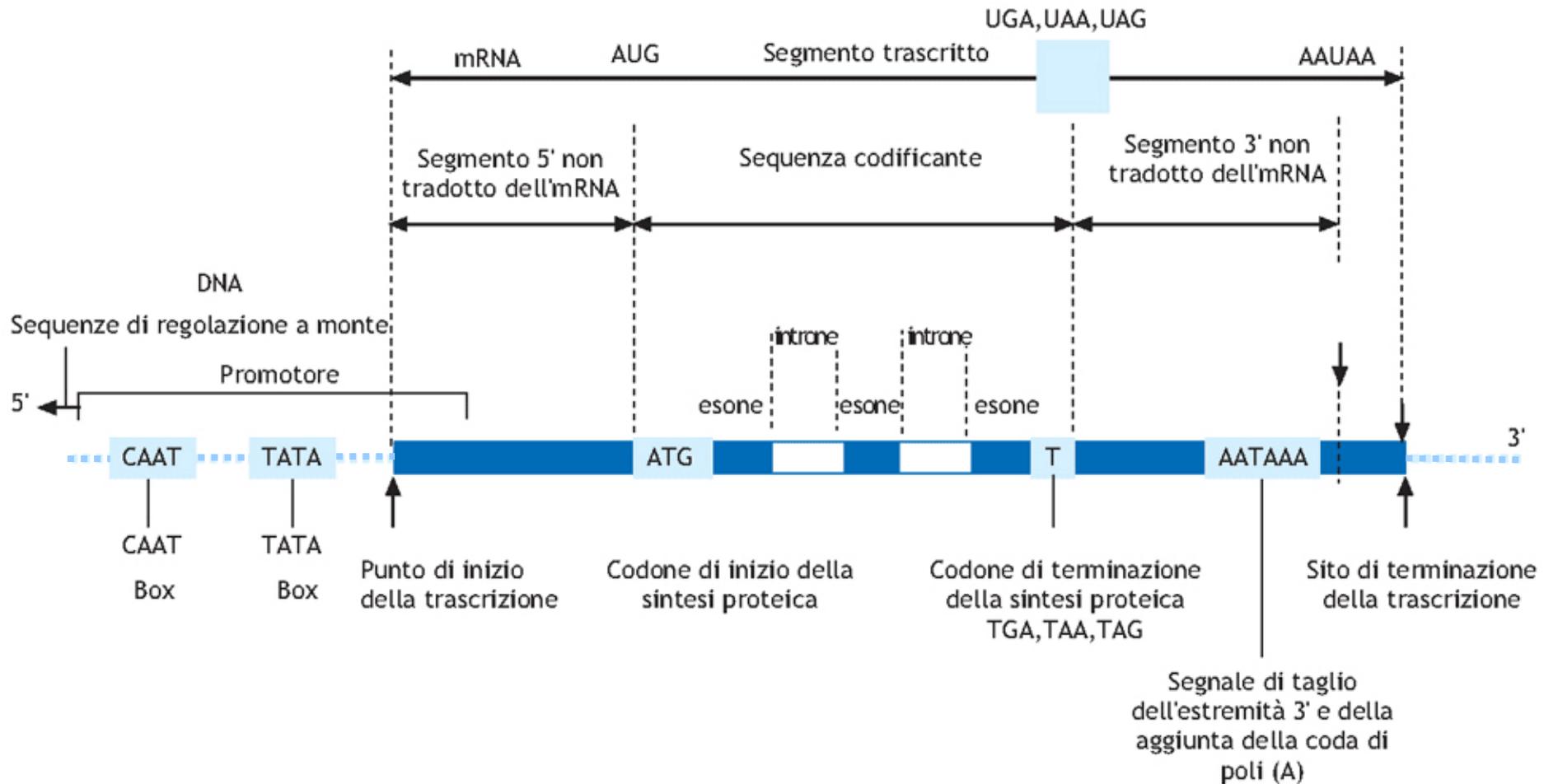
Wightman, 1993

Reinhart, 2000

2001: Dimostrata l'esistenza di una grande nuova classe di RNA con un potenziale ruolo regolativo (miRNA)

- sono una nuova abbondante classe di riboregolatori che possono regolare l'espressione genica a livello post-trascrizionale attraverso l'appaiamento delle basi nel 3'UTR dell'mRNA target.

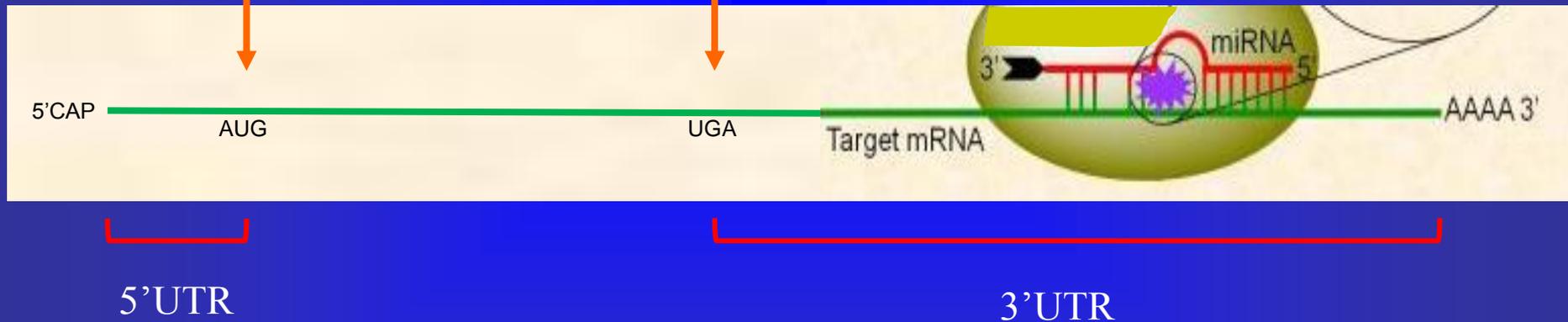
Come si legge un gene



Il microRNA agisce mediante l'appaiamento delle basi nel 3'UTR dell'mRNA target

Codone di inizio della traduzione

Codone di fine della traduzione

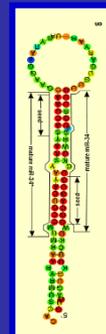




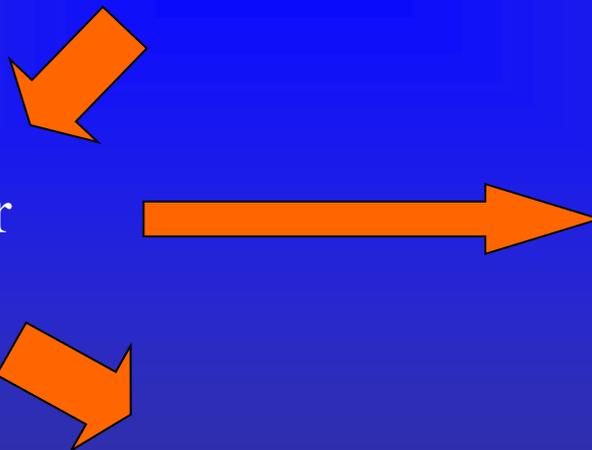
The miRNA Registry: miRBase

Nel 2003 è stato creato un miRNA database: in base alle seguenti osservazioni:

1. I miRNA sono prodotti da un trascritto precursore di 70-100 nt con un struttura a stem-loop
2. I miRNA sono altamente conservati tra le specie
3. I miRNA hanno un pattern caratteristico di divergenza nell'evoluzione



Approccio di
bioinformatica per
predire i miRNA



e poi molti sono stati confermati con northern blot e PCR



Stima del numero di miRNA

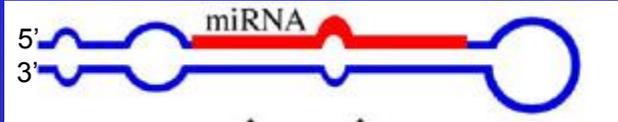
La stima della quantità di miRNA nel genoma è vicina all'1%



simile a quella di altre grandi famiglie geniche con ruolo regolatorio, come quelle che codificano per i fattori di trascrizione

Ad oggi sono stati scoperti circa 2000 miRNA

Nomenclatura

ESEMPIO	NOMENCALTURA
miR-15	I miRNA sono identificati con un numero
miR-16	Il prossimo miRNA senza somiglianza viene chiamato con i numero successivo MiRNA omologhi in organismi diversi vengono chiamati con lo stesso nome
miR-16-1 e miR-16-2	Forme mature identiche ma che vengono prodotte da loci diversi vengono indicate con lo stesso nome, ma con un suffisso
miR-181a e miR-181b	Differenze in 1 o 2 basi vengono indicati con un suffisso
miR-142-5p (sul braccio in 5') e miR-142-3p (sul braccio in 3')	Se un precursore a stem-loop dà origine a 2 miRNA, uno per ogni braccio vengono chiamati con il seguente suffisso: 
miR-191*	La forma meno espressa può essere indicata con un asterisco

Genomica dei miRNA

MiRNA

50%
miRNA intragenici

50%
sono unità
trascrizionali
indipendenti
con un
promotore e
segnali di
poli-
adenilazione

