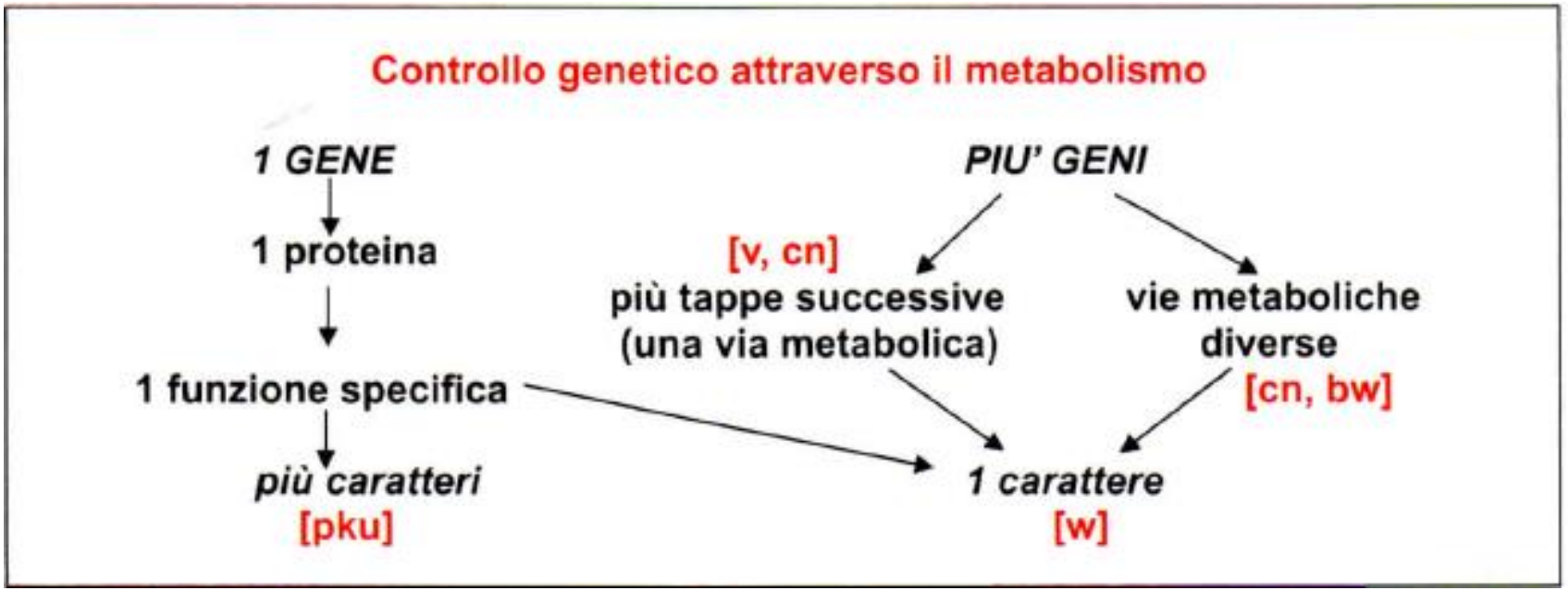
15.
DEFINIZIONE DEL CONCETTO DI GENE
La funzione del gene

Domande

- Se i geni stanno sul DNA, qual è la loro relazione con le proteine?
- In che modo i geni controllano le vie biochimiche?
- Che rapporto c'è fra geni e malattie?
- Tutto il DNA è costituito da geni?
- E, se non lo è, cosa fa il resto?

Controllo genetico attraverso il metabolismo

Un gene può specificare uno o più caratteri,
più geni possono specificare un solo carattere.

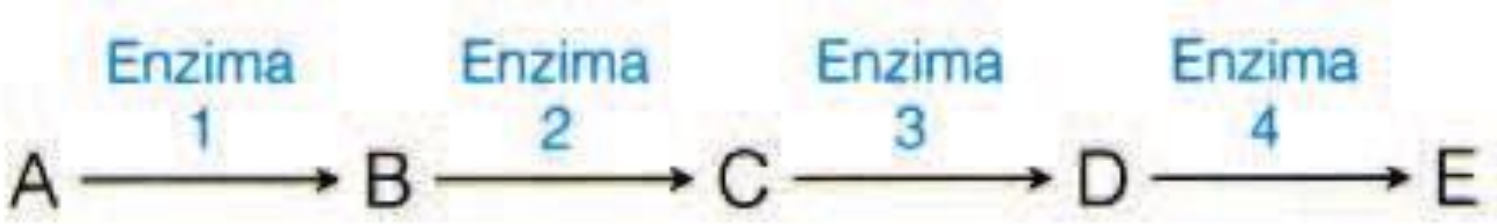


Pku: fenilchetonuria; *v: vermilion; cn: cinnabar; bw: brown; w: white*

- **Un singolo gene può essere alla base di un fenotipo complesso**

Vie metaboliche

- **vie metaboliche**: serie di reazioni, catalizzate da enzimi,
  - ✓ questi a partire da specifici reagenti producono specifici prodotti



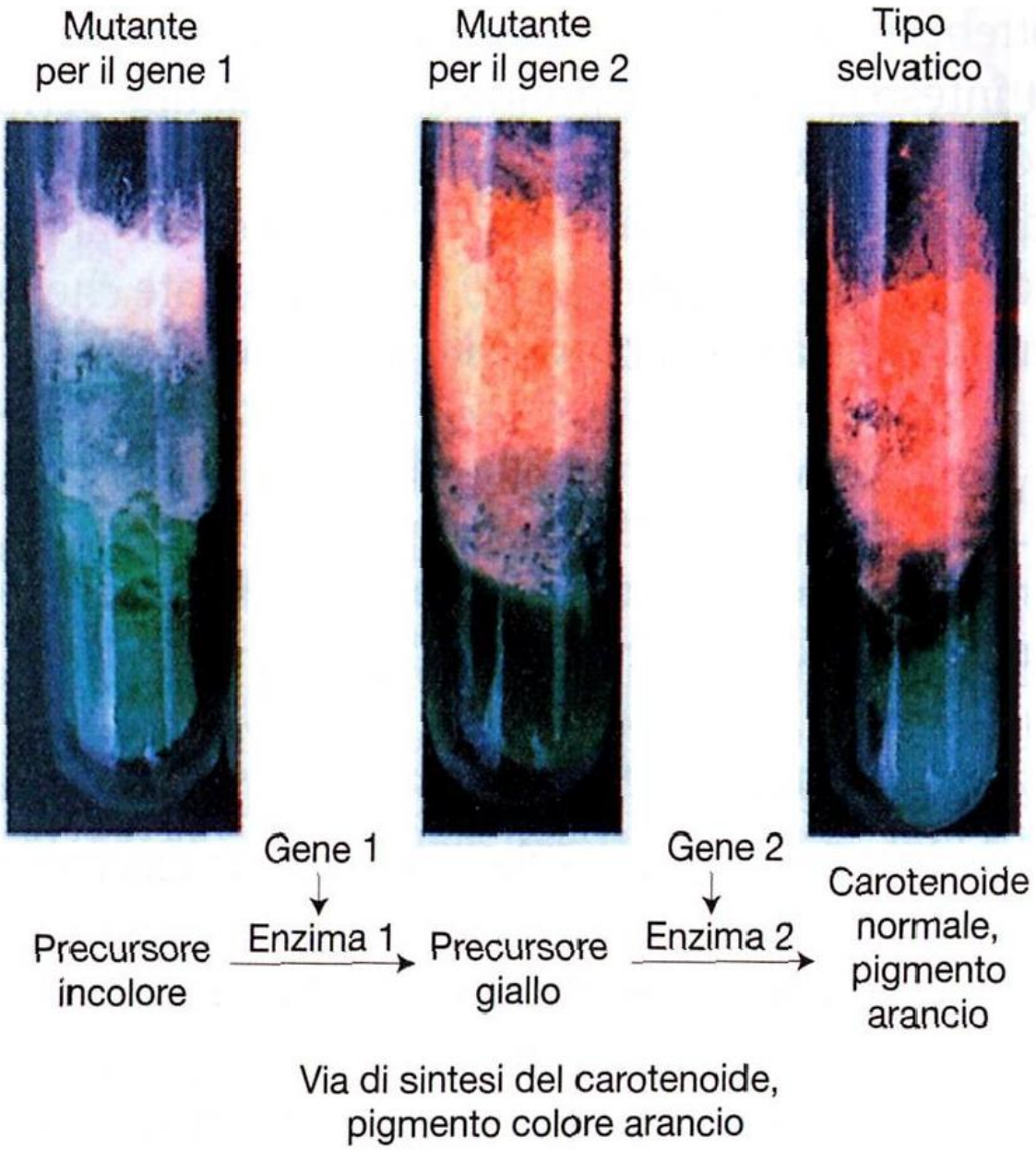
- Le vie metaboliche possono essere: **lineari, ramificate o cicliche**

- le vie metaboliche sono sempre **interconnesse** tra loro (la scelta di *estrapolare* una via metabolica dall'insieme del metabolismo è sempre in parte arbitraria)

- reagenti, intermedi, prodotti delle vie metaboliche sono detti **metaboliti**

Identificazione di geni

- **mutazioni** a carico di geni codificanti per enzimi portano al
- **blocco della via bio-sintetica** a livello di prodotti intermedi



Via di sintesi del carotenoide, pigmento colore arancio

Genetica biochimica
Beadle e Tatum: un gene – un enzima

- **Colture di *Neurospora***

- **Terreno minimo**: Sali inorganici, una fonte di C (glucosio o saccarosio), una fonte di N, biotina

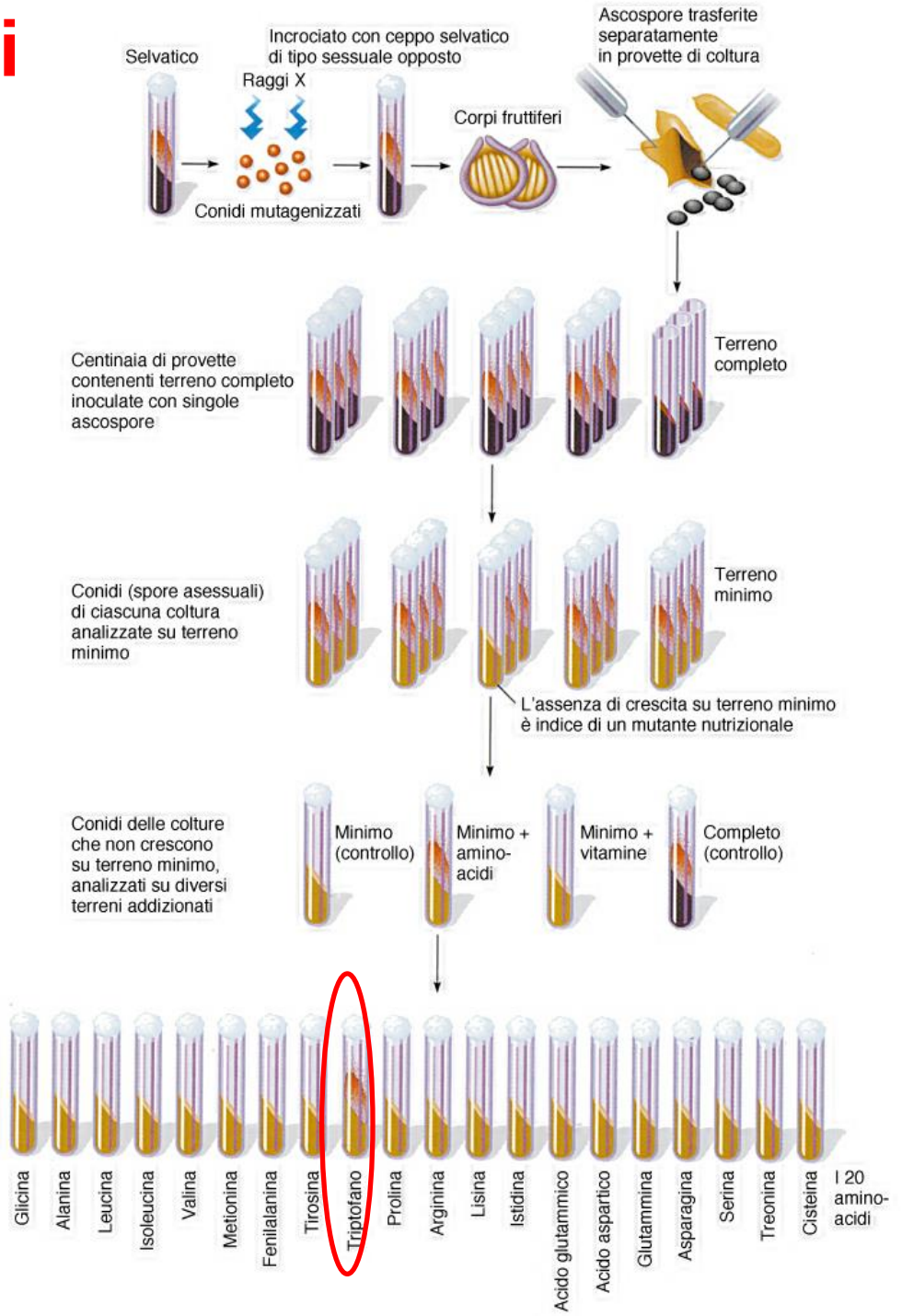
- **Terreno completo**: terreno minimo + tutti gli amminoacidi, tutti i nucleotidi e vitamine

- **Individui:** **prototrofi e auxotrofi** (o mutanti nutrizionali)

Isolamento di mutanti nutrizionali

- **Metodo utilizzato da Beadle e Tatum per isolare mutazioni auxotrofe in *Neurospora***

- **In questo caso il ceppo mutante isolato è auxotrofp per triptofano**



Esperimenti di Beadle e Tatum

- Mutanti di *Neurospora* auxotrofi per l'arginina, o *arg-*

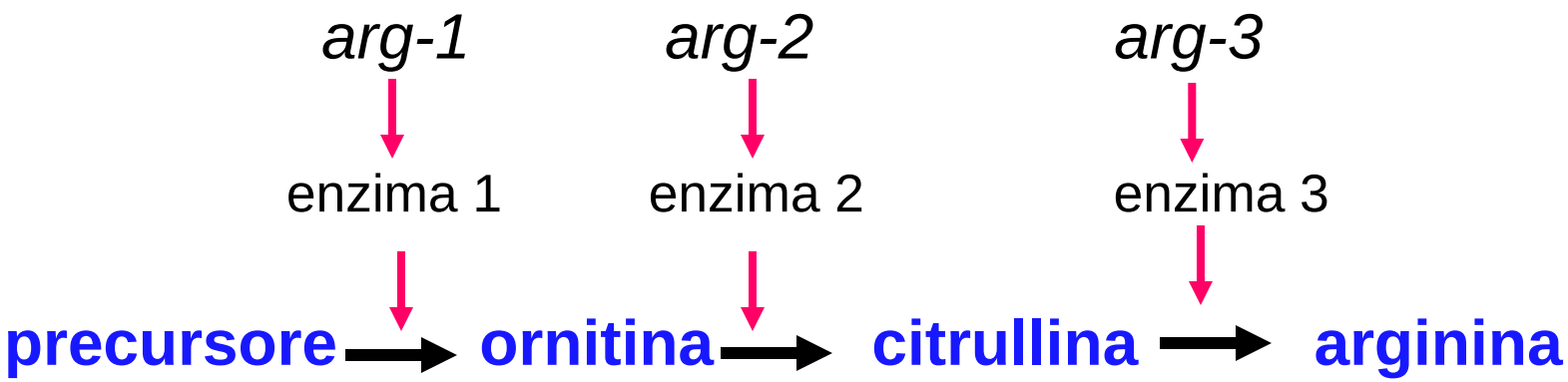
- Ceppi diversi portano la mutazione in tre diverse regioni del genoma: *arg-1*, *arg-2* e *arg-3*