40%
in introni di geni che codificano
per proteine

10%
in introni di
trascritti non
codificanti

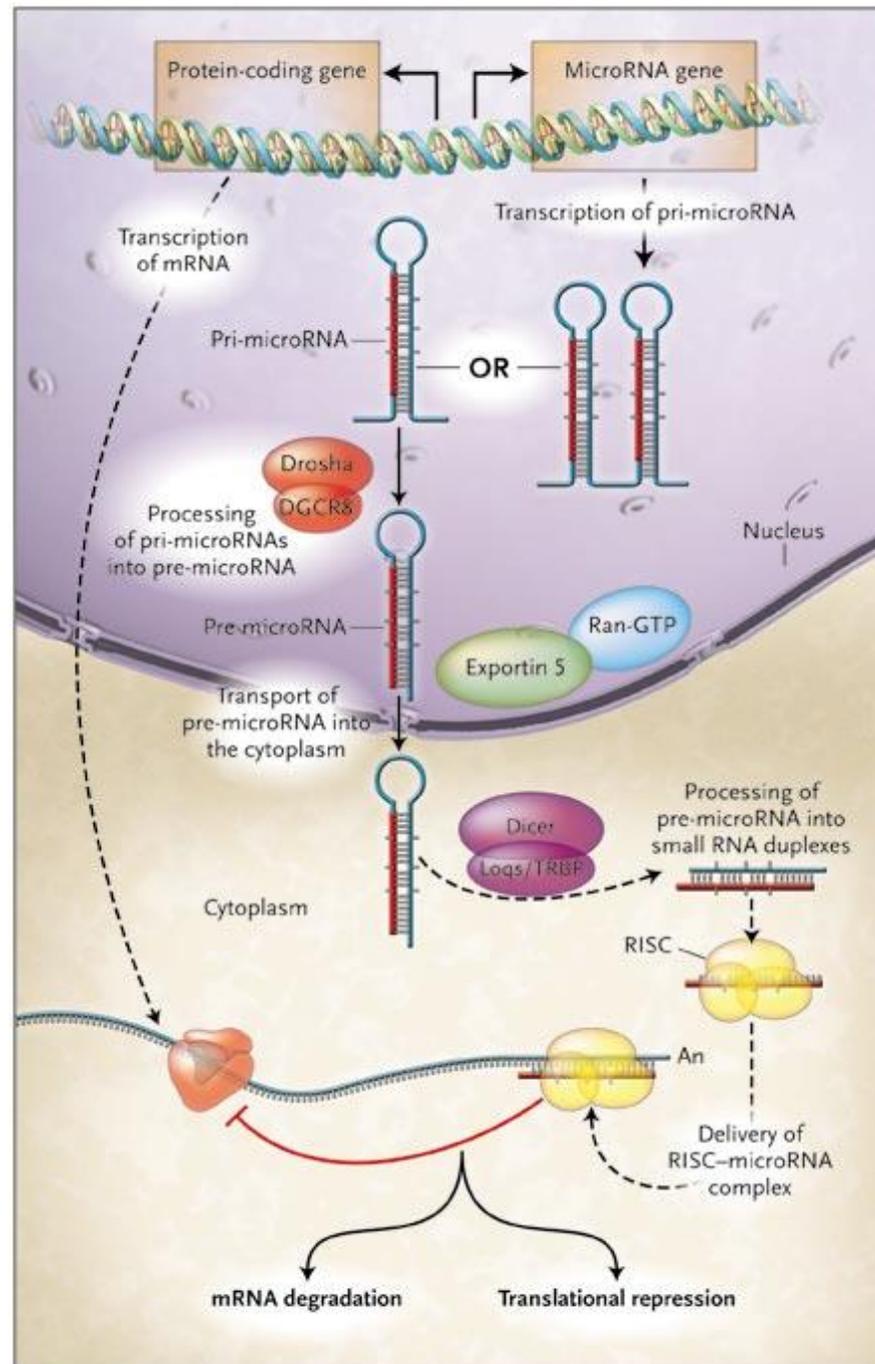
Molti cluster dei miRNA sono:
-unità trascrizionali singole
-o si sovrappongono con il trascritto ospite,
con introni o esoni
-in alcuni casi dipende dello splicing
alternativo del gene ospite
-(trascritti policistronici)
-o si sovrappongono con unità trascrizionali
trascritte sulla strand opposta

Molti miRNA si
trovano in trascritti che
non codificano
proteine, classificati
ncRNAs (long
noncoding RNA).

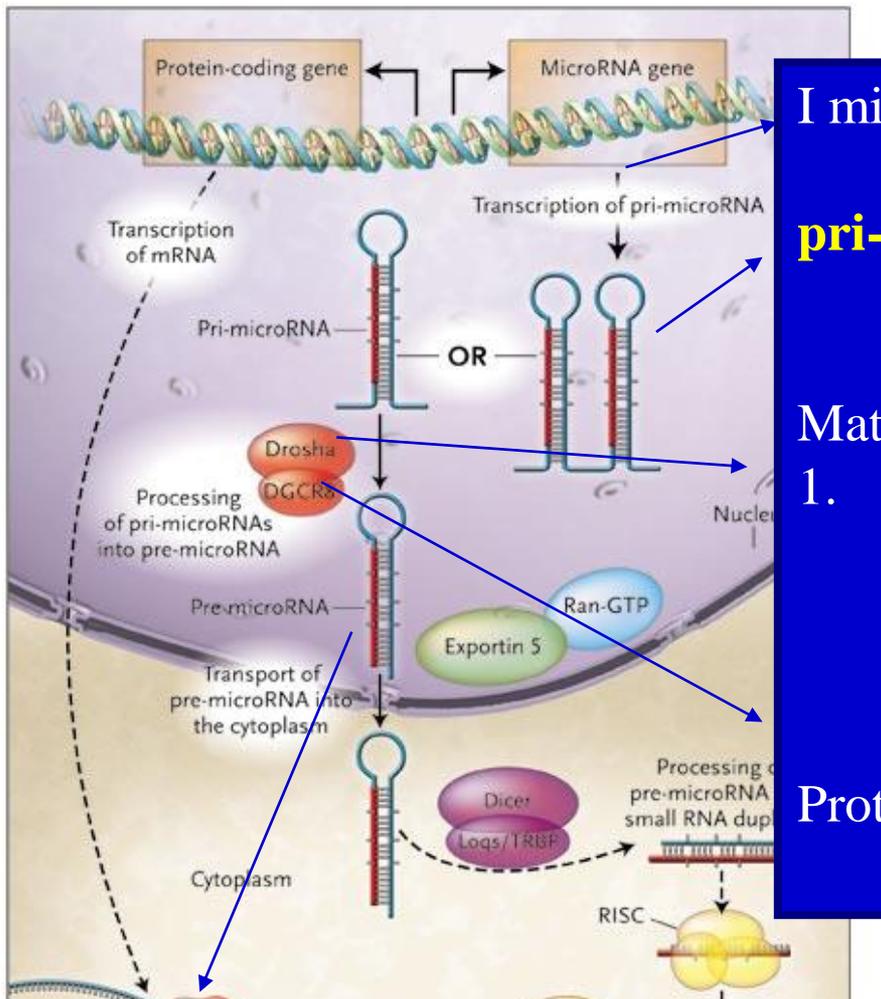
I geni ospiti codificano per proteine
coinvolte nello sviluppo embrionale e nel
ciclo cellulare.

Biogenesi dei miRNA

Azione dei miRNA



Biogenesi dei miRNA -1



I miRNA vengono trascritti dalla **RNA pol II**

pri-miRNA: precursore primario: 100-1000 nt;
ha il 5'-cap, il poly-A e può avere introni

Maturazione dei miRNA: 3 fasi:

1. Cropping: taglio operato da **Drosha**: una endonucleasi ribonucleasi III nucleare capace di tagliare la regione fiancheggiante il pri-miRNA

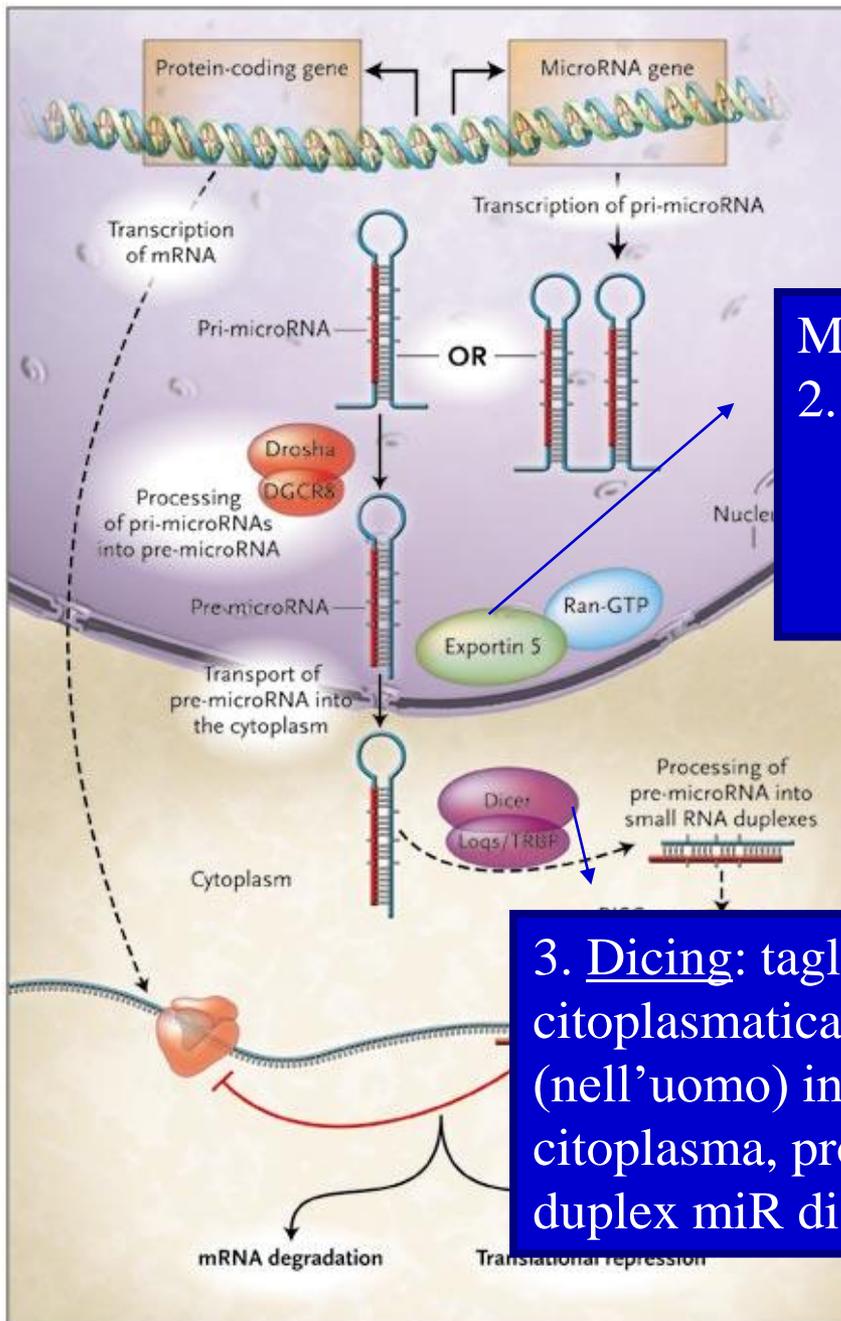
Proteine associate a Drosha conferiscono specificità (es. DGCR8)

In seguito al cropping grazie all'azione di Drosha si libera il **pre-miRNA**:

- composto da 80 nt
- ha una struttura a stem-loop
- presenta un 5'P e un 3'OH
- 2-3 nt all'estremità 3'OH sporgente a singola elica