- **Mutanti**

- *arg-3* crescono solo se al terreno minimo si aggiunge arginina;
- mutanti *arg-2* crescono se vengono aggiunte arginina o citrullina;
- mutanti *arg-1* crescono se vengono aggiunte arginina o citrullina o ornitina

Esperimenti di Beadle e Tatum: un gene – un enzima

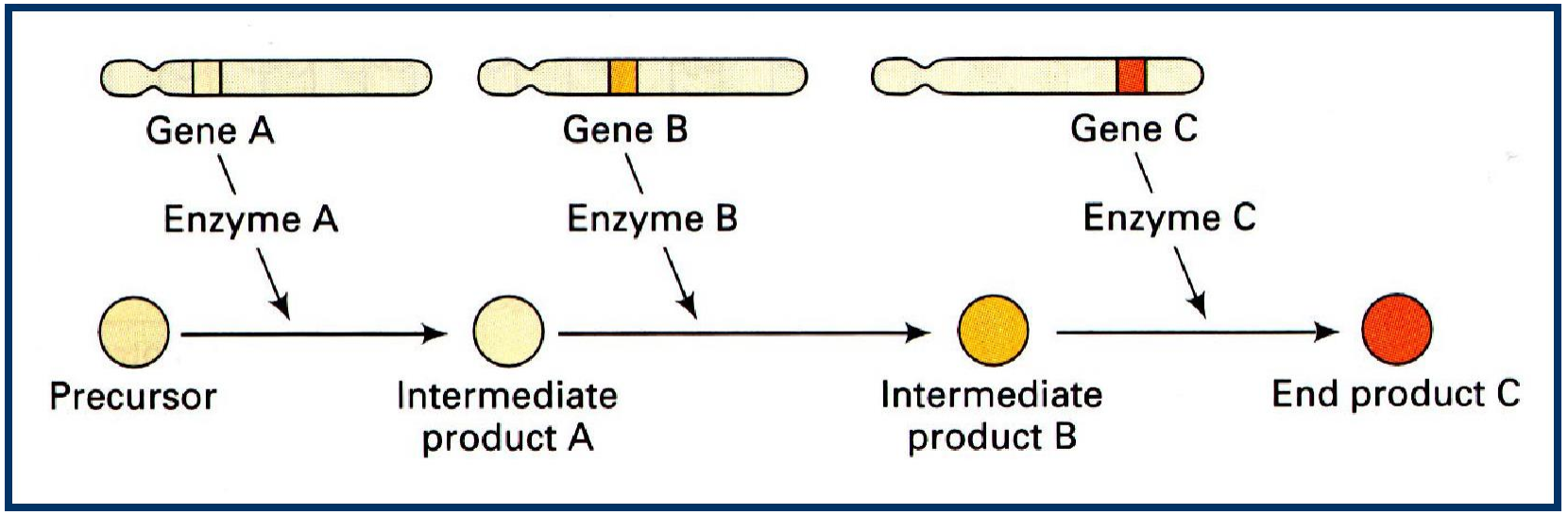
Beadle e Tatum dedussero le catene di reazioni biochimiche (e l'ordine di azione dei geni) dalle molecole che si accumulano nei mutanti



Conclusioni:

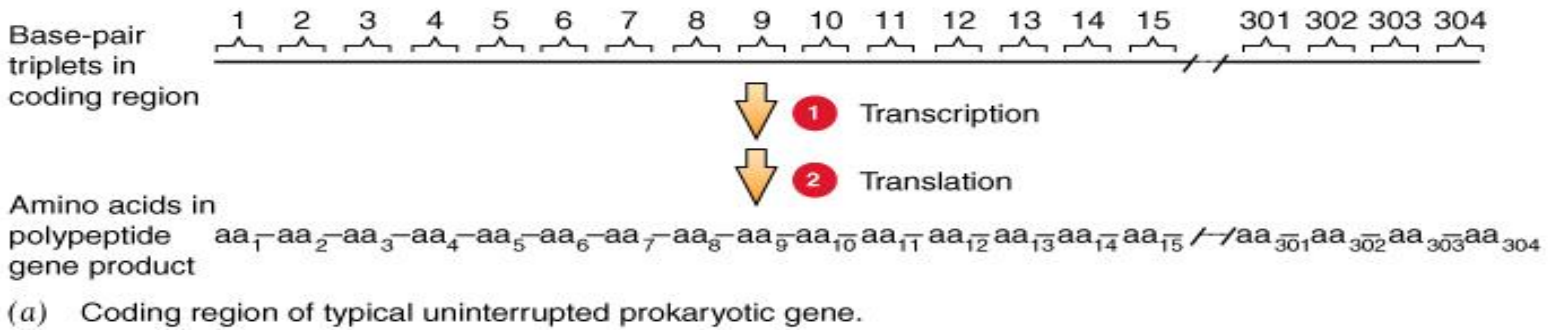
***arg*$^{-}_{1}$, *arg*$^{-}_{2}$ e *arg*$^{-}_{3}$** codificano per tre enzimi che **intervengono in successione nella conversione di un precursore in ornitina,**
da questa in citrullina,
e da questa in arginina

Concetto di gene

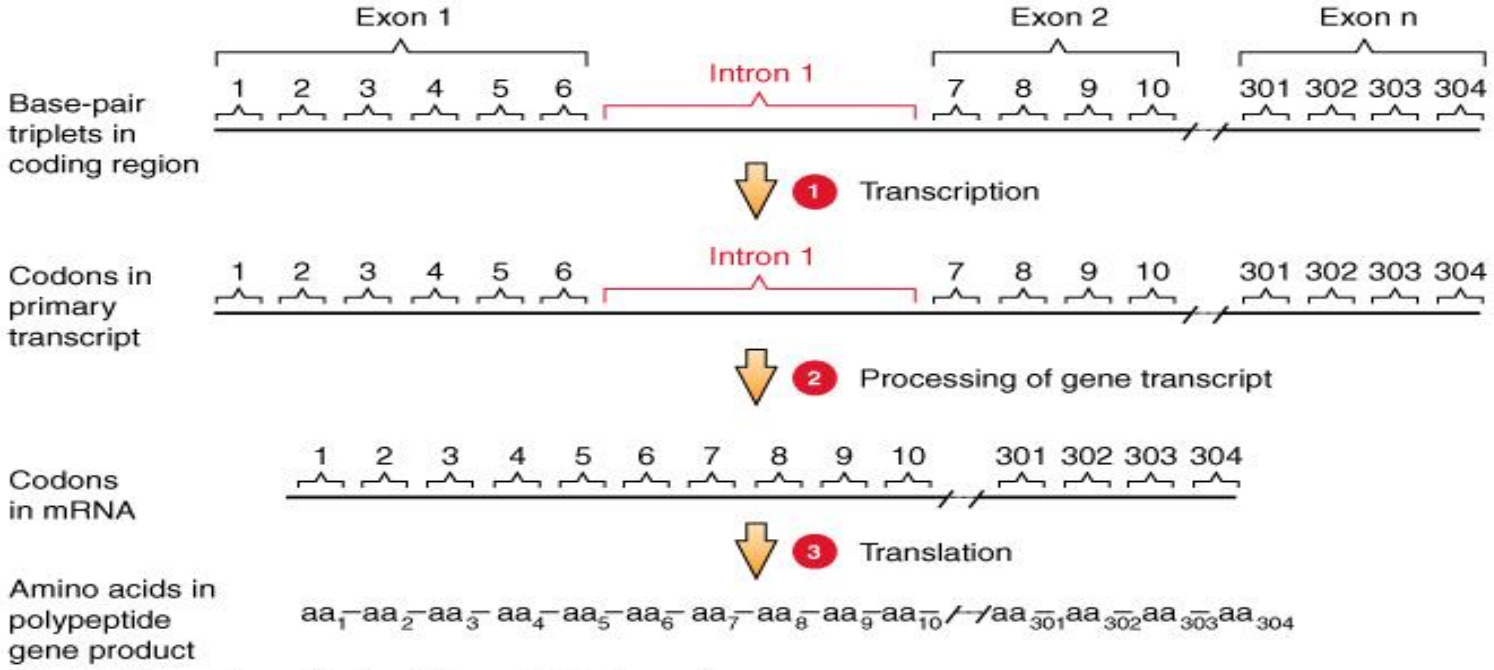


1 gene : 1 enzima

La sequenza codificante di un gene e il suo prodotto polipeptidico sono collineari

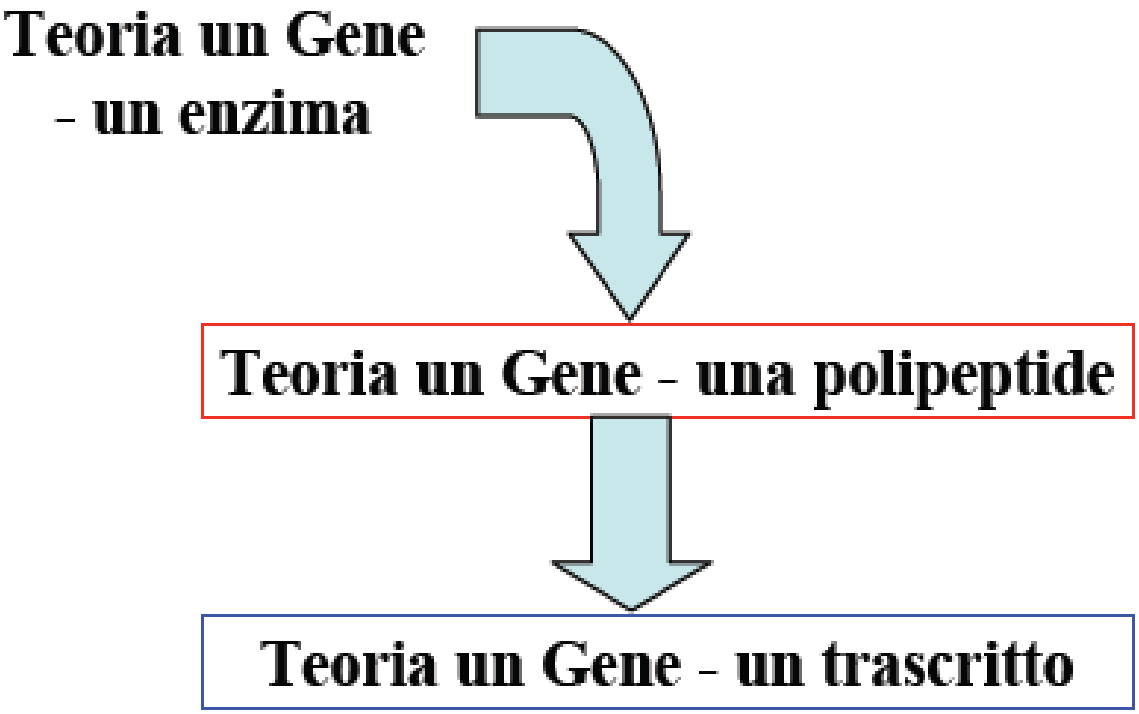


(a) Coding region of typical uninterrupted prokaryotic gene.



(b) Coding region of typical interrupted eukaryotic gene.

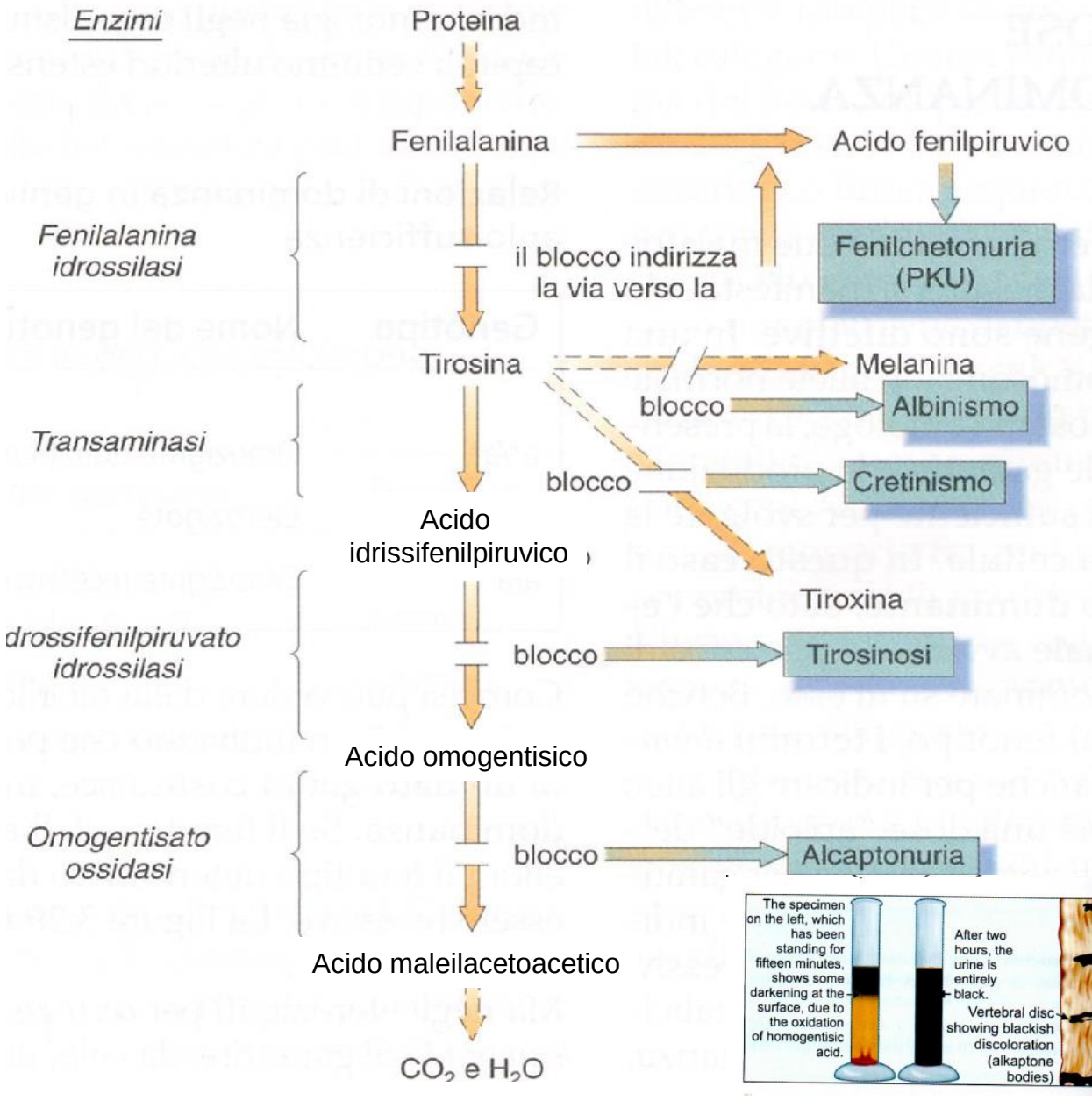
Copyright 2000 John Wiley and Sons, Inc.



- Mutazioni che risultano in perdita di attività enzimatica generano **accumulazione di precursori in una via biosintetica e assenza del prodotto finale**
- **Enzimi** sono proteine che **consistono di più di un polipeptide**,
- i geni specificano catene polipeptidiche individuali
- **La descrizione moderna di questa ipotesi è quindi: un gene-un polipeptide**

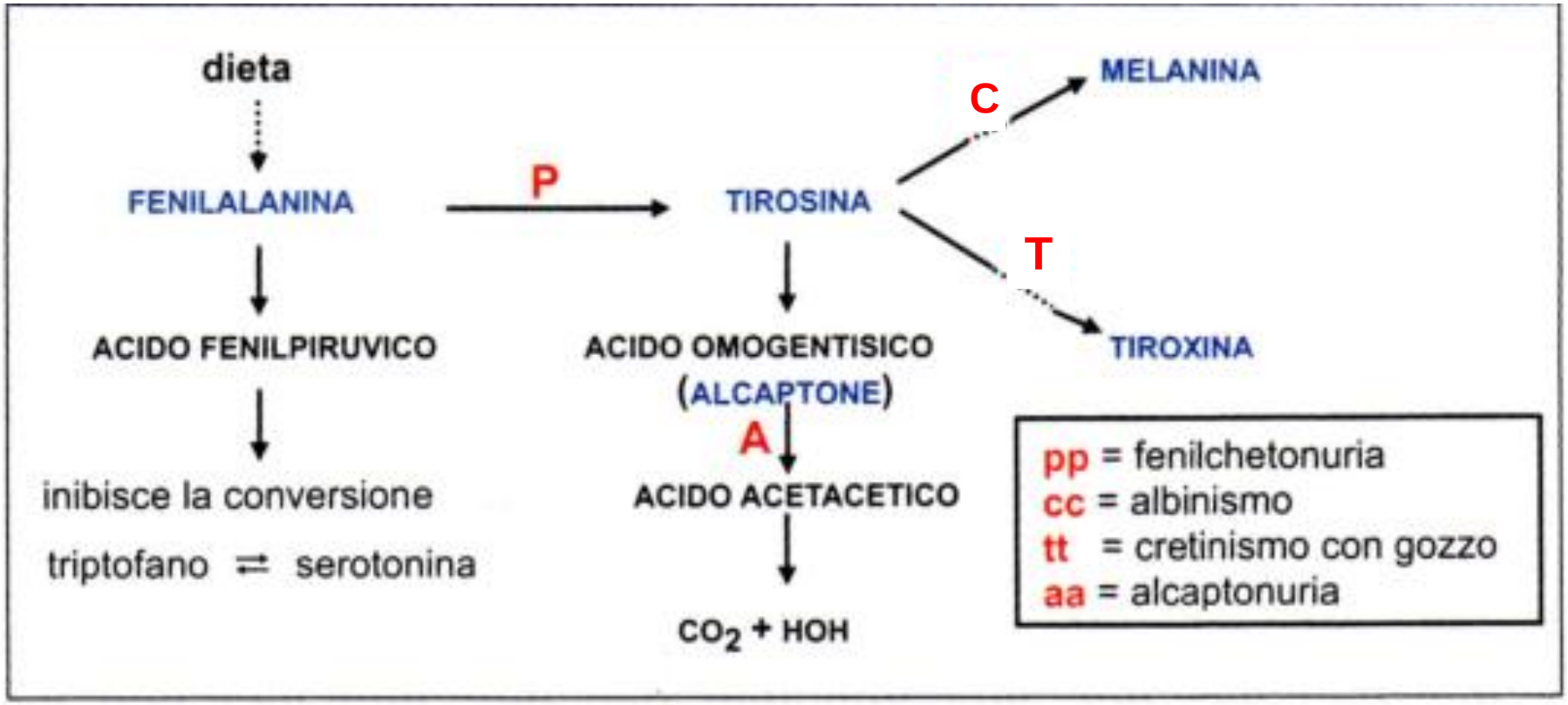
Geni e vie metaboliche

- **Le malattie metaboliche** dipendono da
- **difetti a carico dei geni codificanti per gli enzimi**
- **questi** sono responsabili delle diverse tappe della via metabolica



Geni che codificano per proteine enzimatiche

Metabolismo della fenilalanina nell'uomo



Fenichetonuria (PKU)

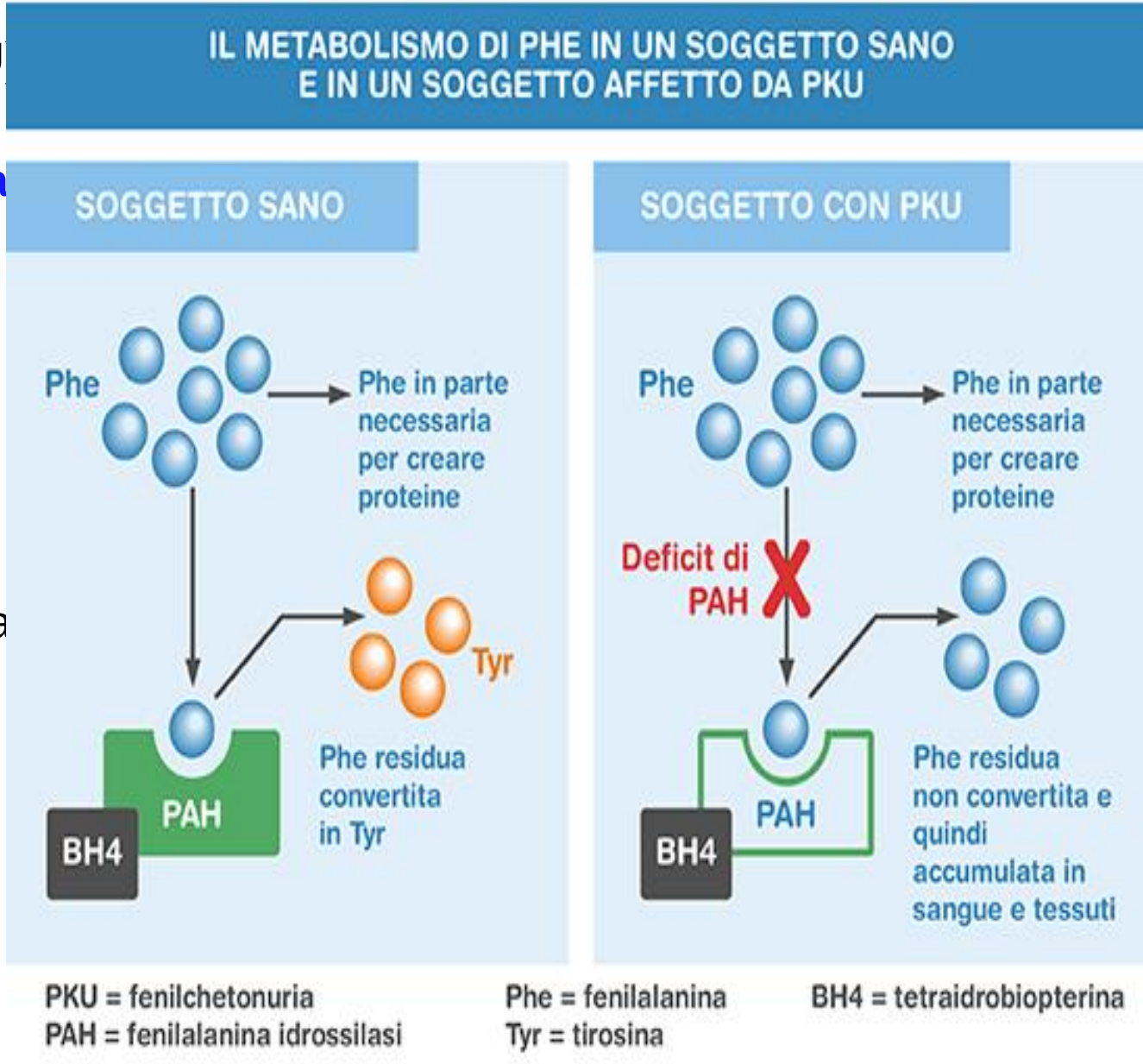
- Fenichetonuria (PKU) causata da

mutazione autosomica recessiva del gene

che codifica l'enzima **fenilalanina idrossilasi (PAH)**

-

- la mutazione ha una frequenza alla nascita in popolazioni del Caucaso di circa 1/12.000.



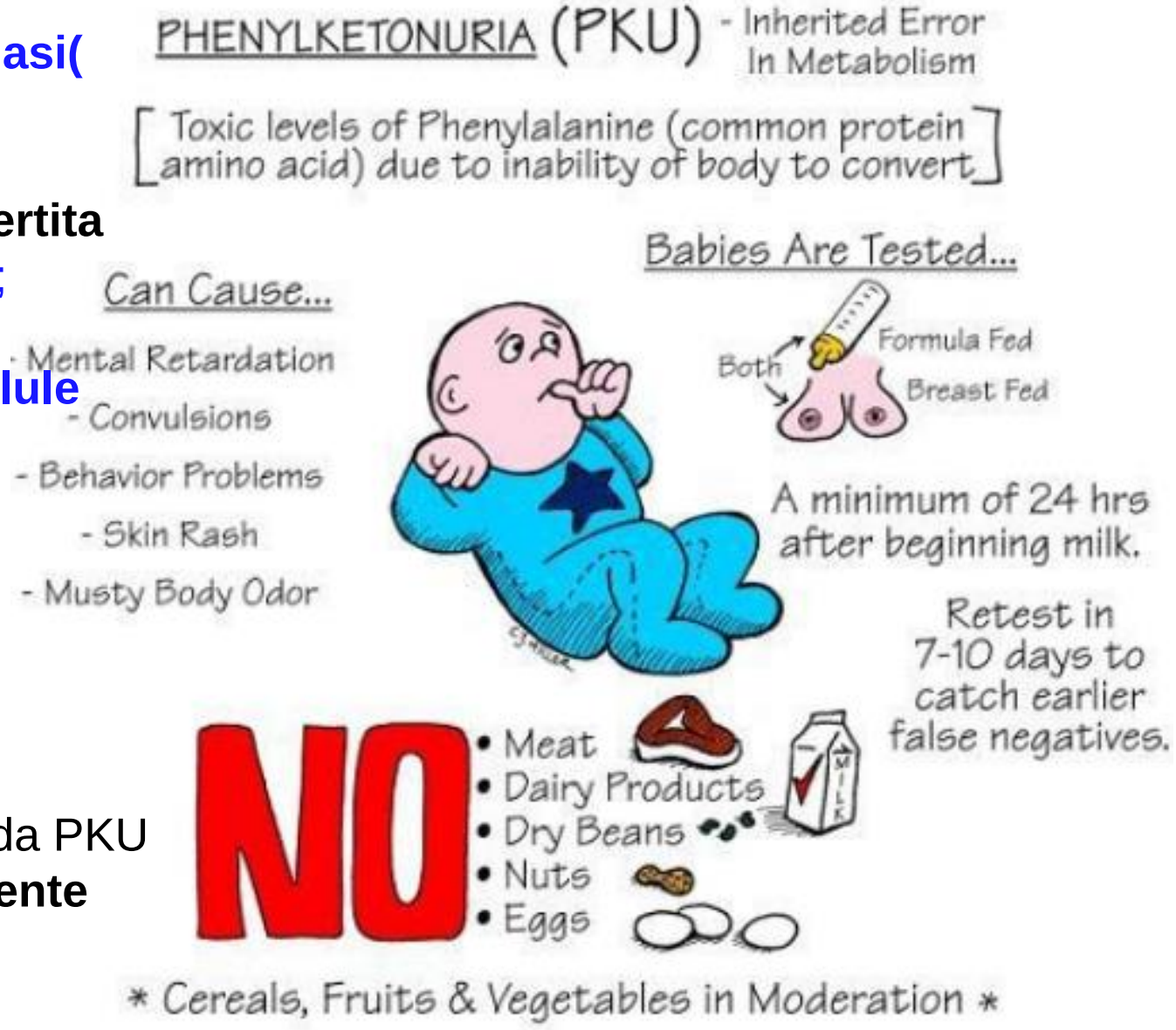
Fenilchetonuria PKU

- Senza **l'enzima fenilalanina idrossilasi(PAH)**
  la **fenilalanina** (a.a. Indispensabile) è **convertita ad acido fenilpiruvico**;

- questo **influenza cellule del sistema nervoso centrale**

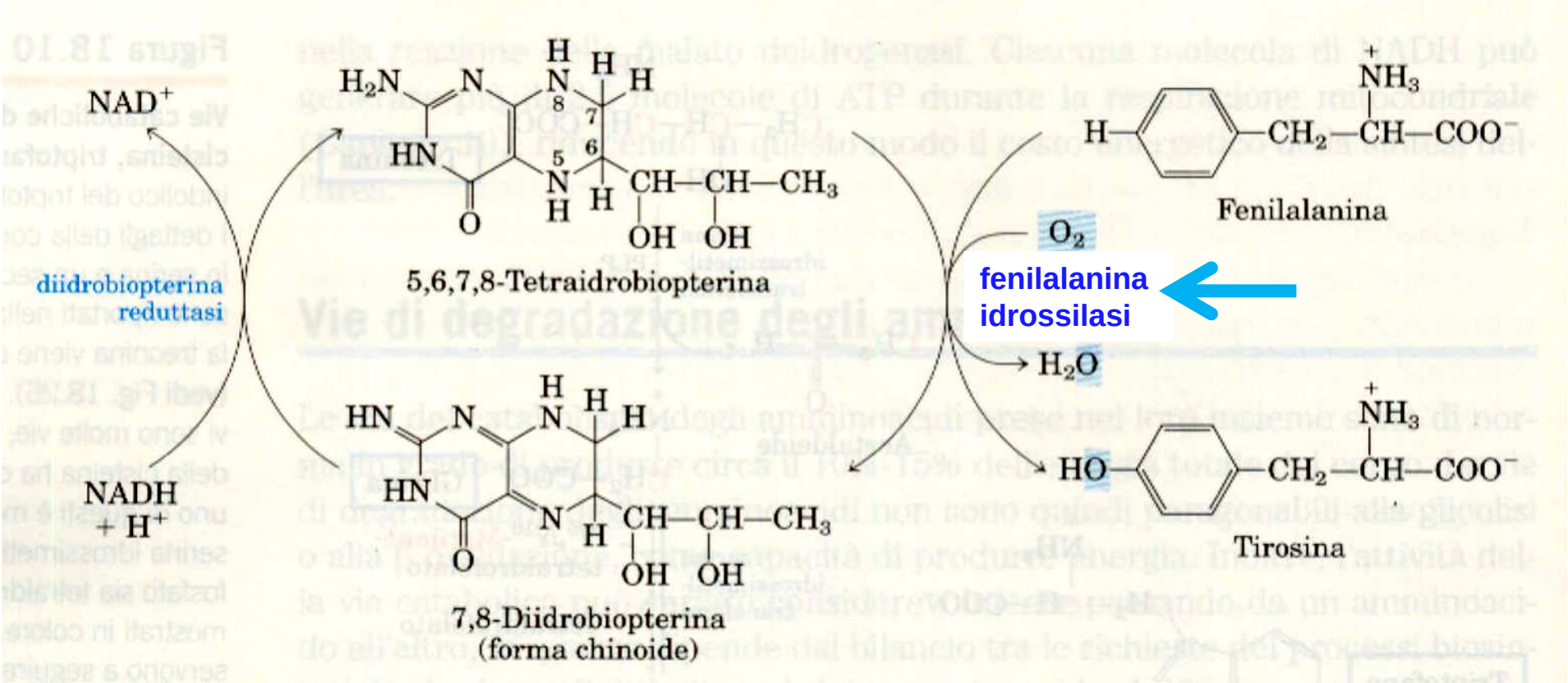
causando:
- ritardo mentale,
- crescita ridotta, e
- morte precoce.