Biogenesi dei miRNA -2



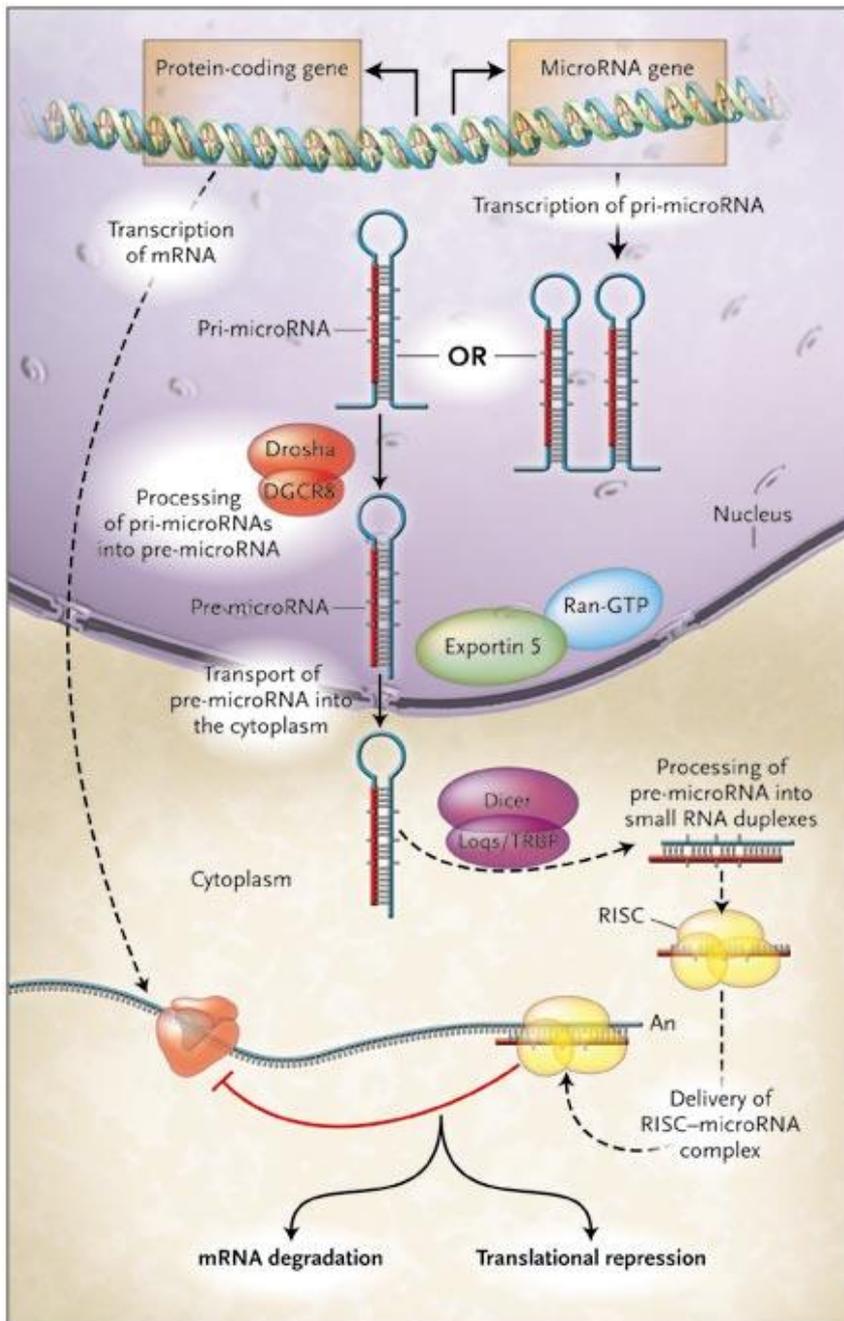
Maturazione dei miRNA: 3 fasi:

2. Export: il pre-miRNA viene trasportato nel citoplasma da Exportin5/RanGTP; si forma un eterotrimerico che passa attraverso i pori nucleari

3. Dicing: taglio di Dicer: una RNase III citoplasmatica chiamata Dicer che (nell'uomo) insieme al suo partner TR, nel citoplasma, processa il pre-miRNA in un duplex miR di 18-22 nt



Biogenesi dei miRNA -3



In alcuni casi una delle 2 strand del duplex viene degradata, mentre l'altra si accumula come miRNA maturo.

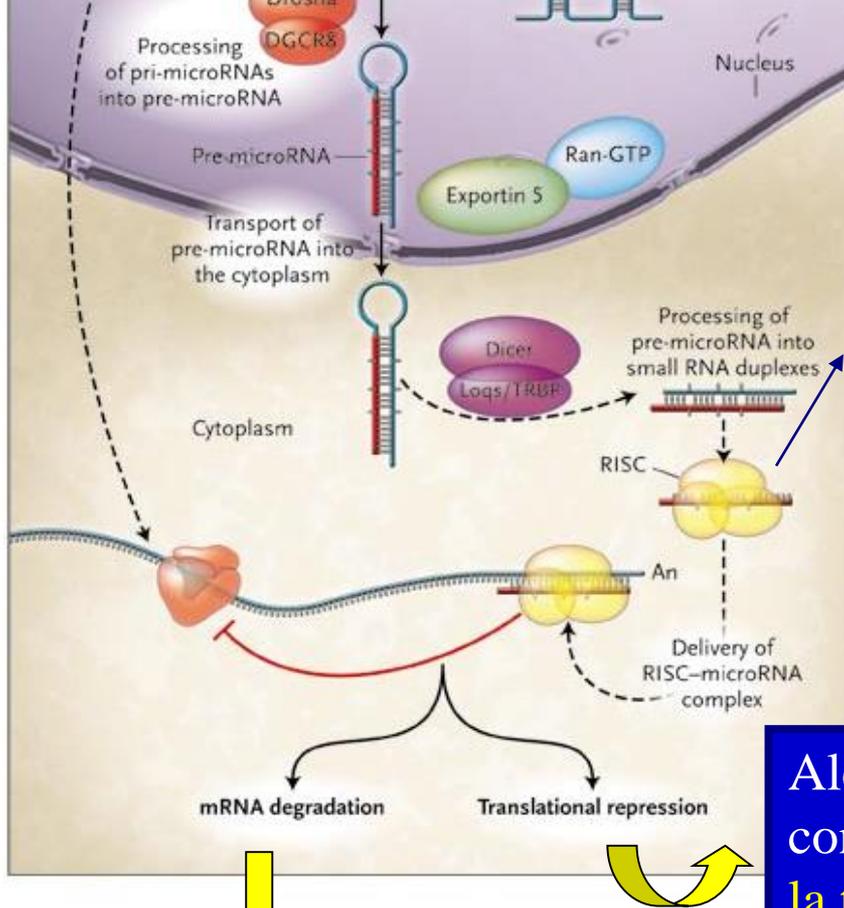
In altri casi funzionano entrambi da mir e la strand meno rappresentata era indicata con un *.

Ora si è visto che entrambi possono essere miR e con target diversi, perciò ora sono chiamati invece che con l'asterisco: 5p e 3p.



MiRNA in azione: RISC e inibizione del gene target

Dal duplex prodotto da Dicer il miRNA entra nel complesso effettore proteico, il **RISC**: complesso di silenziamento indotto da RNA o miRgonauta, che media la degradazione o l'inibizione della traduzione dell'mRNA del gene target



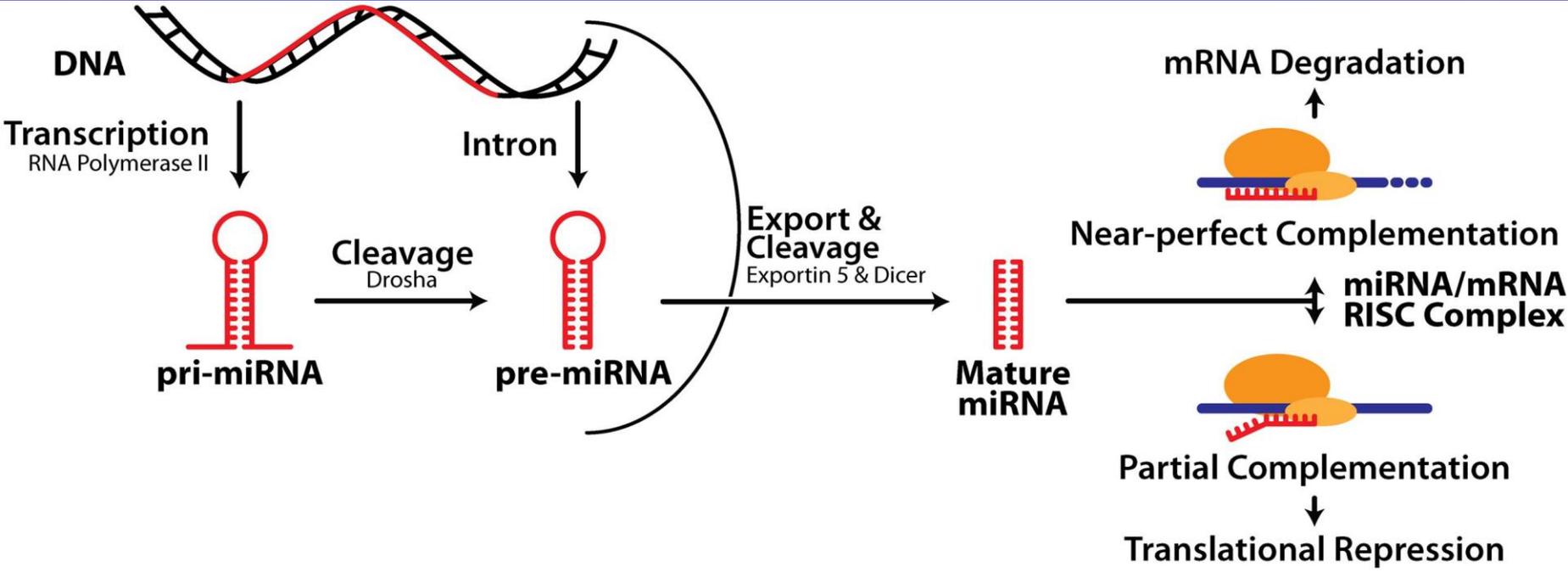
Alcuni miRNA appaiono imperfettamente con il 3'UTR dell'mRNA target e **inibiscono la traduzione** (produzione della proteina)

Altri miRNA mostrano una complementarità quasi precisa al loro target e portano alla **degradazione dell'mRNA**



Le proteine componenti del RISC non sono state tutte identificate, alcune sono della famiglia proteica Argonaute (Ago)...