➢ Una persona affetta da PKU può vivere **normalmente se la fenilalanina è tolta dalla dieta.**



Fenilchetonuria PKU

- In condizioni normali la **Phe viene idrolizzata a tirosina**



- PKU :dovuta a deficienza dell'enzima fenilalanina idrossilasi;
- ciò determina **accumulo di fenilalanina.**

Albinismo

- Albinismo è causato da
  - una **mutazione autosomica recessiva**

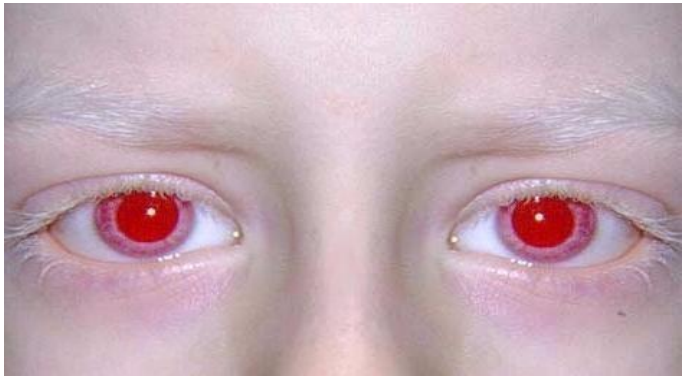
in un gene che codifica un enzima **(tirosinasi)** in grado di **convertire tirosina a melanina**, un pigmento marrone

  - *1:33.000 Caucasiani-*
  - *1:28,000 Afro-Americani*
- Senza melanina, gli albini hanno pelle e capelli bianchi, e occhi rossi
- Sono più sensibili alla luce:

melanina svolge un ruolo significativo nel proteggere la pelle dai raggi UV provenienti dalla radiazio-ne solare

Red eyes and white skin and hair

In an albino





An albino monkey

Via della biosintesi delle melanine.

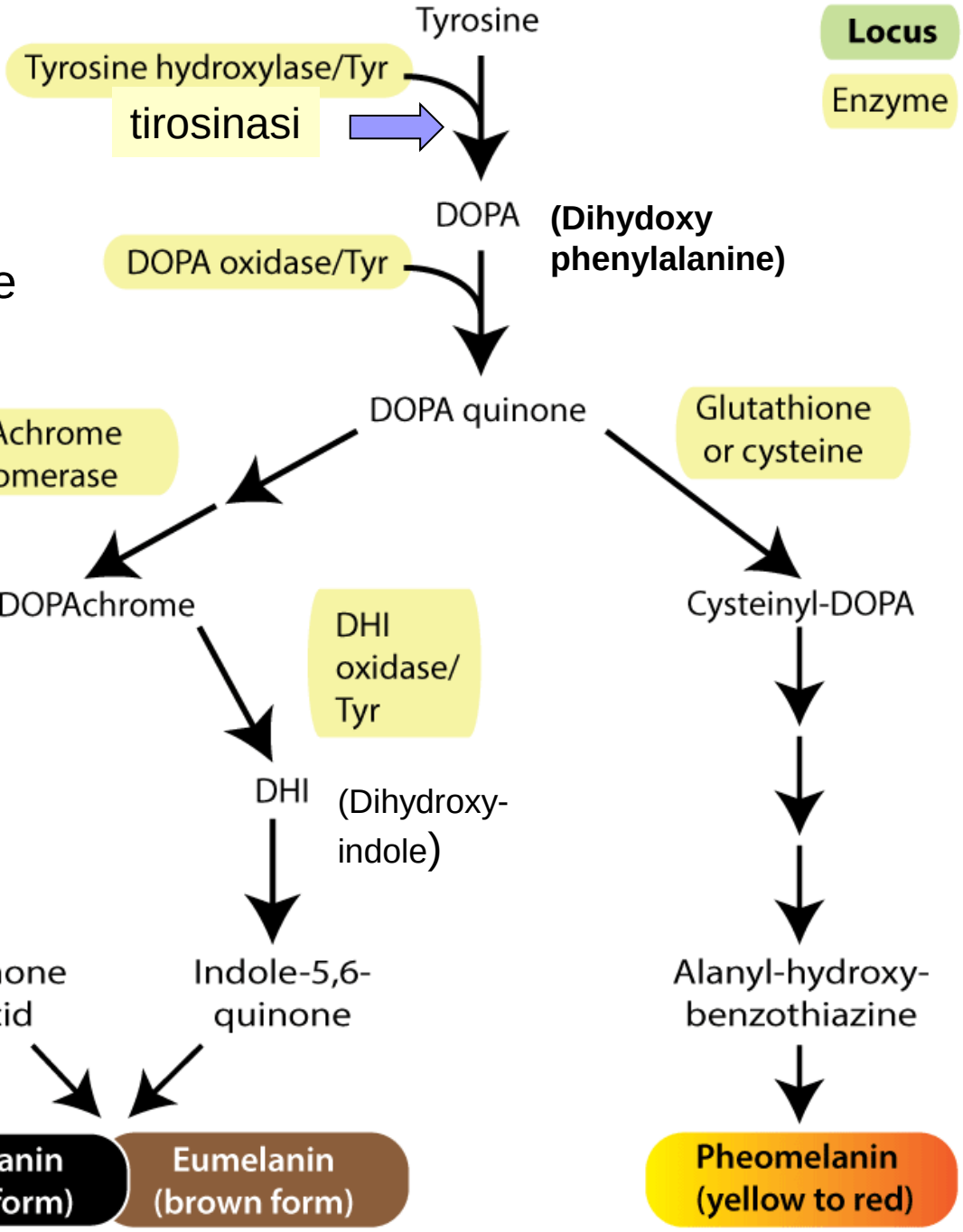
- Melanina, **un grosso bio-aggregato** composto da specie chimiche pigmentate,

- è presente in 2 forme principali di pigmenti

1. Eumelanina: marrone/nera altamente UV protettiva

- (5,6-dihydroxy-indole- 2-carboxylic acid)

2. Feomelanina rossa/bionda permeabile ad UV



Albinismo

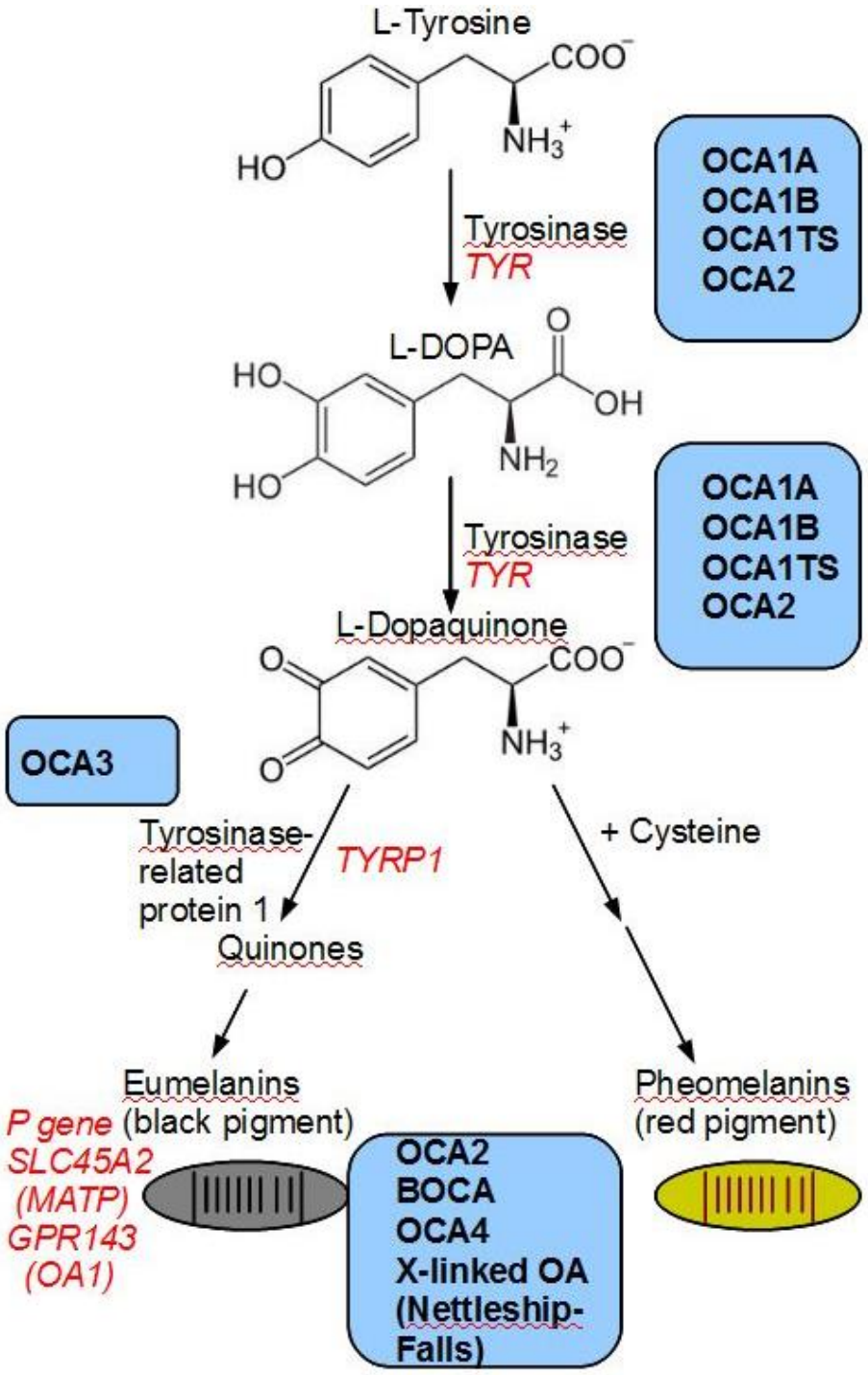
- Sono note **differenti mutazioni che influenzano i passaggi diversi della** biosintesi della melanina

- Quindi se due albini hanno figli,
  - i figli possono essere normali
  - se le mutazioni complementano

Via biosintetica della melanina

- I geni che, una volta mutati, portano a fenotipi clinici sono in corsivo e sono in rosso.
- Le abbreviazioni delle malattie si trovano adiacenti alla posizione nel percorso biochimico da cui derivano.
- *OCA1*A, albinismo oculo-cutaneo 1A;
- *OCA1B*, albinismo oculo-cutaneo 1B;
- *OCA1TS*, albinismo oculo-cutaneo 1 sensibile alla temperatura;
- *OCA2,* albinismo oculo-cutaneo 2;

BOCA, albinismo oculo-cutaneo bruno;
OCA3, albinismo oculo-cutaneo 3;
OA1, albinismo oculare 1;
OCA4, albinismo oculo-cutaneo 4.



Descritte circa Oltre 7000 malattie genetiche

Tabella 4.2 Alcune malattie genetiche umane con deficienza enzimatica dimostrata

Difetto genetico	Locus	Deficienza enzimatica	Numero accesso OMIM
Acidosi tubulare del rene con sordità	2cen-q13	Anidrasi carbonica B	267300
Aciduria orotica I[a]	3q13	Orotidilico decarbossilasi e orotidilico pirofosforilasi	258900
Alcaptonuria	3q21-q23	Acido omogentisico ossidasi	203500
Anemia emolitica[a]	3p21.1, 8p21.1, 20q11.2, 1q21	Glutatione perossidasi o glutatione reduttasi o glutatione sintetasi o esochinasi o piruvato chinasi	138320, 138300 231900, 266200
Atassia, intermittente[a]		Piruvato decarbossilasi	208800
Cataratta	17q24	Galattochinasi	230200
Chetoacidosi[a]	5p13	Succinil CoA:3-chetoacido CoA-transferasi	245050
Citrullinemia[a]	9q34	Arginino succinato sintetasi	215700
Convulsioni infantili piridossina-dipendenti	2q31	Glutammico decarbossilasi	266100
Deficienza della fosfatasi acida		Fosfatasi acida	20090
Deficienza della G6PD (favismo)[a]	Xq28	Glucosio-6-fosfato-deidrogenasi	305900
Deficienza della lattasi intestinale (adulto)		Lattasi	223000
Difetto nella sintesi dell'ormone tiroideo	2p25	Ioduro perossidasi o deiodinasi	274500
Distrofia muscolare, tipo di Duchenne e Becker	Xp21.2	Distrofina assente o difettiva, nel siero acetilcolinesterasi o acetilcolina transferasi o creatinina fosfochinasi elevate	310200
Encefalopatia necrotizzante di Leigh[a]	11q13.4-q13.5	Piruvato carbossilasi	266150
Enfisema polmonare	14q32.1	α-1-antitripsina	107400
Fenilchetonuria[a]	12q24.1	Fenilalanina idrossilasi	261600
Fibrosi cistica	7q31.2	Regolatore del trasporto transmembrana della fibrosi cistica (CFTR)	602421
Galattosemia[a]	9p13	Galattosio-1-fosfato uridil transferasi	230400
Immunodeficienza	1p32	Uridina monofosfato chinasi	191710
Intolleranza ai disaccaridi I	3q25-q26	Invertasi	222900
Intolleranza al fruttosio	9q22.3	Fruttosio-1-fosfato aldolasi	229600
Intolleranza alla lisina		Lisina: NAD-ossidoriduttasi	247900
Ipoglicemia e acidosi	9q22.2-q22.3	Fruttosio-1,6-difosfatasi	229700
Malattia da accumulo di glicogeno I	17q21	Glucosio-6-fosfatasi	232200
Malattia da accumulo di glicogeno II[a]	17q25.2-q25.3	α-1,4-glucosidasi	232300
Malattia da accumulo di glicogeno III[a]	1p21	Amilo-1, β-glucosidasi	232400
Malattia da accumulo di glicogeno IV[a]	3p12	Enzima di ramificazione del glicogeno	232500
Malattia delle urine a sciroppo d'acero, tipo IA[a]	19q13.1-q13.2	Chetoacido decarbossilasi	248600
Malattia di Gaucher[a]	1q21	Glucocerebrosidasi	230800
Malattia di Niemann-Pick[a]	11p15.4-p15.1	Sfingomielina idrolasi	257200
Porfiria, acuta intermittente[a]	11q23.3	Uroporfirinogeno III sintetasi	176000
Porfiria, congenita eritropoietica[a]	10q25.2-q26.3	Uroporfirinogeno III sintetasi	263700
Pseudoermafroditismo maschile		17,20 desmolasi testicolare	309150
Rachitismo, dipendente da vitamina D		25-idrossicolecalciferolo 1-idrossilasi	277420
Sindrome di Lesch-Nyhan	Xq26-q27.2	Ipoxantina guanina fosforibosil transferasi	308000
Sindrome di Tay-Sachs[a]	15q23-q24	Esosaminidasi A	272800
Tirosinemia, tipo III	12q24-qter	*p*-idrossifenilpiruvato ossidasi	276710

[a] Diagnosi prenatale possibile.

OMIM
Online Mendelian Inheritance in Man



Johns Hopkins University

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.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim

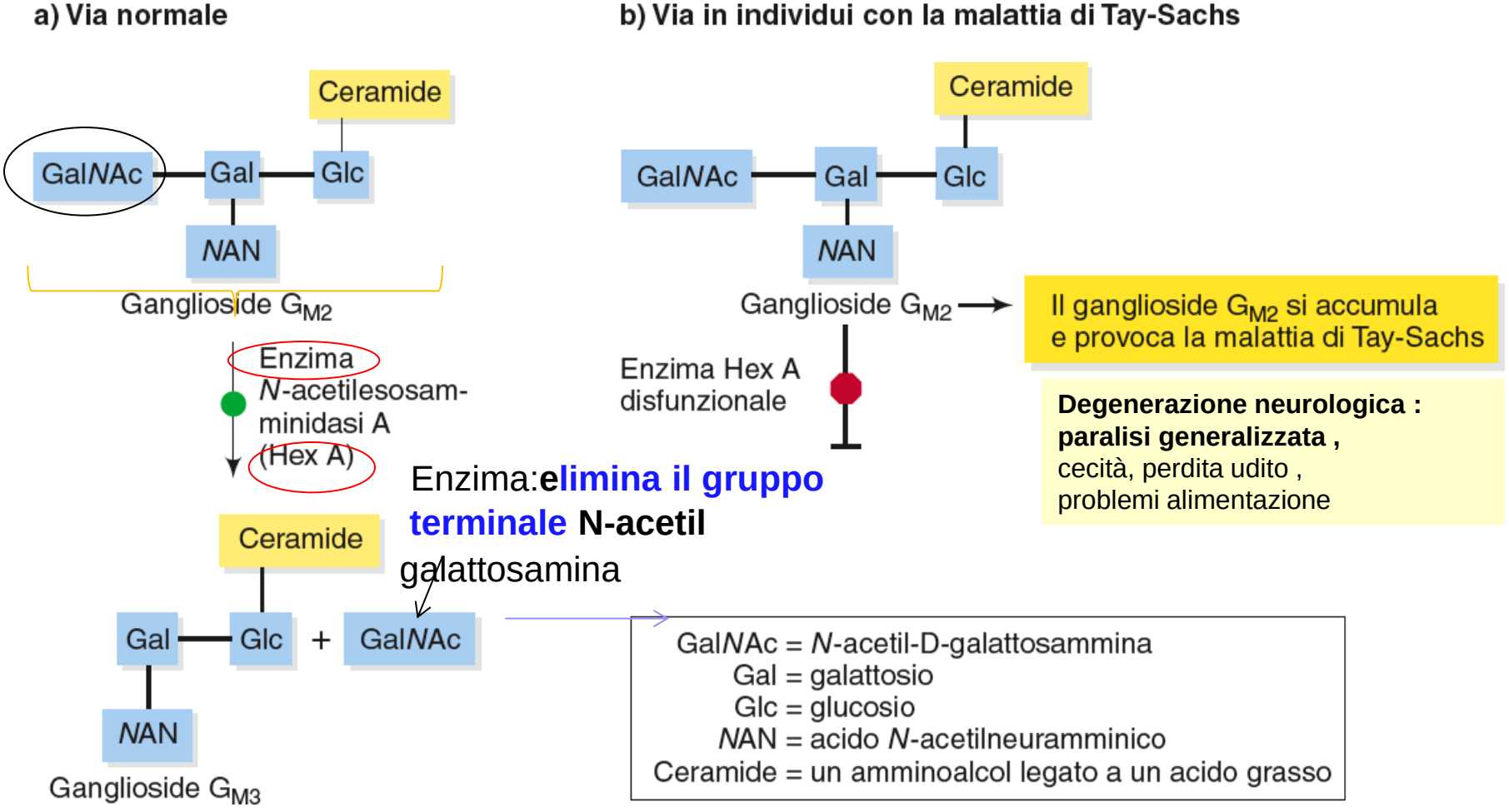
Malattie genetiche 1: sindrome di Tay-Sachs

(Idiozia amaurotica infantile)



Mutazione recessiva rara: 1:3600,
WT: specifica enzima lisosomiale

Schema passaggio biochimico per la conversione del ganglioside cerebrale G_{M2} in ganglioside G_{M3} , catalizzata da N-acetil-esos-amminidasi A (*Hex A).*



Ganglioside: parte di un un gruppo di glicolipidi complessi che si trova nelle membrane dei nervi

Geni che codificano per proteine strutturali
Malattie genetiche 2: Variabilità delle emoglobine umane

- **Varietà problemi clinici**:

  - Insufficienza cardiaca
  - Paralisi
  - Insufficienza renale
  - Dolori addominali
  - reumatismi

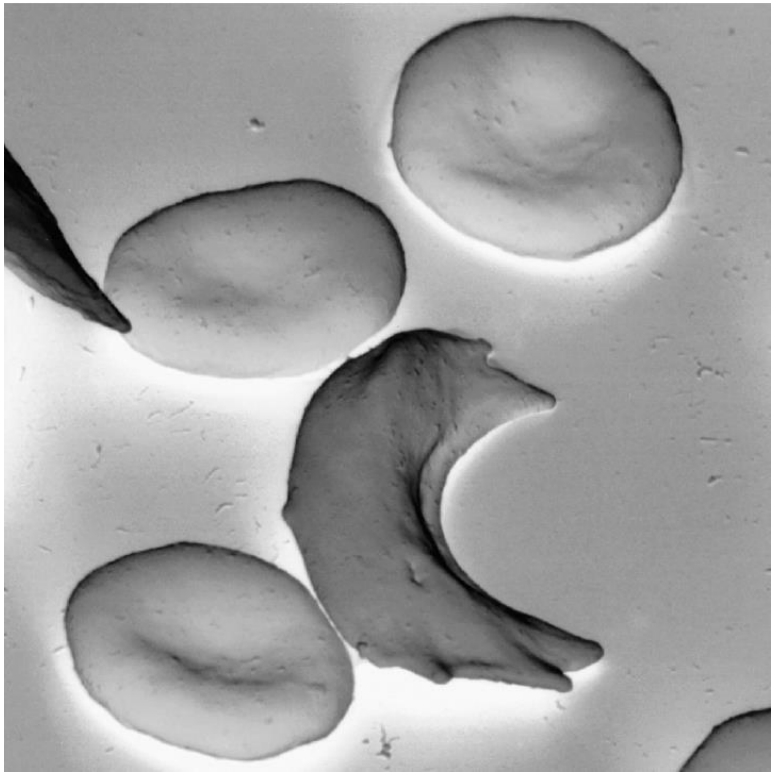


Figura 4.7

Struttura della molecola di emoglobina

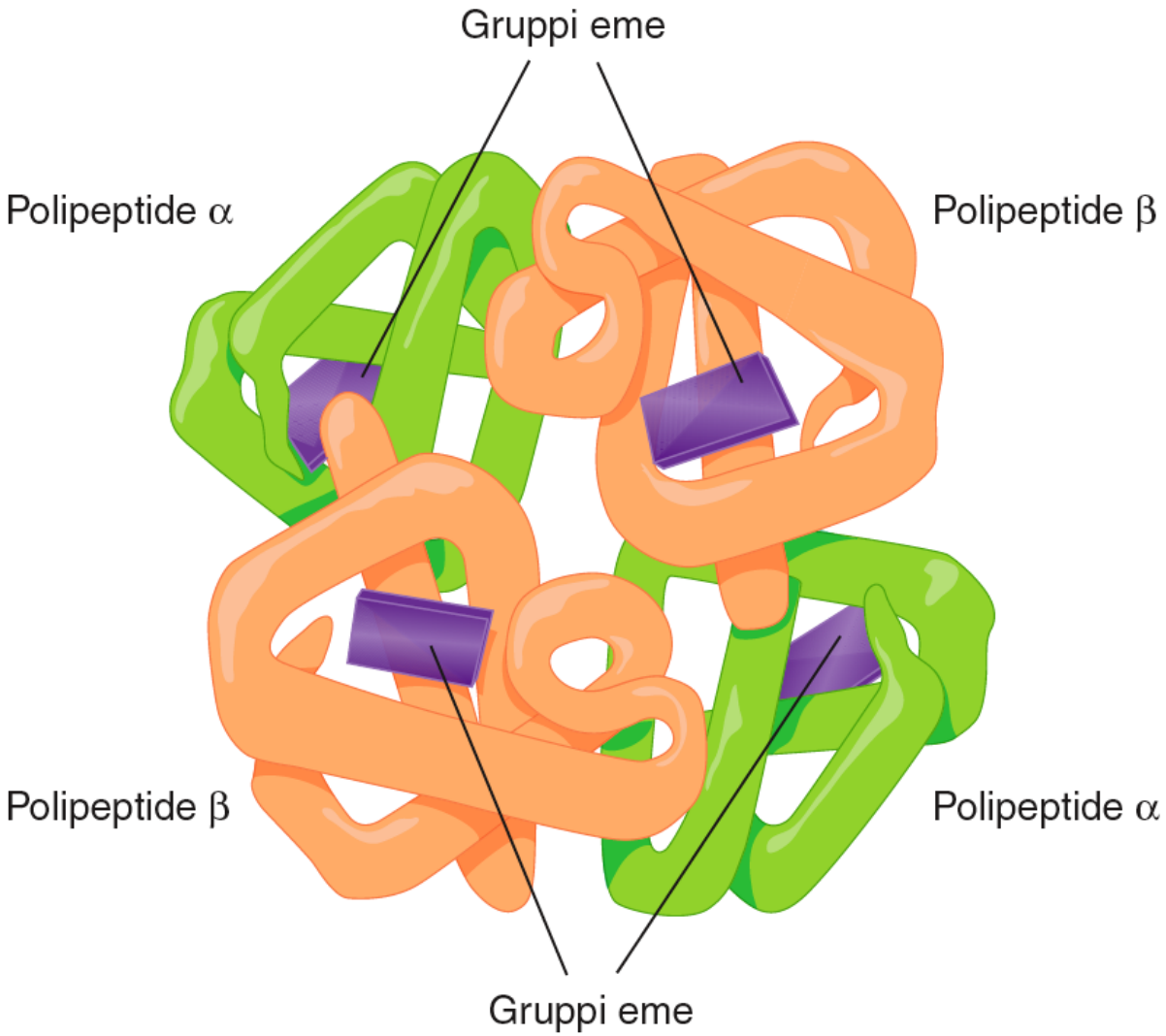
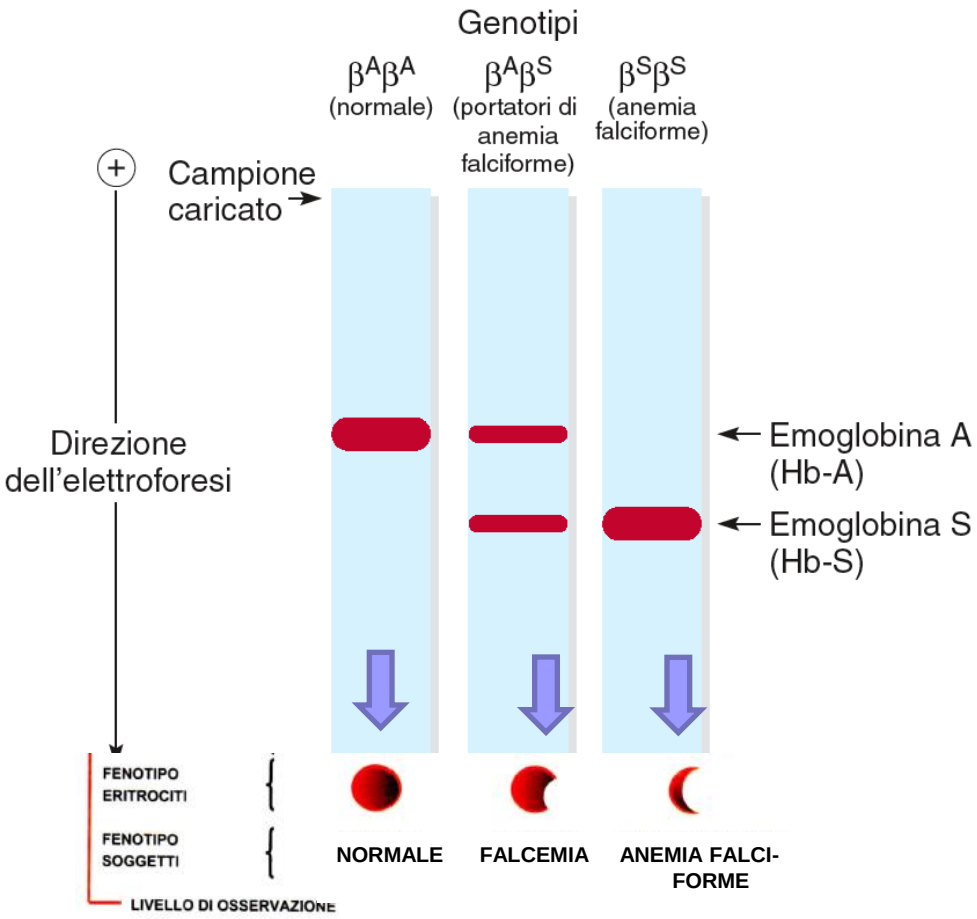


Figura 4.9

Anemia falciforme:
fenotipo a diversi livelli di osservazione.