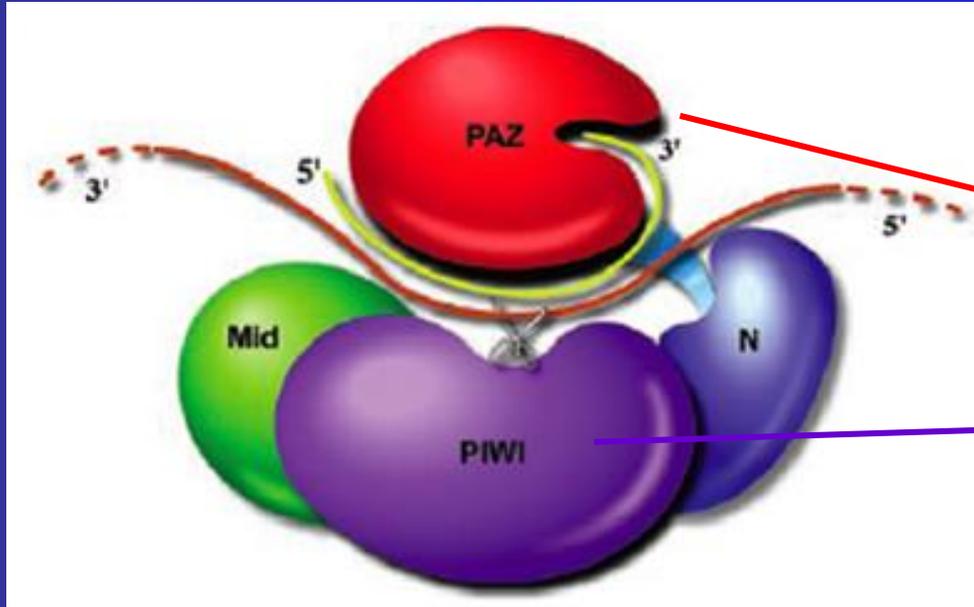
MiRNA in azione





Proteine Argonaute (AGO):

Famiglia di proteine essenziali nel processo di RNA interference (RNAi). Sono in grado di formare complessi ribonucleoproteici con i siRNA o i miRNA, che riconoscono per complementarità sequenze omologhe presenti in mRNA bersaglio



Le proteine AGO:
due domini caratteristici:

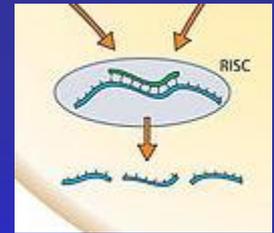
1. dominio **PAZ** lega il 3'-OH del piccolo RNA
2. dominio **Piwi** riconosce il terminale 5'-P del piccolo RNA ed ha attività endonucleasica

La proteina AGO2 insieme ad altre proteine forma un complesso multiproteico chiamato **RISC** (RNA-induced silencing complex) che possiede attività endonucleasica ed è capace di degradare in maniera specifica un RNA bersaglio contenente sequenze complementari alla sequenza guida del siRNA o miRNA

Nell'uomo sono stati identificati 8 membri della famiglia AGO. Tuttavia si conosce bene solo la funzione enzimatica della proteina AGO2.



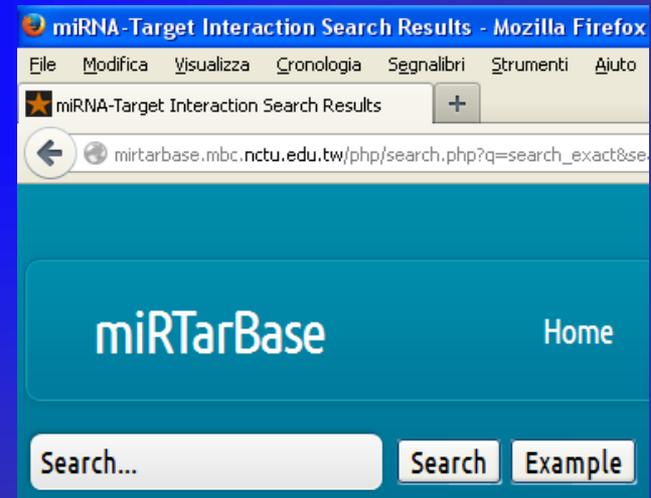
Target



La più importante caratterizzazione della funzione dei miRNA è l'identificazione dei mRNA bersaglio

Poiché la complementarità tra miRNA e mRNA target non è perfetta molto probabilmente ciascun miRNA può regolare un ampio numero di geni
Sono stati sviluppati molti algoritmi per predire i geni bersaglio:

- MiRTarBase
- Diana-microT
- miRanda
- MICRORNA.ORG
- MIRDB
- RNA22-HSA
- TARGETMINER
- TARGETSCAN-VERT
- PICTAR-VERT



Ma ogni bersaglio predetto deve essere validato in laboratorio!

Target

miRNA-Target Interaction Search Results - Mozilla Firefox

File Modifica Visualizza Cronologia Segnalibri Strumenti Aiuto

miRNA-Target Interaction Search Results

mirtarbase.mbc.ntcu.edu.tw/php/search.php?q=search_exact&se.hword=hsa-miR-17-5p

mirbase

Page 1 of 11 1 2 3 ... 11 Next >

miRTarBase Home

Search... Search Example

ID	Species (miRNA)	Species (Target)	miRNA	Target	Validation methods						Sum	# of papers	
					Strong evidence			Less strong evidence					
					Reporter assay	Western blot	qPCR	Microarray	NGS	pSILAC			Other
MIRT000256	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	ZNFX1	✓				✓		✓	3	2
MIRT000257	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	CCL1	✓						✓	2	1
MIRT000258	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	GPR137B	✓						✓	2	1
MIRT000259	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	NABP1	✓						✓	2	1
MIRT000261	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	NPAT	✓						✓	2	1
MIRT000263	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	YES1	✓						✓	2	1
MIRT000482	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-17-5p	JAK1	✓	✓					✓	3	2

Target

miRTarBase

Home

Search...

Search

Example

ID	Species (miRNA)	Species (Target)	miRNA	Target	Validation methods						Sum	# of papers	
					Strong evidence			Less strong evidence					
					Reporter assay	Western blot	qPCR	Microarray	NGS	pSILAC			Other
MIRT035908	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	FAM200B					✓			1	1
MIRT035910	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	SYNRG					✓			1	1
MIRT035911	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	KLC4					✓			1	1
MIRT035912	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	FUT7					✓			1	1
MIRT035913	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	TRAP1					✓			1	1
MIRT035914	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	RFWD2					✓			1	1
MIRT035915	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	STIP1					✓			1	1
MIRT035916	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	C16orf62					✓			1	1
MIRT035917	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	THOC2					✓			1	1
MIRT035918	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	BAZZA					✓			1	1
MIRT035919	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	HPS4					✓			1	1
MIRT035920	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	GNB2L1					✓			1	1
MIRT035921	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	PSMD1					✓			1	1
MIRT035922	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	BAMBI					✓			1	1
MIRT035923	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	HIST1H2BK					✓			1	1
MIRT035924	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	TBX1					✓			1	1
MIRT035925	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	EZR					✓			1	1
MIRT035926	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	USP9X					✓			1	1
MIRT035927	Homo sapiens	Homo sapiens	hsa-miR-1180-3p	TAF3					✓			1	1

MiRNA: funzioni negli stati di normalità

Poiché si scoprono miRNA nuovi tutti i giorni è evidente che questi piccoli geni potrebbero essere coinvolti nella normale omeostasi cellulare

I miRNA partecipano a processi biologici essenziali:

- proliferazione cellulare
- destino della linea B ematopoietica
- pattern del cervello
- secrezione di insulina dalle cellule del pancreas
- sviluppo degli adipociti
- meccanismi biologici coinvolti nell'embriogenesi

.....

- Ma anche nello sviluppo di diverse patologie...



MiRNA: funzioni negli stati di malattia

Poichè i miRNA partecipano a molte normali funzioni ci si è chiesto se anomalie nei miRNA potessero avere importanza in alcune malattie.

Infatti i miRNA sono stati visti coinvolti in molte malattie

I miRNA possono agire sia

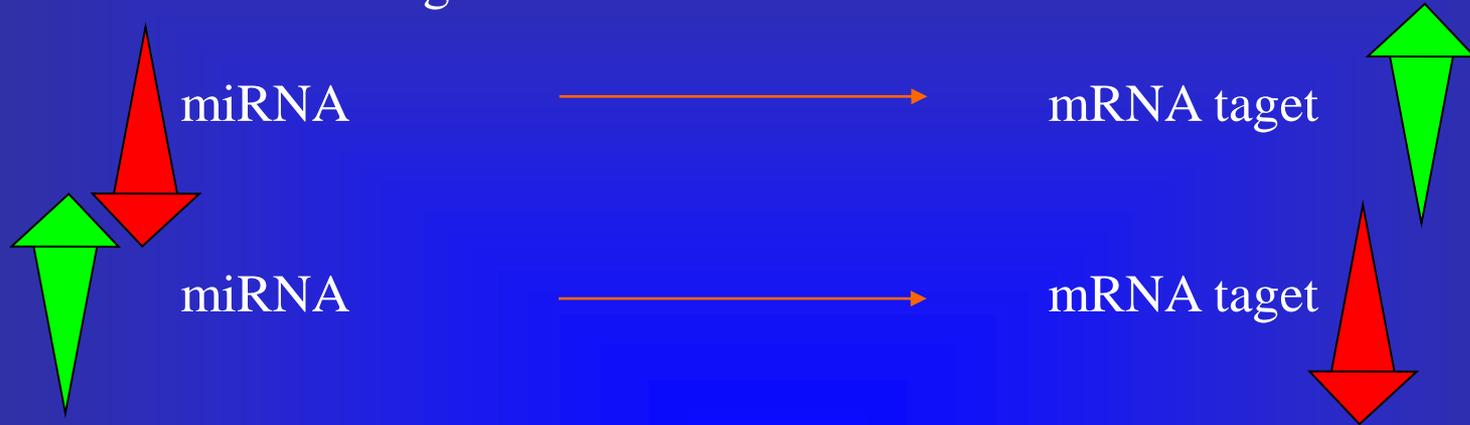


Sono stati dimostrati meccanismi di inattivazione o attivazione di determinati miRNA.