- ***Hb^A: allele selvatico per le catene beta dell'emoglobina;***
- ***Hb^s : allele mutante***



Anemia falciforme: fenotipo a diversi livelli di osservazione

Primi 7 a.a N-terminali nei polipeptidi β nella emoglobina normale e di quella anormale

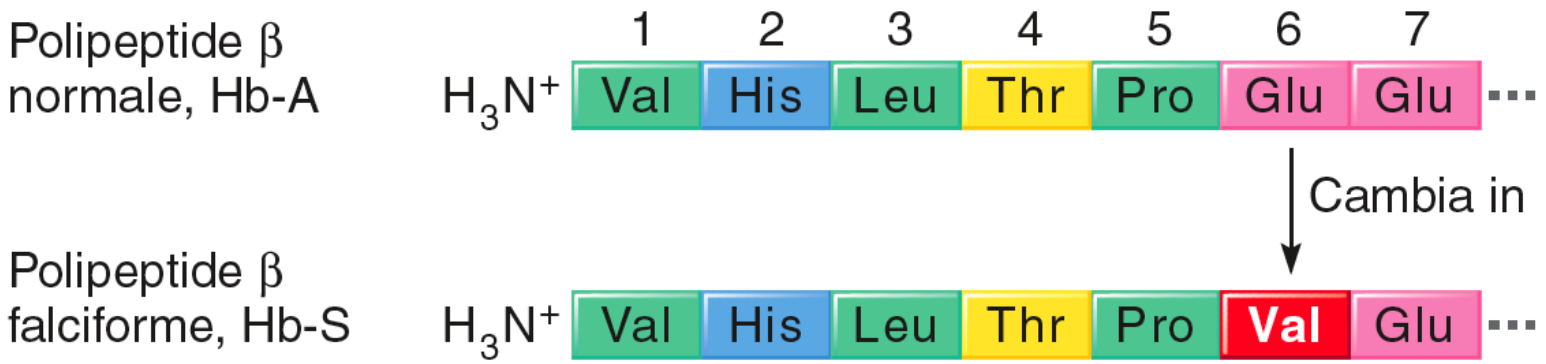


Figura 4.10

Esempi di sostituzioni a.a.
ritrovate in:

(a) 141 a.a : polipeptide della globina α

(b) 146 a.a: polipeptide della globina β in più varianti dell'emoglobina umana.

a) Catena α

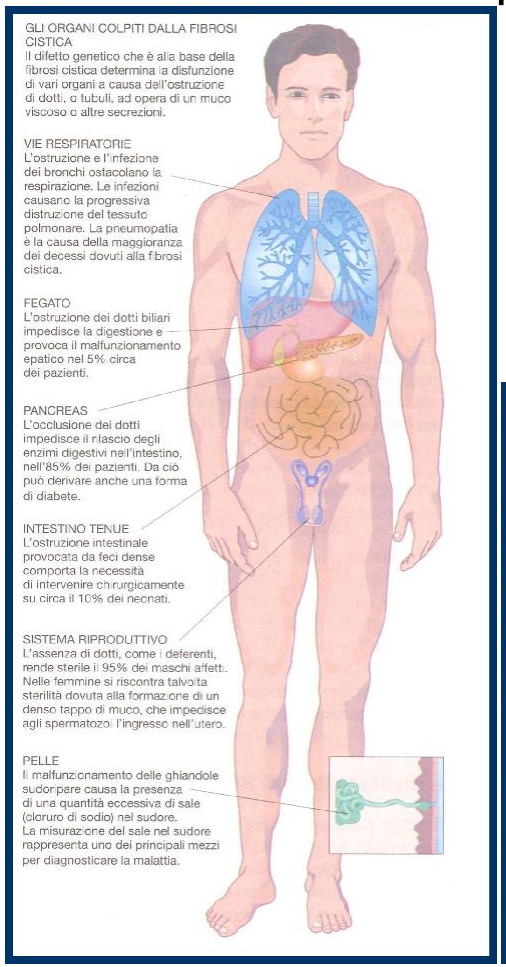
	Posizione degli amminoacidi						
	1	2	16	30	57	68	141
Normale	Val	Leu	Lys	Glu	Gly	Asn	Arg
Varianti Hb:							
HbI	Val	Leu	**Asp**	Glu	Gly	Asn	Arg
Hb-G Honolulu	Val	Leu	Lys	**Gln**	Gly	Asn	Arg
Hb Norfolk	Val	Leu	Lys	Glu	**Asp**	Asn	Arg
Hb-G Philadelphia	Val	Leu	Lys	Glu	Gly	**Lys**	Arg

b) Catena β

	Posizione degli amminoacidi						
	1	2	6	26	63	121	146
Normale	Val	His	Glu	Glu	His	Glu	His
Varianti Hb:							
Hb-S	Val	His	**Val**	Glu	His	Glu	His
Hb-C	Val	His	**Lys**	Glu	His	Glu	His
Hb-E	Val	His	Glu	**Lys**	His	Glu	His
Hb-M Saskatoon	Val	His	Glu	Glu	**Tyr**	Glu	His
Hb Zurich	Val	His	Glu	Glu	**Arg**	Glu	His
Hb-D β Punjab	Val	His	Glu	Glu	His	**Gln**	His

Malattie genetiche 3: fibrosi cistica

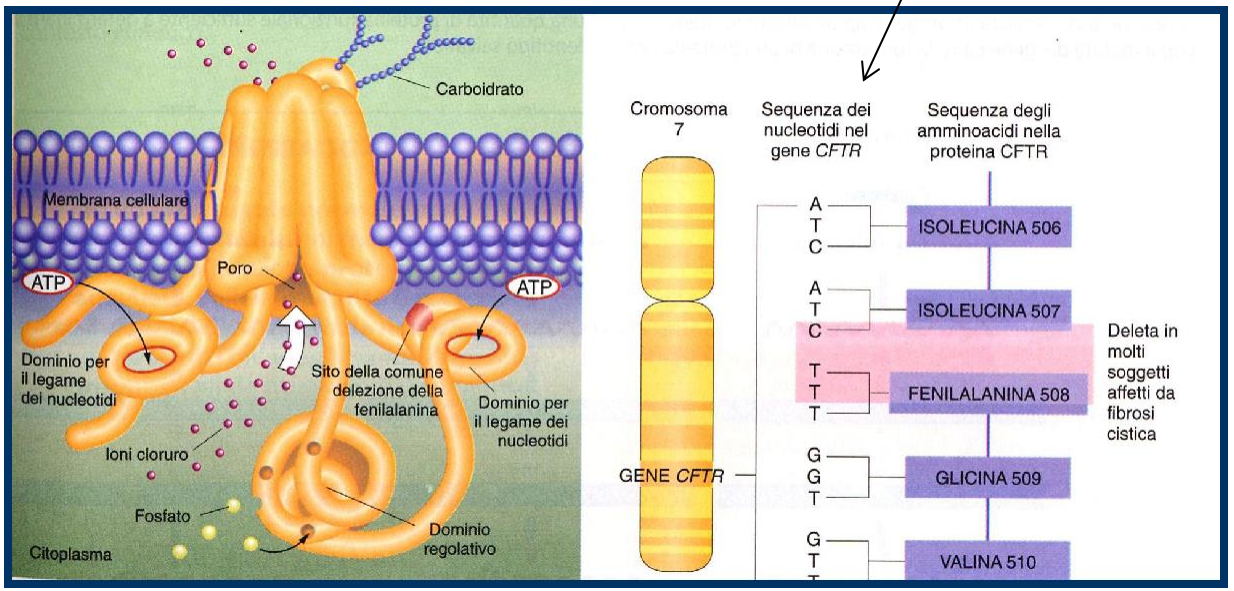
- La proteina codificata dal gene ***CFTR*** è un canale transmembrana appartenente alla superfamiglia delle ATPasi di traffico o trasportatori ABC, localizzato a livello della membrana apicale delle cellule epiteliali e deputato al **trasporto dello ione cloro**.



Mutazione autosomica recessiva

Frequenza in Europa: 1/2000 nati

delezione di 3 basi nel gene CFTR



CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator

Regolatore del trasporto transmembrana, CFTR

Mutazione:
alterato trasporto
di ioni attraverso
le membrrane

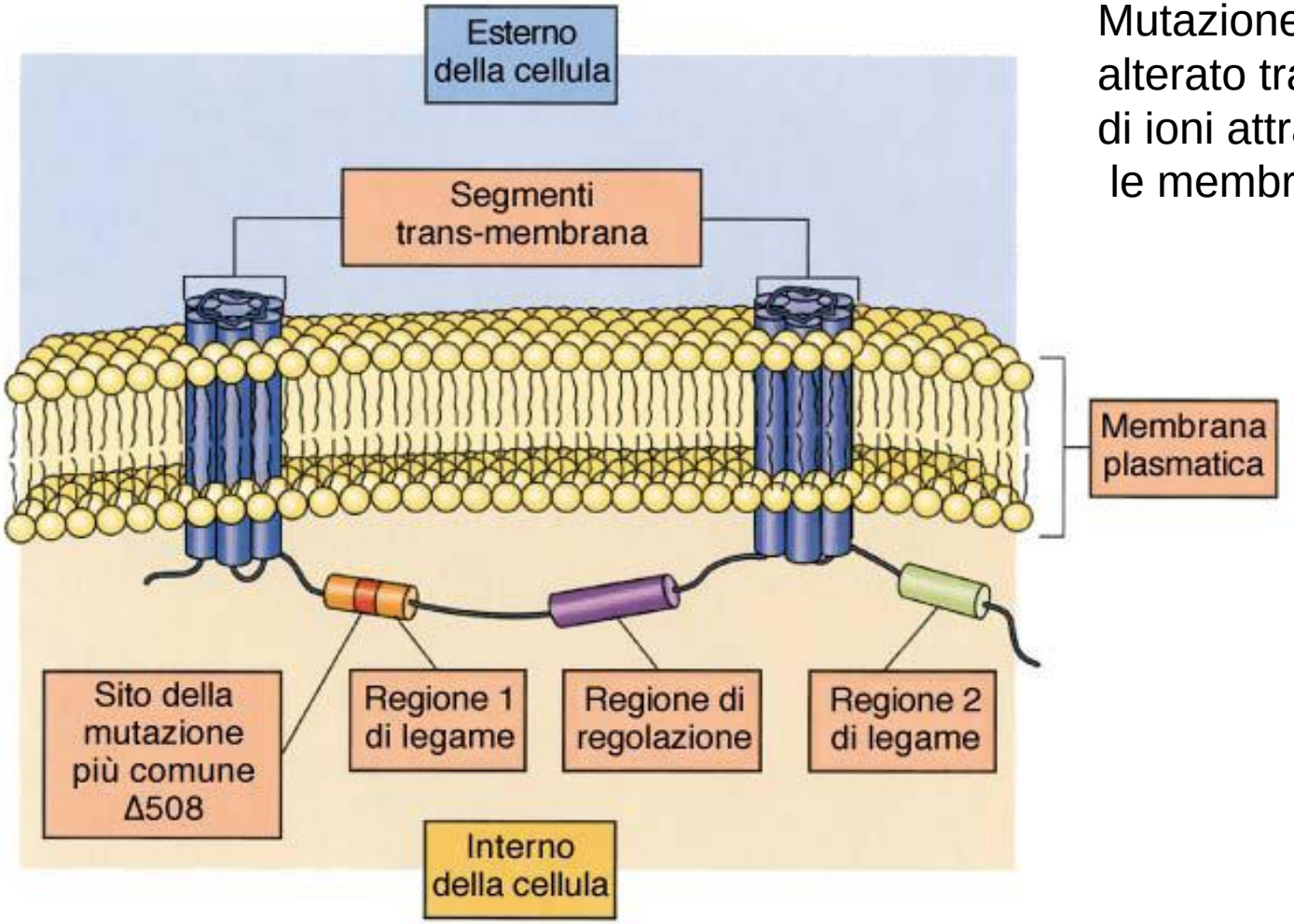


FIGURA 4.9 Il prodotto del gene della fibrosi cistica. La proteina CFTR è localizzata nella membrana plasmatica della cellula e regola i movimenti degli ioni cloro tra i due lati della membrana. Il sito regolativo controlla l'attività della CFTR in risposta a segnali provenienti dall'interno della cellula. Nella maggior parte dei casi di CF (70%) la proteina è priva della regione 1 di legame.

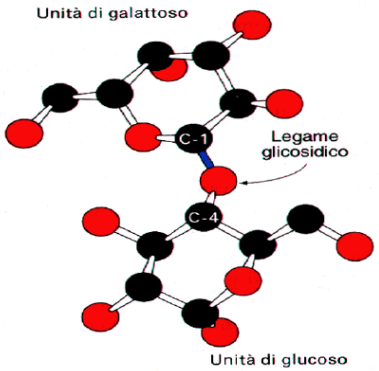
Malattie genetiche 4: Intolleranza al lattosio

- Dopo essere stato assunto con la dieta,
  - il lattosio viene idrolizzato a livello intestinale.

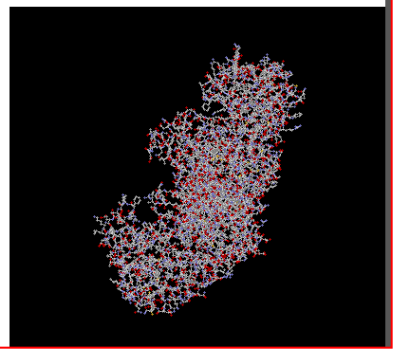


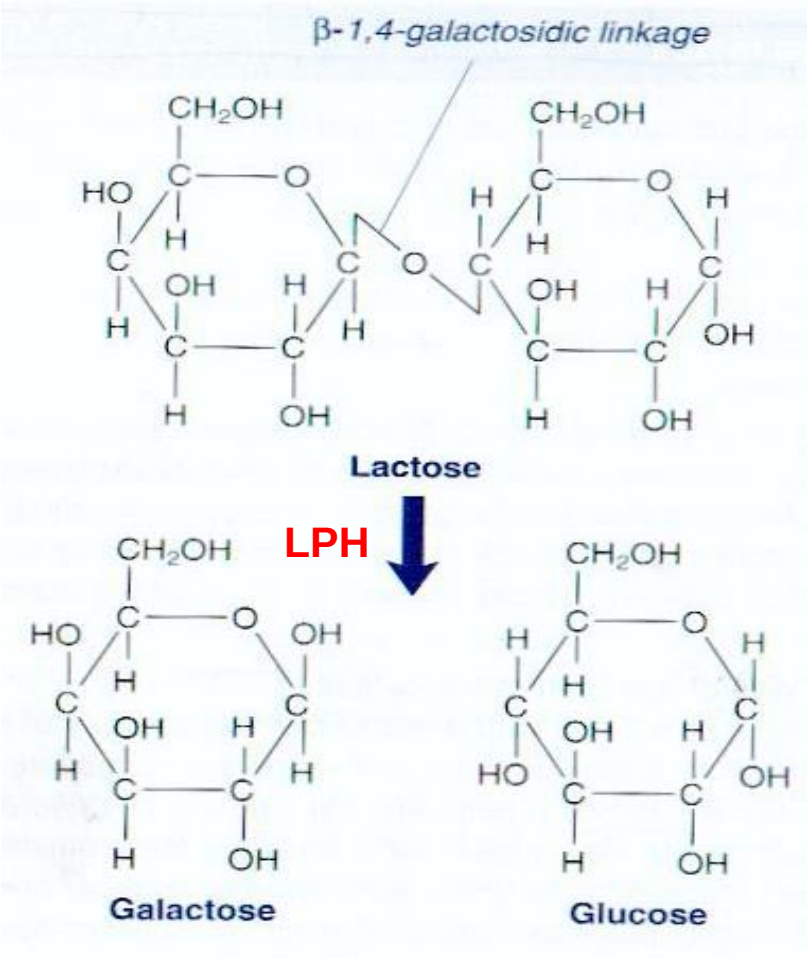
Malattie genetiche 4: Intolleranza al lattosio

Molecola di lattosio.