MiRNA: funzioni negli stati di malattia

L'effetto finale della disregolazione di miRNA:



Nel caso di inattivazione di un miRNA si avrà la sovraespressione dell'mRNA bersaglio mentre l'attivazione di un miRNA porterà alla down-regolazione dell'mRNA target che potrebbe essere coinvolto in:

Apoptosi
ciclo cellulare
Invasione
angiogenesi

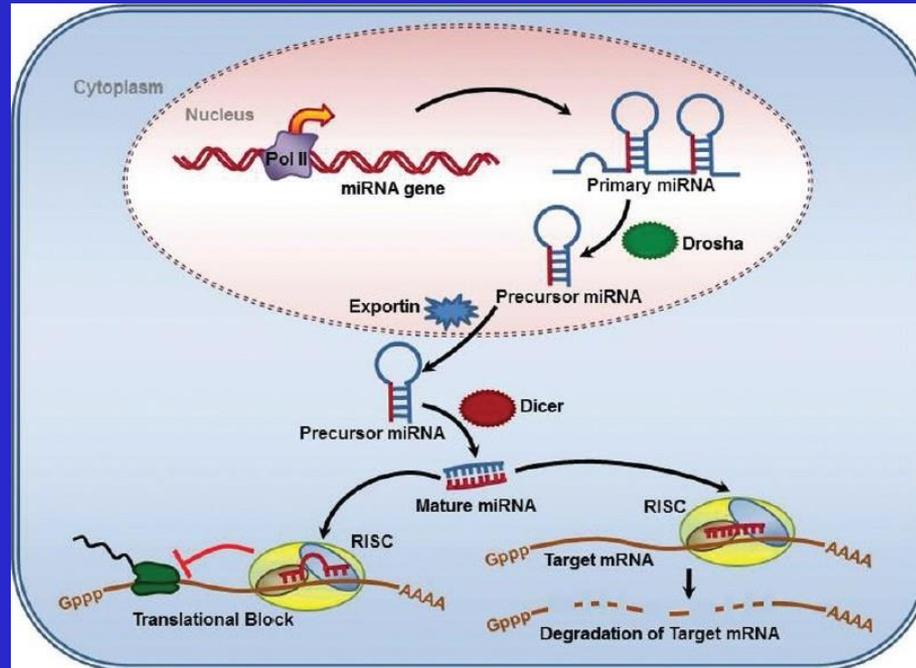
Quindi la disregolazione dell'espressione dei miRNA intracellulari è stata associata a molte condizioni patologiche.



Interazioni miRNA-mRNA con importanza per il cancro

MiRNA	Azione nel cancro	Referenza
famiglia miRNA let-7	Regola gli oncogeni RAS: Let-7 ha una bassa espressione nei <u>tumori del polmone</u> rispetto al polmone normale e la proteina RAS ha una variazione inversa	Johnson 2005
Cluster mir-17-92	L'aumento di espressione insieme a c-myc, accelera lo sviluppo tumorale in un modello di <u>linfoma delle cellule B del topo</u>	He 2005
Cluster mir-17-92: miR-17-5p miR-20a	Regolano negativamente il fattore di trascrizione E2F1, un gene che funziona come un soppressore del <u>tumore</u>	O'Donnel 2005
mir-189	Coinvolto nella <u>sindrome di Tourette (TS)</u> , una patologia neurologica: il mir-189 potrebbe influenzare l'espressione del gene SLITRK1	Abelson 2006
Mir-221 Mir-222 Mir-146	Sono overespressi nel <u>tumore della tiroide</u> e interagiscono con l'oncogene c-KIT	He 2005

Non solo MicroRNA cellulari.....



... ma anche.....



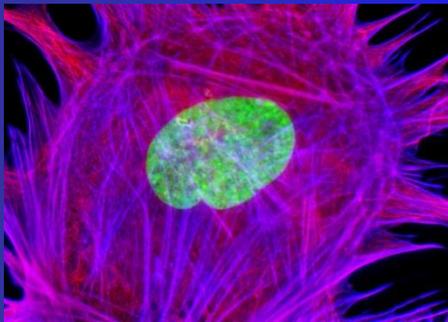
MiRNA circolanti



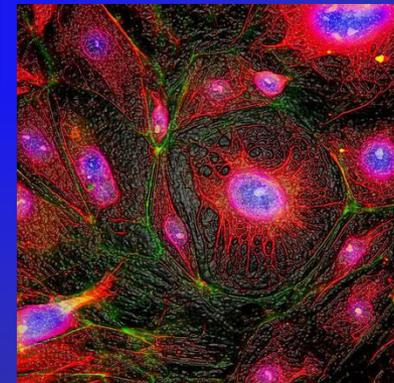
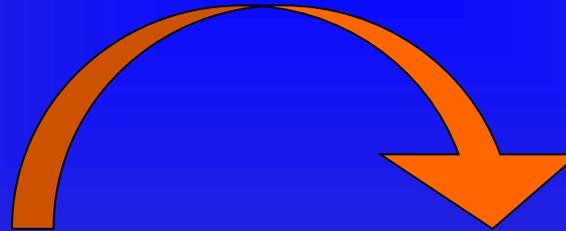
I miRNA possono essere trasportati al di fuori delle cellule e forse possono essere usati come indici diagnostici extracellulari per la diagnosi e la terapia di alcune patologie.

I miRNA circolanti nei fluidi biologici, miRNA extracellulari, rappresentano una nuova forma di comunicazione intercellulare attraverso

il trasferimento di informazioni genetiche



da una cellula donatrice



a una cellula accettrice

MiRNA circolanti

Quando sono stati individuati dei miRNA extracellulari come biomarkers di patologie è divenuto evidente che i miRNA possono essere esportati dalle cellule e si trovano in molti fluidi biologici come:

- Plasma
- Siero
- Saliva
- Urine
- Lacrime
- Latte materno



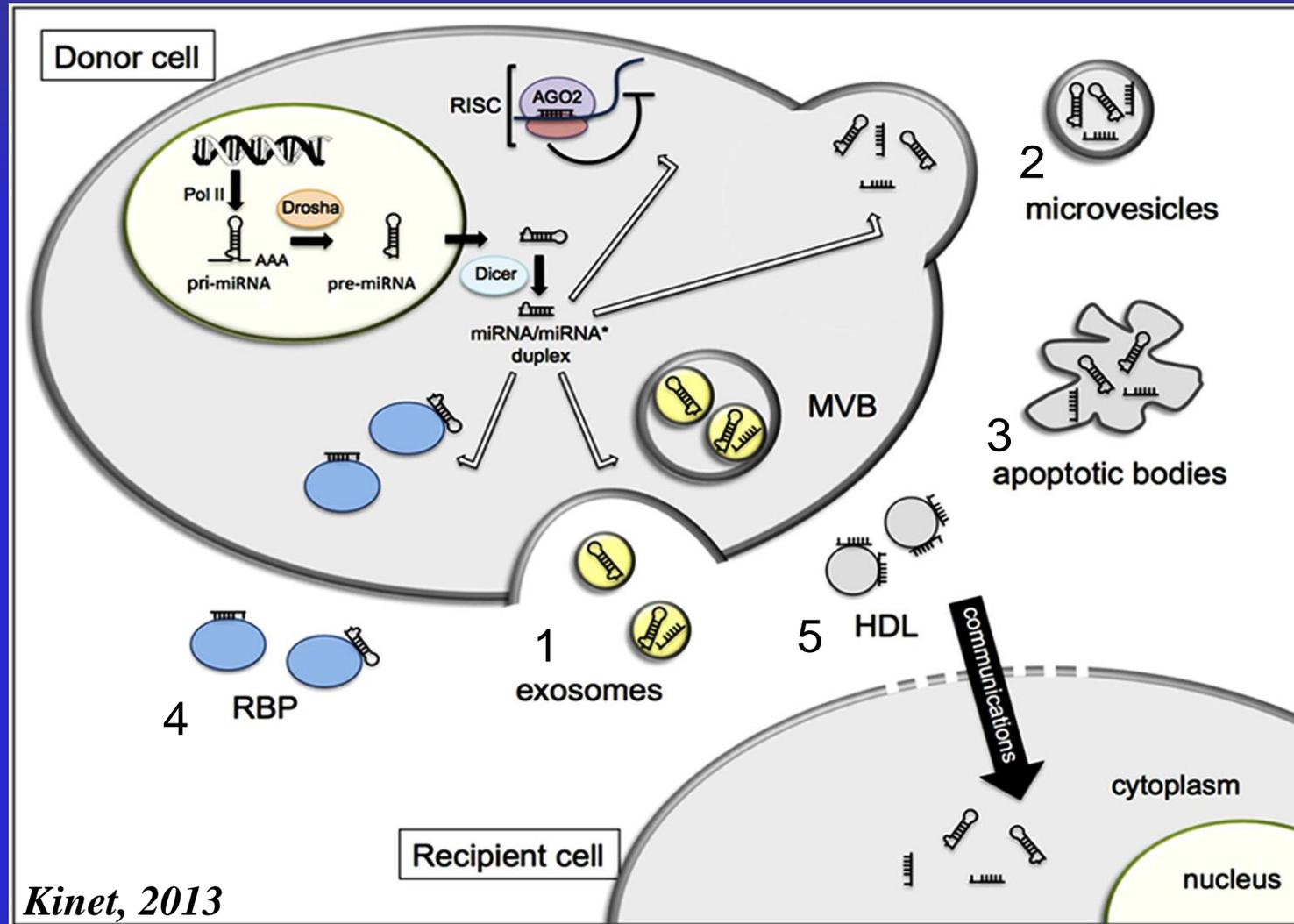
I miRNA extracellulari sono inaspettatamente stabili e devono essere protetti dalla degradazione, poiché l'RNA nudo è prontamente bersagliato dalle esonucleasi che sono abbondantemente presenti in molti fluidi extracellulari. Quindi i miRNA sono impacchettati grazie a 5 diversi meccanismi:

1. Esosomi
2. micro-vescicole o micro-vescicole di distacco (SMVs)
3. corpi apoptotici
4. proteine che legano l'RNA
5. HDL



MiRNA circolanti

Il miRNA una volta maturo può essere incorporato nel RISC e appaiare con il suo mRNA target e reprimerne la traduzione o indurre la sua degradazione.



Oppure il miRNA maturo può essere esportato fuori dalla cellula e trasportato da 5 diversi carrier. Infine i miRNA extracellulari possono essere trasferiti a cellule riceventi dove possono alterare l'espressione genica.

Carrier dei MiRNA circolanti

1. ESOSOMI:

Micro-vescicole extracellulari piccole (40-120 nm) che si originano da corpi multi-vescicolari (MVBs) e sono rilasciate tramite esocitosi di questi MVBs.

Prodotti da molti tipi di cellule:

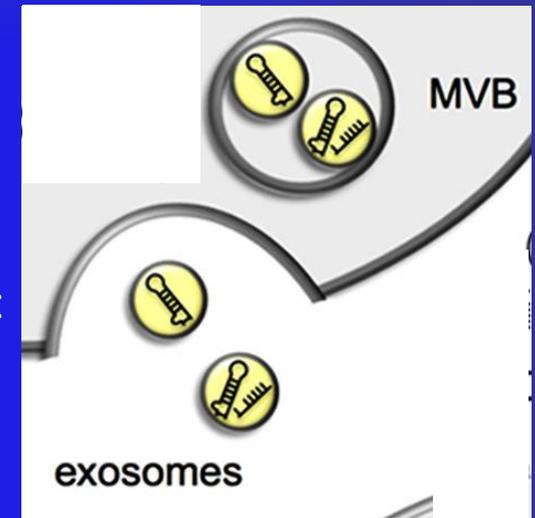
- Epiteliali
- Ematopoietiche
- Endoteliali
- Tumoriali

Gli esosomi sono stati identificati in molti fluidi circolanti:

- Plasma
- Urine
- Latte
- Saliva
- Sperma

L'interesse nella biologia degli esosomi è aumentata in seguito alla dimostrazione che essi possono servire da carrier dei miRNA

Processi di selezione devono avere luogo per caricare i miRNA negli esosomi: probabilmente esistono meccanismi cellulari che attivamente concentrano specifiche specie di miRNA negli esosomi



Carrier dei MiRNA circolanti

2. MICRO-VESCICOLE

O MICRO-VESCICOLE DI DISTACCAMENTO (SMVS):

sono un'altra forma di vescicole piccole e definite che si distaccano dalla membrana plasmatica di una grande varietà di cellule

Dimensioni: 0.1-1 μm : sono più grandi degli esosomi e il loro meccanismo di produzione è diverso

Mentre gli esosomi sono prodotti da una fusione esocitotica di MVBs, le microvescicole sono prodotte da una germogliazione di vescicole dalla membrana plasmatica



La presenza di miRNA nelle micro-vescicole è descritta dal 2008.



Carrier dei MiRNA circolanti

3. CORPI APOPTOTICI o vescichette apoptotiche

Le cellule apoptotiche o che stanno morendo rilasciano vescicole di membrana nell'ambiente extracellulare.

Sono grandi particelle (1-5 μm) con forma eterogenea.



Per esempio è stato dimostrato che nell'Aterosclerosi: le cellule endoteliali producono corpi apoptotici ricchi di mir-126. Questo porta le cellule accettrici a produrre una chemochina che limita l'aterosclerosi e conferisce stabilità alle placche



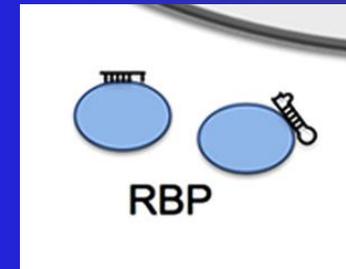
Carrier dei MiRNA circolanti

4. PROTEINE CHE LEGANO L'RNA

una significativa frazione di miRNA extracellulari è associata a proteine che legano l'RNA e che li proteggono dalla degradazione:

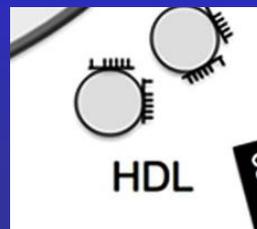
Es:

- NPM1: nucleofosmina
- Proteine della famiglia delle Argonaute:
Ago2, 1, 3, 4 (ma alcuni studi sono in disaccordo)



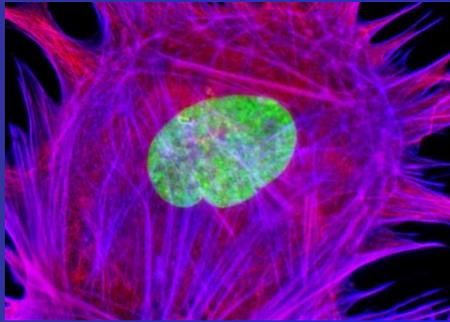
5. HDL

i miRNA extracellulari possono essere trasportati anche dalle HDL. Mentre le vescicole di trasporto sono composte da un doppio strato fosfolipidico, le lipoproteine hanno un singolo strato di lipidi.

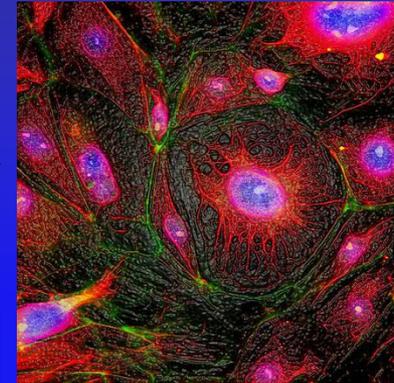
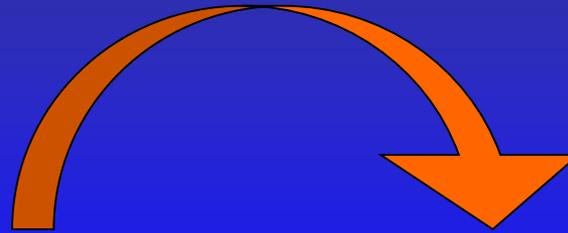


MiRNA circolanti nella comunicazione cellula-cellula

il trasferimento di informazioni genetiche



da una cellula donatrice



a una cellula accettrice

Questa forma di trasferimento tra cellule è di rilevanza funzionale esercitando silenziamento genico nelle cellule riceventi

Questa può spiegare

come cellule adiacenti
all'interno di un organo
possano comunicare

come un miRNA possa influenzare
un tipo cellulare o un tessuto in cui
esso non viene prodotto

Questa forma di comunicazione è coinvolta:
nella regolazione dell'immunità (*Mittelbrunn, 2011*)
nella migrazione cellulare (*Zhang, 2010*)
nello sviluppo dei tumori (*Yang, 2011*)

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici

Sulla base della scoperta che i microRNA circolano nel sangue, è stata fatta l'ipotesi che essi abbiano, un ruolo di biomarcatori associati allo sviluppo di patologie

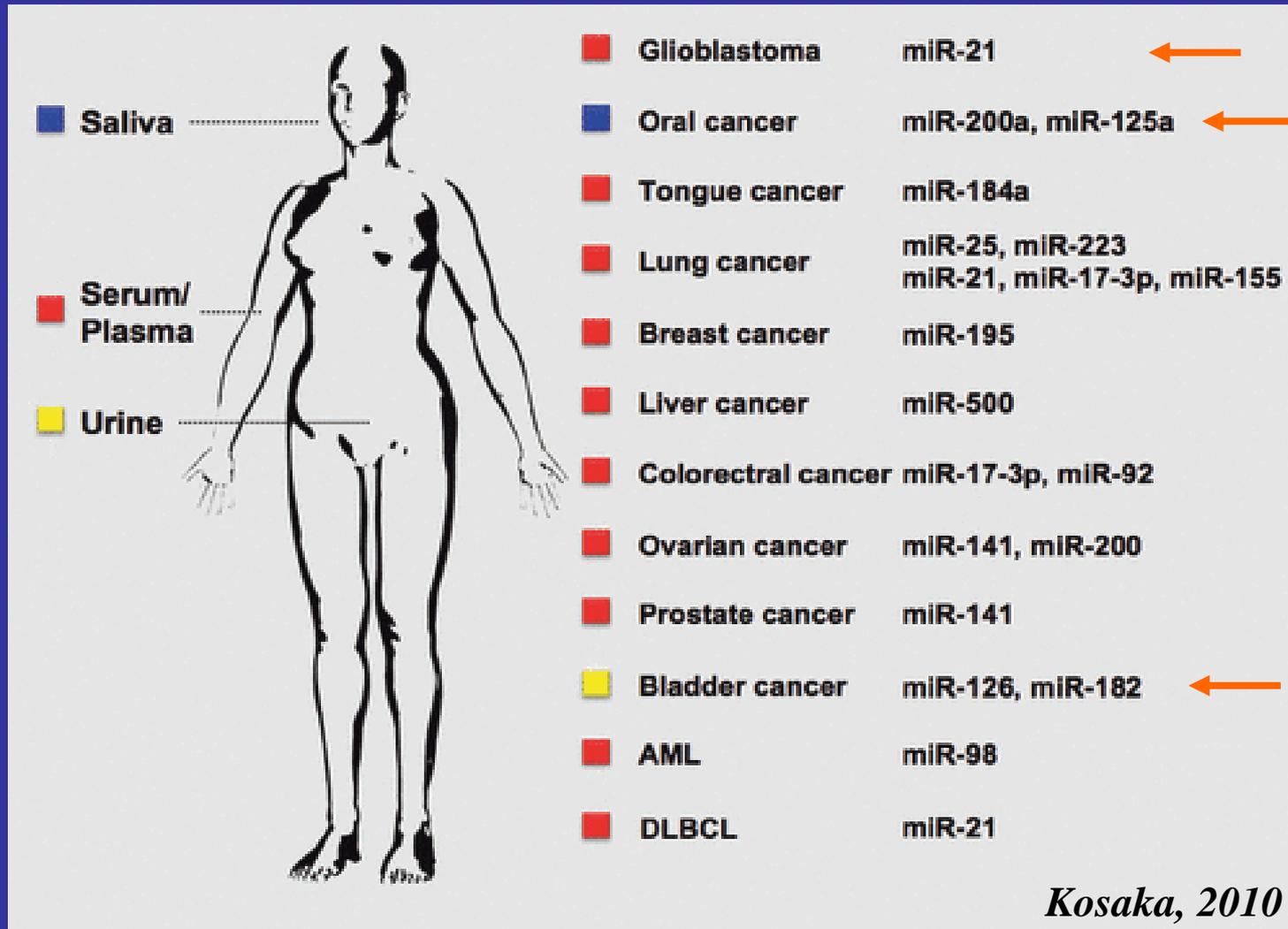


miRNAs nei fluidi del corpo umano sono
marcatori diagnostici tumorali
non invasivi

Molti tipi di miRNA circolanti sono stati riportati in molti tipi di cancro. In alcuni casi, miRNA circolanti in siero, saliva ed urina sono buoni candidati per un futuro utilizzo

Tuttavia alcuni tipi di cancro non possono essere diagnosticati conoscendo i biomarcatori sierici.