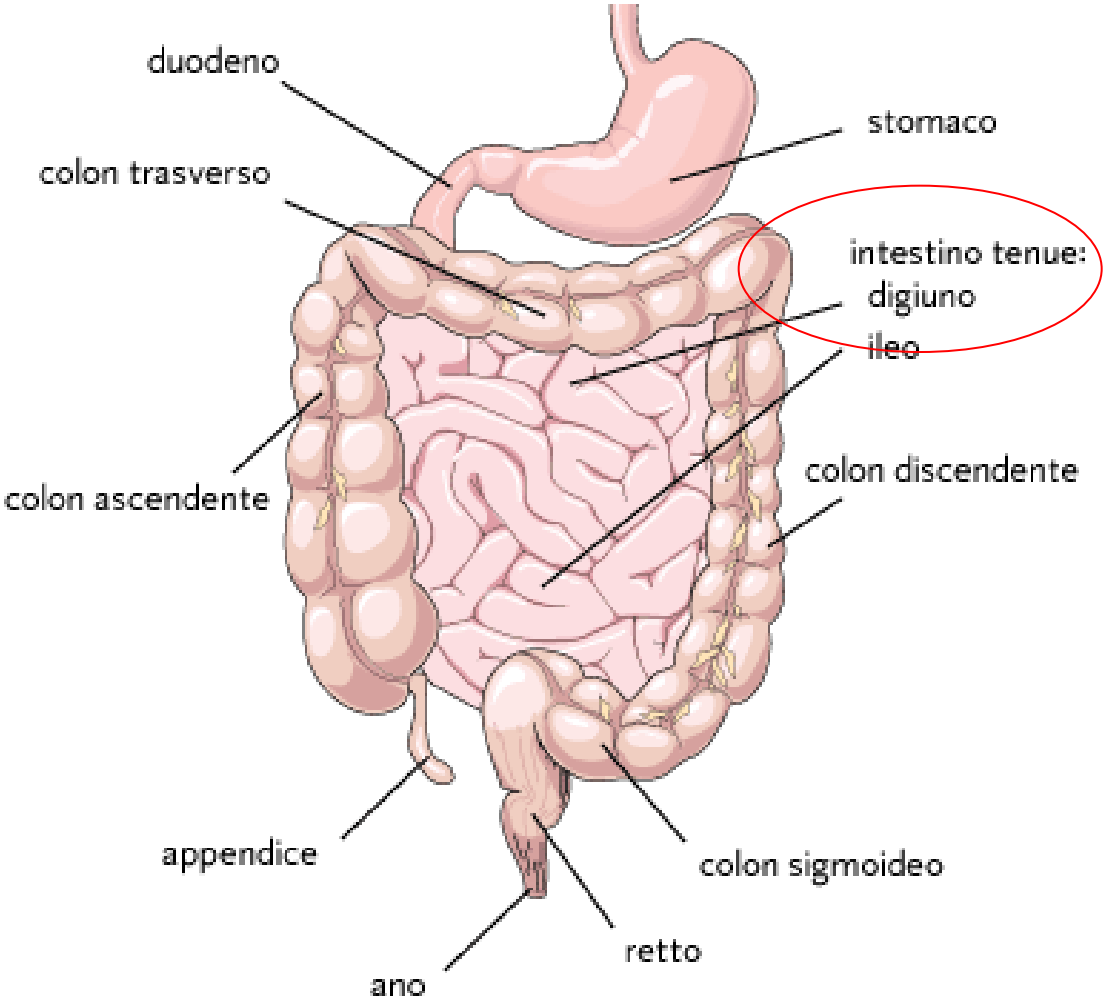
- L'enzima lattasi-florizina idrolasi (LPH)



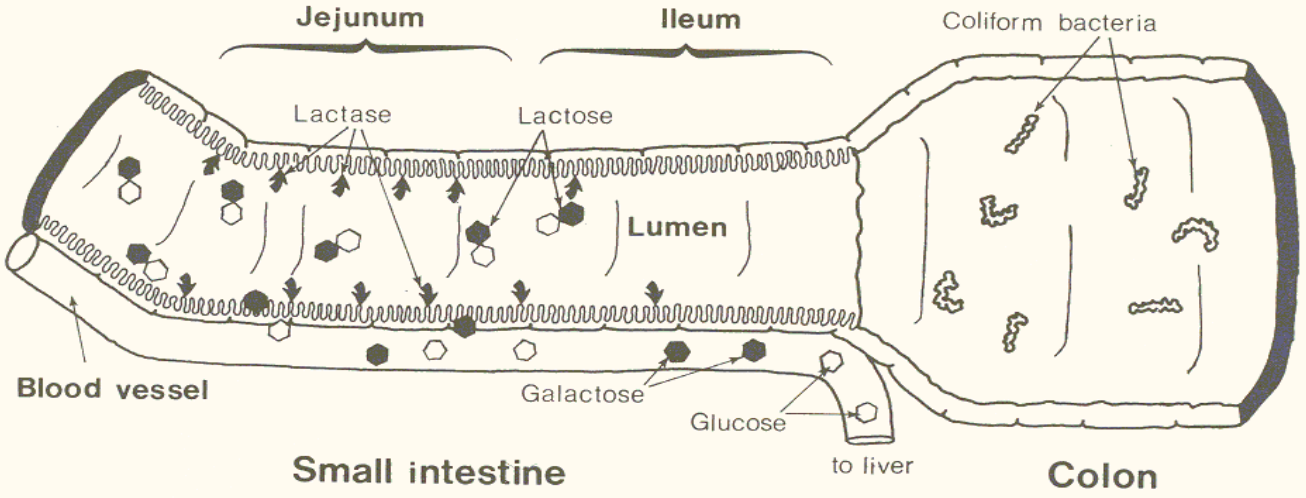


Malattie genetiche 4: Intolleranza al lattosio

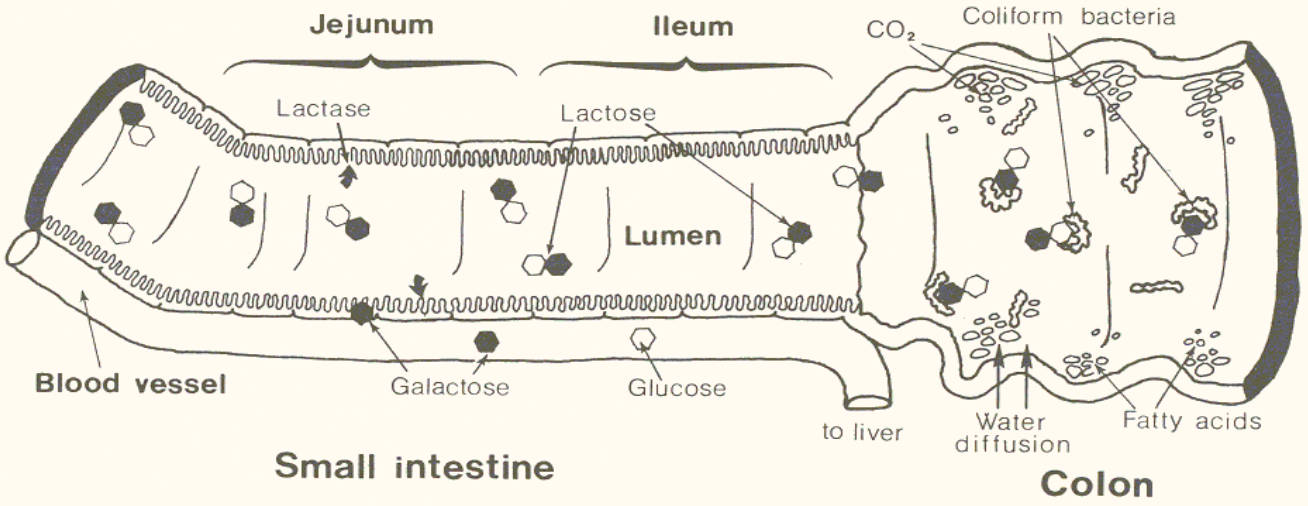
- L'ipolattasia deriva dalla ridotta attività fisiologica dell'enzima **LPH**
- prodotto dalle cellule **dell'intestino tenue.**



Panel A Lactose absorber



Panel B Lactose malabsorber



Intolleranza al lattosio

Le persone intolleranti al lattosio manifestano i primi sintomi a 2-3 anni

Diventano completamente intolleranti a 5-10 anni

Essi vengono chiamati lattasi non persistenti.

Coloro che invece possiedono l'enzima ancora attivo vengono chiamati lattasi persistenti.







Rappresentazione diagrammatica dell'espressione del livello di lattasi a differenti stadi di sviluppo e in individui adulti lattasi persistenti e non-persistenti

E' un'intolleranza alimentare molto frequente, generata **dal deficit di produzione da parte degli enterociti dell'enzima lattasi**

FOETUS

Low expression

INFANT

High expression

ADULT

High expression

"lactase persistence"

- lattasi persistente : caratterizzato da livelli elevati di attivita lattasica nell'adulto,
- comparso 10000 anni fa con lo sviluppo dell'allevamento degli animali.

ADULT

Low expression

"lactase non-persistence"

- lattasi non persistente: diminuzione dell'attivita lattasica,
- caratteristica ancestrale del genere umano,
- presente in tutte le altre specie di mammiferi

Intolleranza al lattosio

- Il gene per **l'enzima lattasi (**lattasi florezin idrolasi),
  - denominato **LCT,** è
  - localizzato sul cromosoma 2 alla posizione q21
  - formato da 50 kb
  - presenta nella sua sequenza 17 esoni
  - la sua attività è regolata da un promotore subito a monte del primo esone del gene
  -



❑ I **lattasi persistenti** sono coloro che hanno subito una **mutazione nel gene regolatore dell'enzima lattasi:**

- digeriscono il lattosio anche in età adulta.

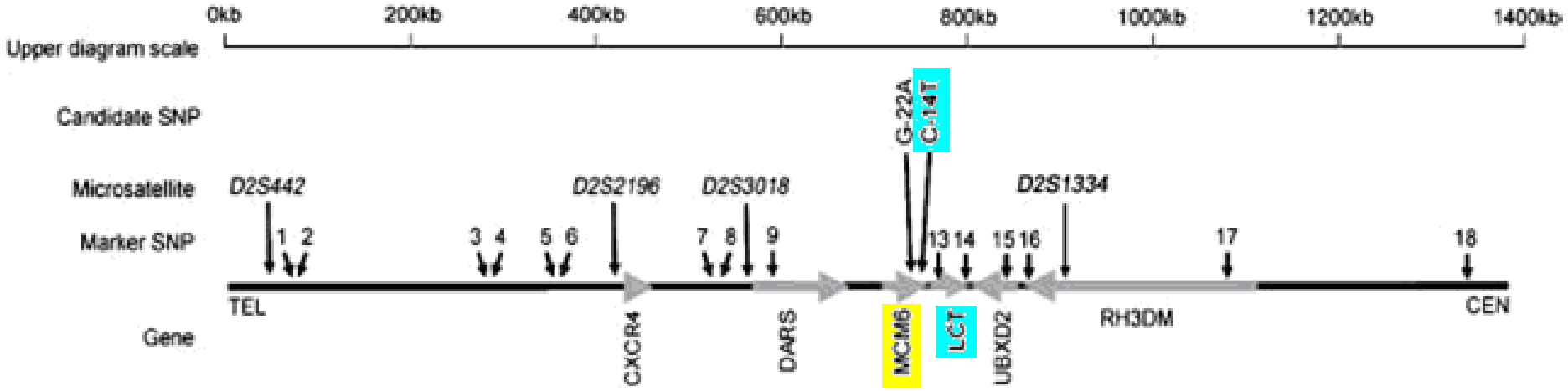
❑ I **lattasi non persisten**ti sono coloro che **non hanno subito una mutazione**

- per cui dallo svezzamento in poi hanno una produzione limita

Intolleranza al lattosio

- La mutazione **coinvolge un singolo nucleotide situato a 14 Kb** prima del sito di inizio della trascrizione della lattasi,
- precisamente in un introne del gene ***MCM6*** (***mini-chromosome maintenance protein)***

- La mutazione è dovuta ad **polimorfismo nella posizione** C/T 13910 secondo il database;
- È una **sostituzione del nucleotide C-->T** in un punto del gene regolatore di *LCT* che si riflette con un differente livello di attivazione trascrizionale del promotore di *LCT.*