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici



Kosaka, 2010

AML:

acute myeloid
leukemia

DLBCL: diffuse
large B-cell
lymphoma

Qui sono riassunte ricerche recenti che mostrano l'esistenza di **miRNA circolanti** nel fluidi di pazienti con il cancro

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici - 1

Type of cancer	Biomarker candidate	Reference
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)	Expression levels of miR-155 , miR-210 and miR-21 were higher in DLBCL patient than control sera	Lawriw, 2008
	High miR-21 expression was associated with relapse-free survival	
Prostate cancer	Serum levels of miR-141 can distinguish patients with prostate cancer from healthy controls	Mitchell, 2008
Ovarian cancer	The levels of the 8 specific miRNAs were similar between cellular and exosomal miRNAs. Exosomal miRNA from ovarian cancer patients exhibited similar profiles, which were significantly distinct from profiles observed in benign disease	Taylor, 2008
	miR-21 , -92 , -93 , -126 and -29a were significantly overexpressed in the serum from cancer patients compared to controls	Resnick, 2009
Non small cell lung cancer	Eleven serum miRNAs were found to be altered more than 5-fold between longer-survival and shorter-survival groups, and levels of four miRNAs were significantly associated with overall survival	Hu, 2010
Acute myeloid leukemia (AML) Acute lymphoblastic leukemia (ALL)	miR-92a decreased in the plasmas of acute leukemia patients	Tanaka 2009
Breast cancer	Increased miR-195 levels in patients were reflected in tumors, and circulating levels of miR-195 and let-7a decreased in cancer patients postoperatively, to levels comparable with control subjects	Heneghan, 2010
	miR-155 was differentially expressed in the serum of women with hormone-sensitive compared to women with hormone-insensitive breast cancer	Zhu, 2009
Gastric cancer	The plasma concentrations of miR-17-5p , miR-21 , miR-106a , and miR-106b were significantly higher in patients than controls, whereas let-7a was lower in patients	Tsujiura, 2010
Pancreatic cancer	Circulating miR-210 levels are elevated in pancreatic cancer patients	Ho, 2010
Pancreatic ductal adenocarcinoma	The combined analyses of four miRNAs (miR-21 , miR-210 , miR-155 , and miR-196a) in plasma can discriminate patients from normal healthy individuals	Wang, 2009
Squamous cell carcinoma (SCC) of tongue	Plasma miR-184 levels were significantly higher in tongue SCC patients in comparison with normal individuals, and the levels were significantly reduced after surgical removal of the primary tumors	Wong, 2008
Colorectal cancer	Both miR-17-3p and miR-92 were significantly elevated in the patients, and the plasma levels of these miRNAs were reduced after surgery	Ng, 2009
Hepatocellular carcinoma (HCC)	An increased amount of miR-500 was found in the sera of the HCC patients, and its levels in sera returned to normal after the surgical treatment	Yamamoto, 2009

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici - 2

Patologia	Biomarker candidato	Ref.
Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL)	I livelli di espressione nel siero di <u>miR-155</u> , <u>miR-210</u> and <u>miR-21</u> sono più alti nei pazienti rispetto ai controlli	Lawriw, 2008
	L'elevata espressione di <u>miR-21</u> è associata con la sopravvivenza priva di ricidive	
Prostate cancer	I livelli sierici di <u>miR-141</u> possono distinguere i pazienti con il cancro alla prostata dai controlli sani	Mitchell, 2008
Ovarian cancer	<u>miR-21</u> , <u>-92</u> , <u>-93</u> , <u>-126</u> and <u>-29a</u> sono sovraespressi nel siero delle pazienti rispetto ai controlli	Resnick, 2009

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici - 3

Patologia	Biomarker candidato	Ref.
Non small cell lung cancer	11 miRNA sierici sono stati trovati alterati di oltre 5 volte tra il gruppo dei longer-survival rispetto a quello dei shorter-survival, e i livelli di 4 miRNA sono associati con la sopravvivenza globale	Hu, 2010
Acute myeloid leukemia (AML) e Acute lymphoblastic leukemia (ALL)	<u>miR-92a</u> decresce nel plasma dei pazienti affetti da leucemia cronica	Tanaka 2009
Breast cancer	Nel tumore si è visto l'aumento dei livelli di <u>miR-195</u> e i livelli dello stesso mir e di <u>let-7a</u> nel sangue diminuisce nelle pazienti dopo l'operazione fino a livelli simili ai controlli sani	Henegha, 2010
	Il <u>miR-155</u> è differenzialmente espresso nel siero di donne con cancro al seno ormone-responsivo rispetto a quelle ormone-non-resp	Zhu, 2009

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici - 4

Patologia	Biomarker candidato	Ref.
Gastric cancer	Le concentrazioni plasmatiche di <u>miR-17-5p</u> , <u>miR-21</u> , <u>miR-106a</u> e <u>miR-106b</u> sono significativamente più elevate nei pazienti rispetto ai controlli, mentre <u>let-7a</u> è più basso nei pazienti	Tsujiura, 2010
Pancreatic cancer	I livelli di <u>miR-210</u> circolante sono elevati nei pazienti	Ho, 2010
Pancreatic ductal adenocarcinoma	L'analisi combinata di 4 miRNA (<u>miR-21</u> , <u>miR-210</u> , <u>miR-155</u> e <u>miR-196a</u>) nel plasma può discriminare i pazienti dai controlli sani	Wang, 2009
Squamous cell carcinoma (SCC) of tongue	I livelli plasmatici di <u>miR-184</u> : -sono significativamente elevati nella lingua dei pazienti SCC rispetto ai normali e -sono significativamente ridotti dopo la rimozione chirurgica del tumore primario	Wong, 2008

MiRNA circolanti come marcatori diagnostici - 5

Patologia	Biomarker candidato	Ref.
Colorectal cancer	Sia il <u>miR-17-3p</u> che il <u>miR-92</u> sono significativamente elevati nei pazienti e i livelli plasmatici di questi 2 mir sono ridotti dopo l'intervento chirurgico	Ng, 2009
Hepatocellular carcinoma (HCC)	Un aumento della quantità di <u>miR-500</u> è stata trovata in sieri di pazienti HCC e il suo livello nel siero ritorna normale dopo trattamento chirurgico	Yamamoto, 2009

MiRNA che hanno come target geni coinvolti nella riparazione del DNA

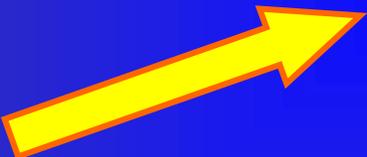
MiRNA	3'UTR del gene target	Referenza
miR-421	ATM: enzima coinvolto nel mantenimento dell'integrità genomica	Hu et al., 2010
miR-100	ATM	Ng et al., 2010
miR-101	ATM, DNA-PK: fattore essenziale per la riparazione del DNA	Yan et al., 2010
miR-18a	ATM	Wu et al. 2013
miR-138	H2AX: istone	Wang et al., 2011
miR-210	RAD52: ricombinasi coinvolta nella riparazione del DNA	Crosby et al., 2009
miR-3248	Dicer	Chang et al., 2012
miR-185	ATR	Wang et al., 2013
miR-16	Wip1: fosfatasi oncogenica	Zhang et al., 2010
miR-25, miR-32	MDM2: principale inibitore di p53	Suh et al., 2012
miR-18b	MDM2	Dar et al., 2013
miR-661	MDM2	Hoffman et al., 2013
miR-96	REV1	Wang et al., 2012
.....

Cromatina

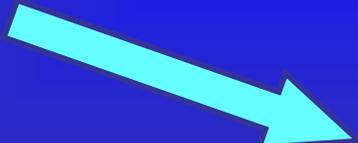
Il complesso tra DNA eucariotico e proteine si chiama **cromatina**.

Le proteine principali della cromatina sono gli **istoni**.

1. H1
2. H2A
3. H2B
4. H3
5. H4



Alta % di aminoacidi basici, **Lys e Arg**: facilitano il legame alla molecola di DNA carica negativamente



Legami tra DNA e istoni: idrogeno, ionico, forze di Van der Waals.

Cromatina

Nucleosoma: L'unità strutturale base della cromatina:

2 X H2A

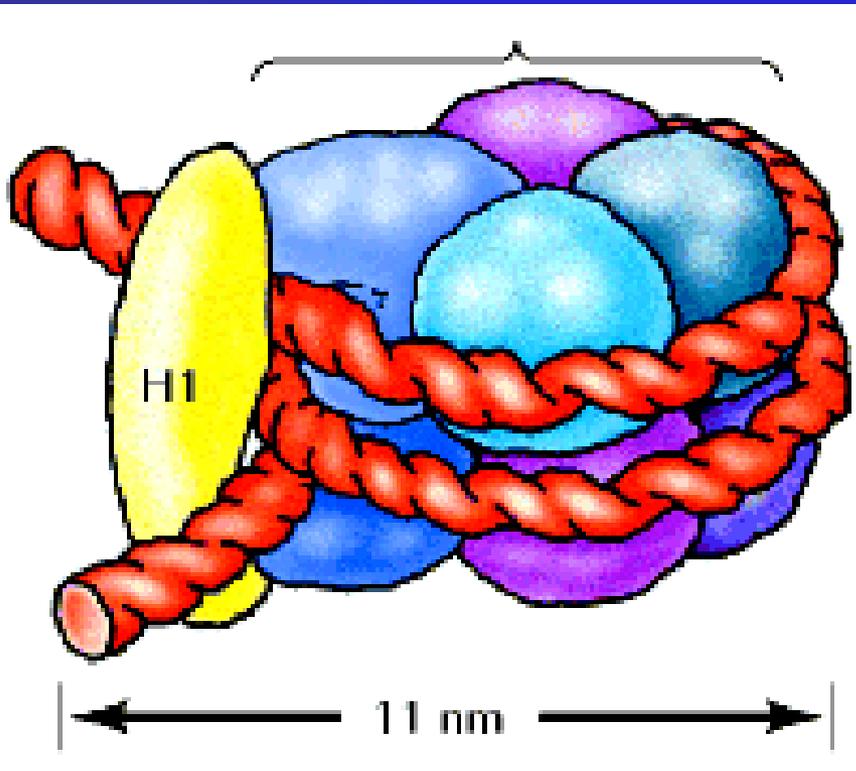
2 X H2B

2 X H3

2 X H4

Su questo ottamero di proteine istoniche si avvolgono 146 pb di DNA (1,75 volte)

Cromatosoma: Nucleosoma + una molecola di istone H1 che tiene bloccati in posizione due giri completi di DNA (166 pb) sul nucleosoma



I miRNA e i loro target

Mol Cancer Res; 9(8); 1100–11. ©2011 AACR.

DNA Damage and Cellular Stress Responses

**Molecular
Cancer
Research**

MicroRNA-138 Modulates DNA Damage Response by Repressing Histone H2AX Expression

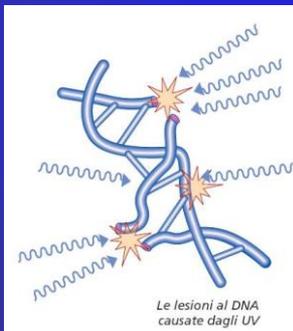
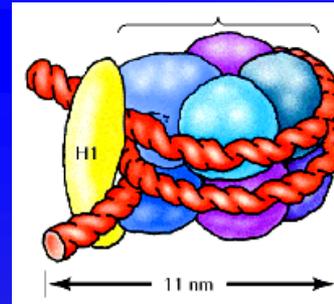
Yemin Wang^{1,2,3}, Jen-Wei Huang^{1,2,3,6}, Ming Li⁷, Webster K. Cavenee⁷, Patrick S. Mitchell^{1,4,6}, Xiaofeng Zhou⁸, Muneesh Tewari^{2,3,5}, Frank B. Fumari⁷, and Toshiyasu Taniguchi^{1,2,3}

Abstract

Precise regulation of DNA damage response is crucial for cellular survival after DNA damage, and its abrogation often results in genomic instability in cancer. Phosphorylated histone H2AX (γ H2AX) forms nuclear foci at sites of DNA damage and facilitates DNA damage response and repair. MicroRNAs (miRNA) are short, nonprotein-

Non si sa ancora come i miRNAs modulino la risposta al danno del DNA

L'istone fosforilato H2AX forma dei foci nucleari nei punti in cui il DNA è danneggiato e facilita la riparazione del DNA

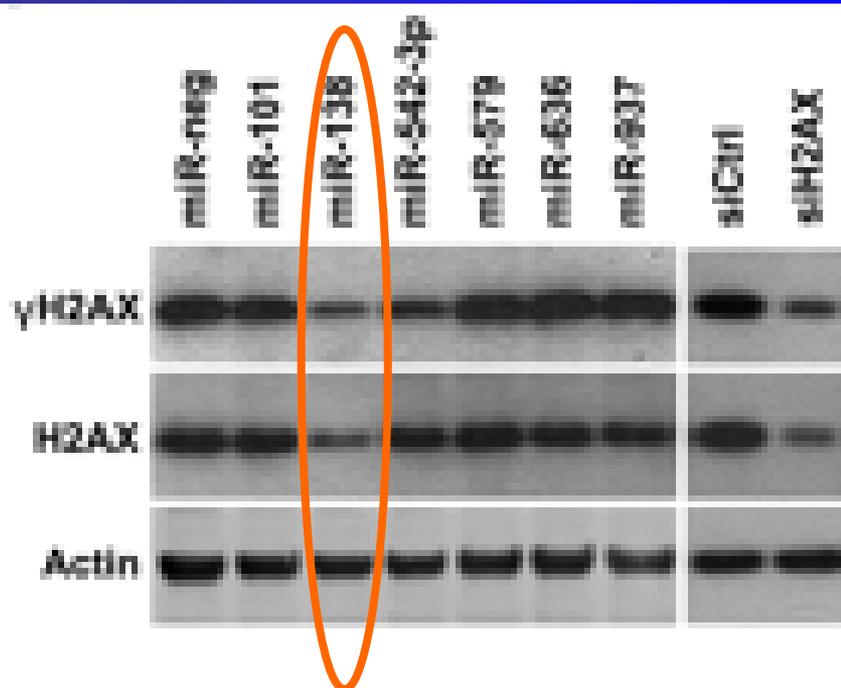
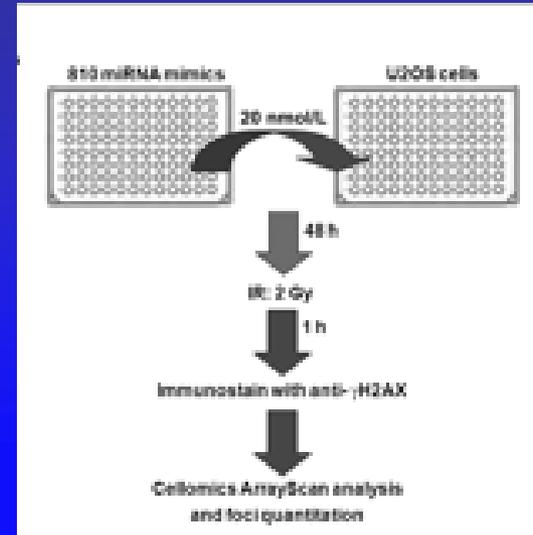


In questo studio, hanno sviluppato un test di screening basato sulle cellule e che utilizza la formazione di foci di H2AX indotta da radiazioni ionizzanti in una linea cellulare di osteosarcoma

(Wang, 2011)

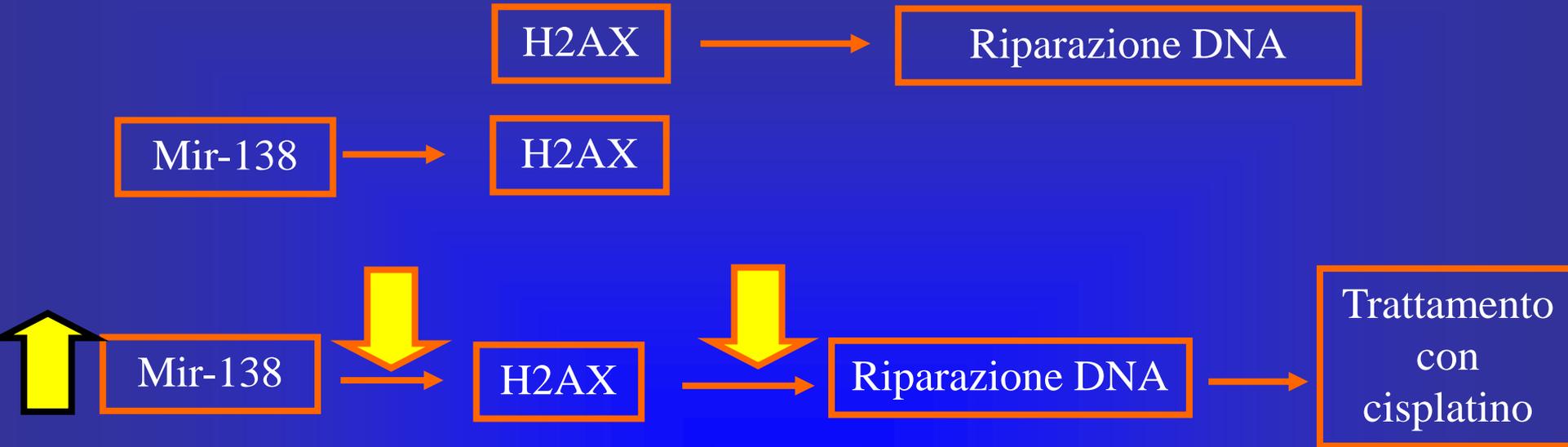
I miRNA e i loro target

Attraverso lo screening di una libreria di miRNA umani, hanno identificato molti miRNA che inibiscono la formazione dei foci di H2AX.



Tra questi, il **miR-138** ha come suo target il 3'UTR di H2AX, riducendo l'espressione dell'istone H2AX e inducendo instabilità cromosomica dopo il danno al DNA.

I miRNA e i loro target



La sovraespressione di miR-138 inibisce la ricombinazione omologa ed aumenta la sensibilità cellulare ad agenti multipli di danneggiamento cellulare (cisplatino, camptotecin, and IR).

La reintroduzione dell'istone H2AX in cellule che sovraesprimono il miR-138 attenua la sensibilizzazione mediata da miR-138 ai farmaci.



Questo studio suggerisce che il miR-138 sia un importante regolatore della stabilità genomica e che sia un potenziale agente terapeutico per aumentare l'efficacia di radioterapia e chemioterapia con agenti che danneggiano il DNA.

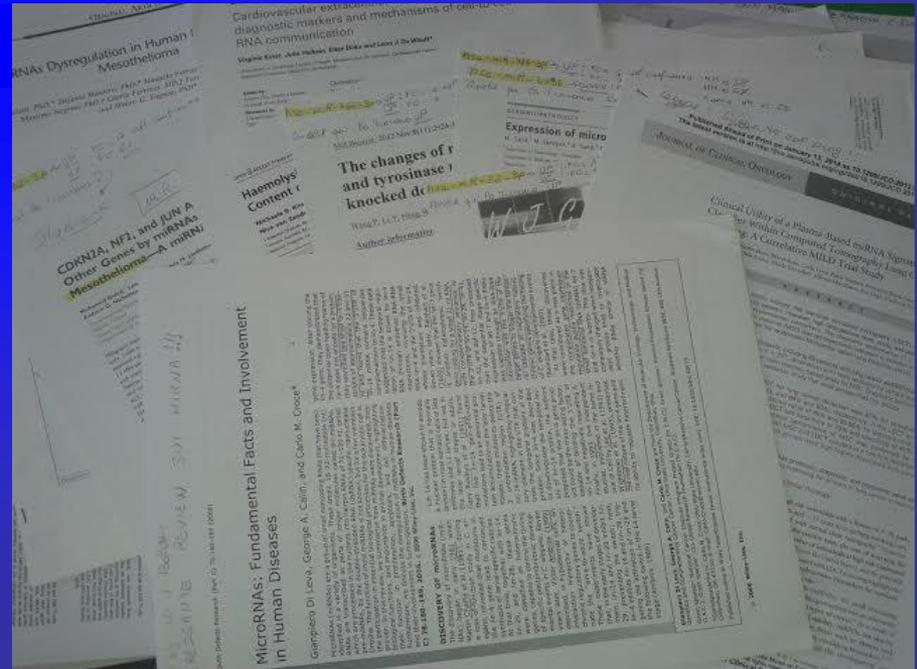
(Wang, 2011)

Conclusioni: hot topic!!!

Facendo una ricerca su Pub-Med si trovano più di 10000 articoli nel 2015 sui **miRNA**...(e quasi 3000 nel 2016!)

I miRNA sono una rivoluzione nella comprensione della biologia cellulare...

C'è ancora molto da lavorare..... e molto da leggere.....



Grazie per l'attenzione!

Grazie per l'attenzione!