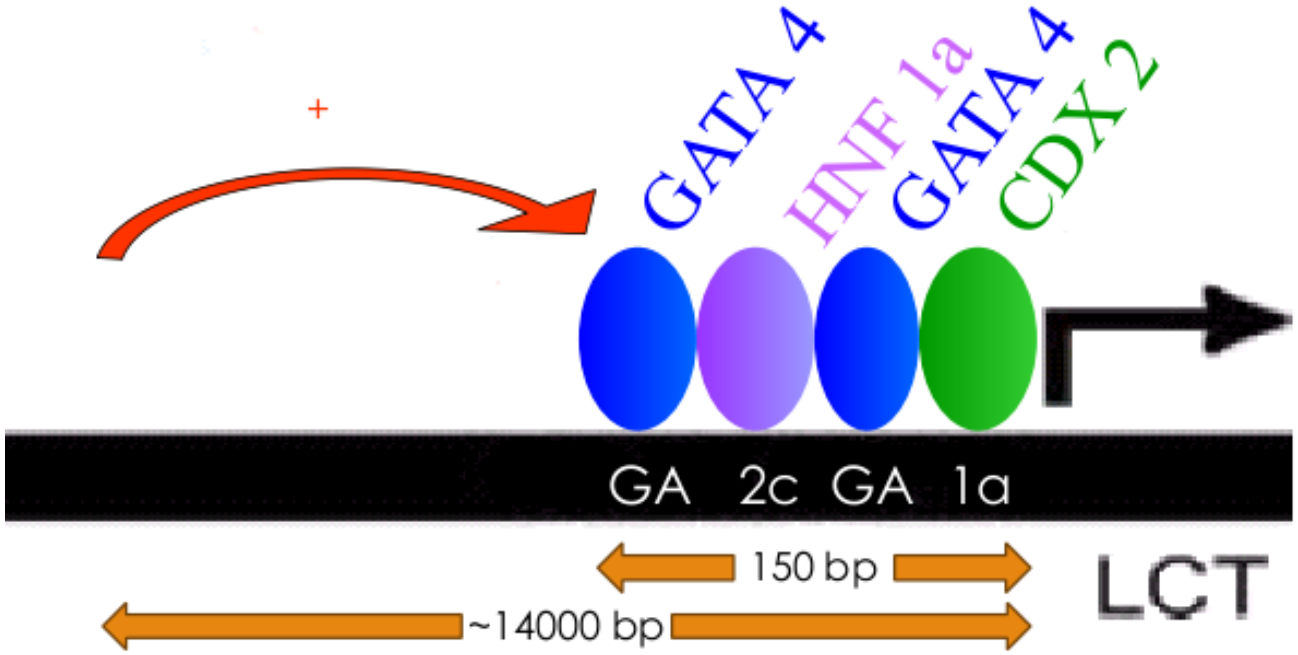


Sezione nucleotidica del gene mutante

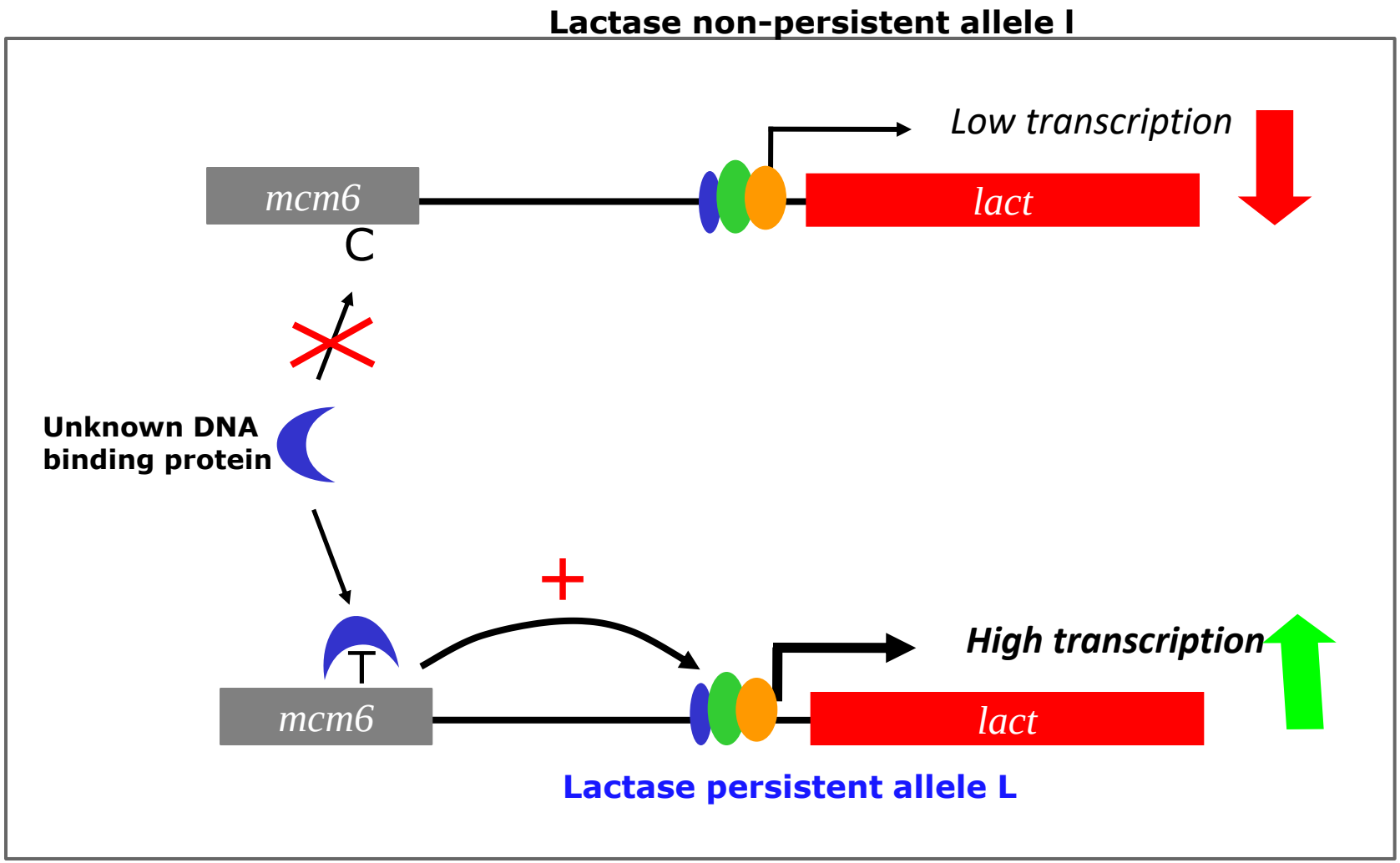
GAGTATCGGTGGATGAAGAAAAAATAGTCTCACATGTCTTCATTTCCATCCTTG
GCTCAGTACAGCTCCAGTTCCATTATTCTTAAACATCTATTAACATGATTGCTAAA
TAATTACACAGGCTAACTGCCAAGCATTTTTCACAGGAAGCAAGGCACTGCTC
TTCTGGCTTATGCAAAAGGGTCACTGTTTTTTTTTTTTTTTTAACTTTATCTTGTT
TTGATTGAAGAAACATCTCTAAAAATACCAT
[C/T]
TGAGTGCAAGATAAAAAGGAAATAGCAATCAAGGCAACAAAGCTAAGCACAT
GCAACAATATAGATGATTTGGGGGTGGGACAGTACAGAATTCAGAACTGATAG
AAGTTATCAGCTCCATATTTCAGAAAGACCTAATGTCTTCCTTCTGCTTATACTGT
TCTGACAGAATTTTAATTTTGGCAGAGATCACTCTCGATGTTATGATGTACTGAT
TCAGAGGTCCCAAATCAGTAACCTGATCCTAGAT

Regolazione del gene *LCT*

- Sebbene il prodotto del gene ***MCM6*** **n**on sia coinvolto direttamente nell'intolleranza al lattosio,
- il gene ***MCM6*** si trova localizzato a monte del gene ***LCT*** (lattasi)
  - e nel ripiegamento tridimensionale del DNA si viene a trovare in prossimità del promotore del gene LCT



Basi genetiche della tolleranza: Meccanismo



Intolleranza al lattosio

Esistono 3 genotipi nella popolazione europea:

Genotipo	Incidenza	Fenotipo
-13910 TT	ca. 40%	nessun segno di PLI (Intolleranza Primaria al Lattosio)
-13910 TC	ca. 45%	nessun segno di PLI, portatore
-13910 CC	ca. 15%	predisposizione genetica per PLI (Europa)

L'allele con la base T è dominante rispetto a quello con la base C, quindi solo il genotipo CC manifesterà l'intolleranza al Lattosio.

Intolleranza al lattosio

- **ORIGINE DELLA MUTAZIONE MOLTO VICINA Al NOSTRI TEMPI**

- Sono stati raccolti dall'University College of London e dall'università di Mainz campioni di DNA di scheletri umani del Neolitico risalenti al 5840 e al 5000 a.C.
- E**' stato scoperto che la mutazione nel gene che controlla la nostra capacità di digerire il latte non era presente in nessun campione.**
- La mutazione genetica apparsa di recente in termini di evoluzione è **divenuta comune** perchè
  - ha attribuito ai soggetti che la possedevano un enorme vantaggio nella sopravvivenza
  - permettendo tramite la selezione naturale di trasmetterla ai figli.

INTOLLERANZA AL LATTOSIO: ALTRE CAUSE GENETICHE?

Diversi **fattori di trascrizione** sono in competizione nel legame col promotore prossimale del gene LCT, la loro interazione durante lo sviluppo determina il cambiamento del pattern di espressione del gene LCT

- **Cdx2**: ha un pattern di espressione che aumenta verso le porzioni distali del piccolo intestino
- **HNF1α**: ha un pattern di espressione stabile lungo il piccolo intestino
- **GATA4**: ha un pattern di espressione stabile lungo la porzione media e prossimale del piccolo intestino, decrescente verso la porzione distale

Cdx2, **HFN1α** e **GATA4** sono importanti non solo nella regolazione dell'espressione genica di LCT, ma sono anche direttamente coinvolti nella differenziazione dell'epitelio intestinale e nella sua corretta omeostasi.

Struttura della lattasi e localzzazione di mutazioni *CLD* (Congenital Lactase Deficiency)

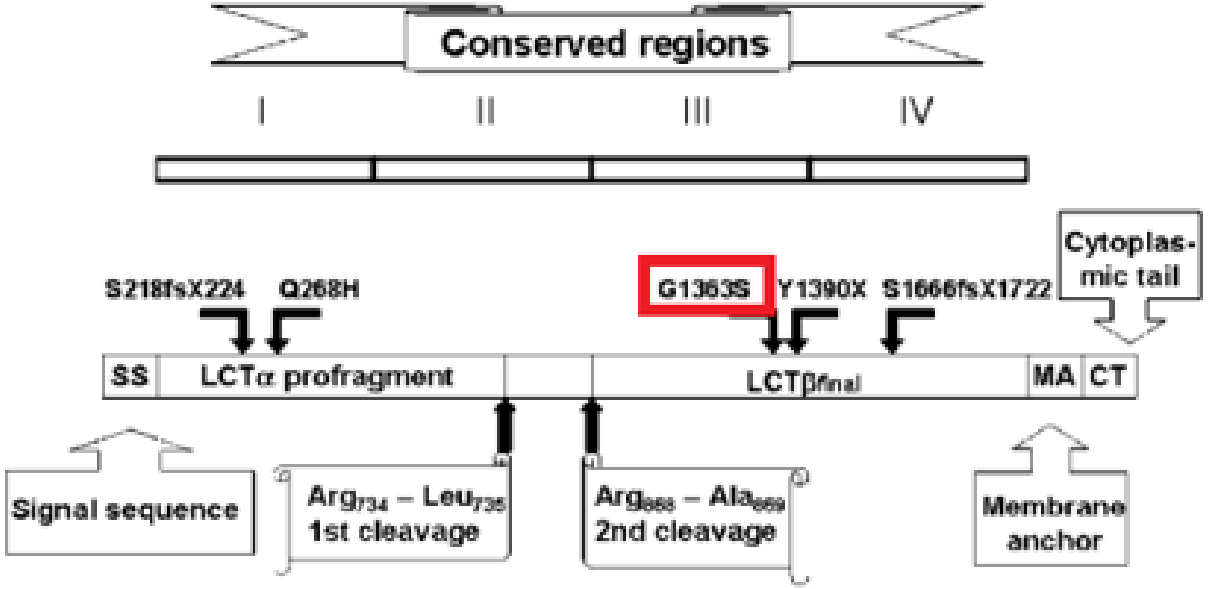


Figure 4 Structure of lactase and the location of the identified CLD mutations. The genomic size of the *LCT* gene is ~55 kb and is composed of 17 exons (Boll et al. 1991). The size of messenger RNA (mRNA) is 6,274 bases, and the primary translation product (prolactase) is 1,927 amino acids. The prolactase contains a cleavable signal sequence from Met_1 to Gly_{19} that guides the polypeptide to the endoplasmic reticulum (von Heijne 1986; Mantei et al. 1988). The region from Ser_{20} to Thr_{1882} consists of four homologous domains (I–IV). The prolactase is processed by two proteolytic cleavages. The first, an intracellular cleavage, occurs between Arg_{734} and Leu_{735}. The second cleavage in the intestinal lumen between Arg_{868} and Ala_{869} generates lactaseβ_{final}, the mature enzyme (Jacob et al. 1996; Wüthrich et al. 1996). The figure is modified from Naim (2001).

Tutto il DNA fa proteine?

NO:

Nell'uomo, 3 miliardi di bp; < 30 000 geni

Dimensioni medie di un gene ≈ 10 000 bp

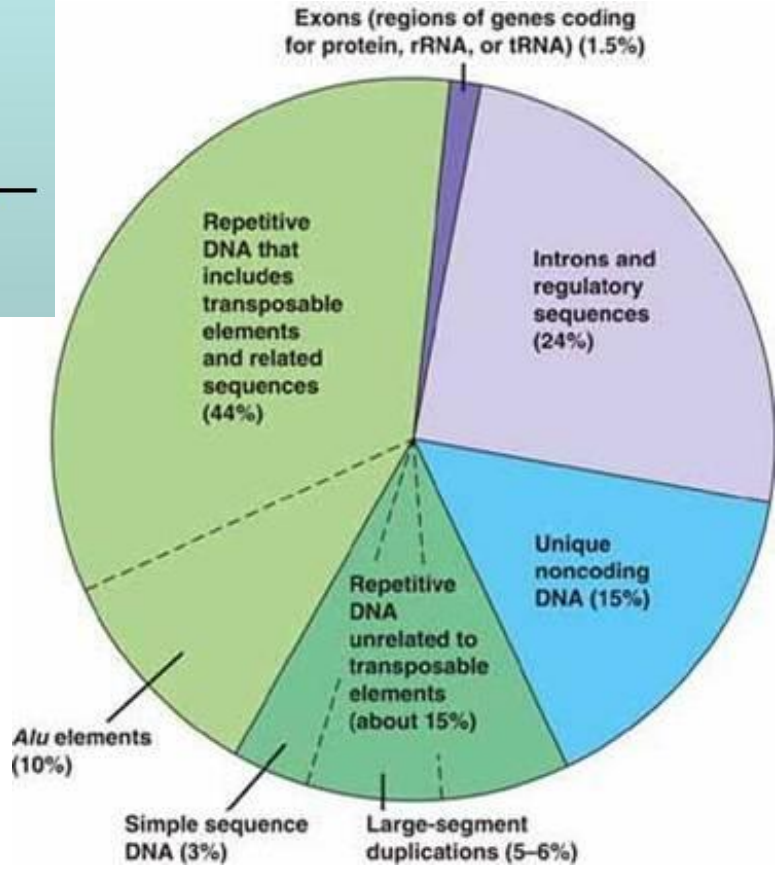
Totale geni umani ≈ 300 milioni di bp ≈ 10% del genoma

E il resto?

Regioni non geniche:

--GTTCCACACACACACACACACACACACACACACATTA—

DNA spazzatura (junk DNA)?



Cosa fa il DNA non codificante?

- Regola il funzionamento degli altri geni (Zuckerkandl)
- Niente, ma male non fa: *junk DNA* (Ohno)
- Parassita il resto del DNA: *selfish DNA* (Orgel e Crick; Dawkins)
- Fa da scheletro al resto del DNA (Cavalier-Smith)

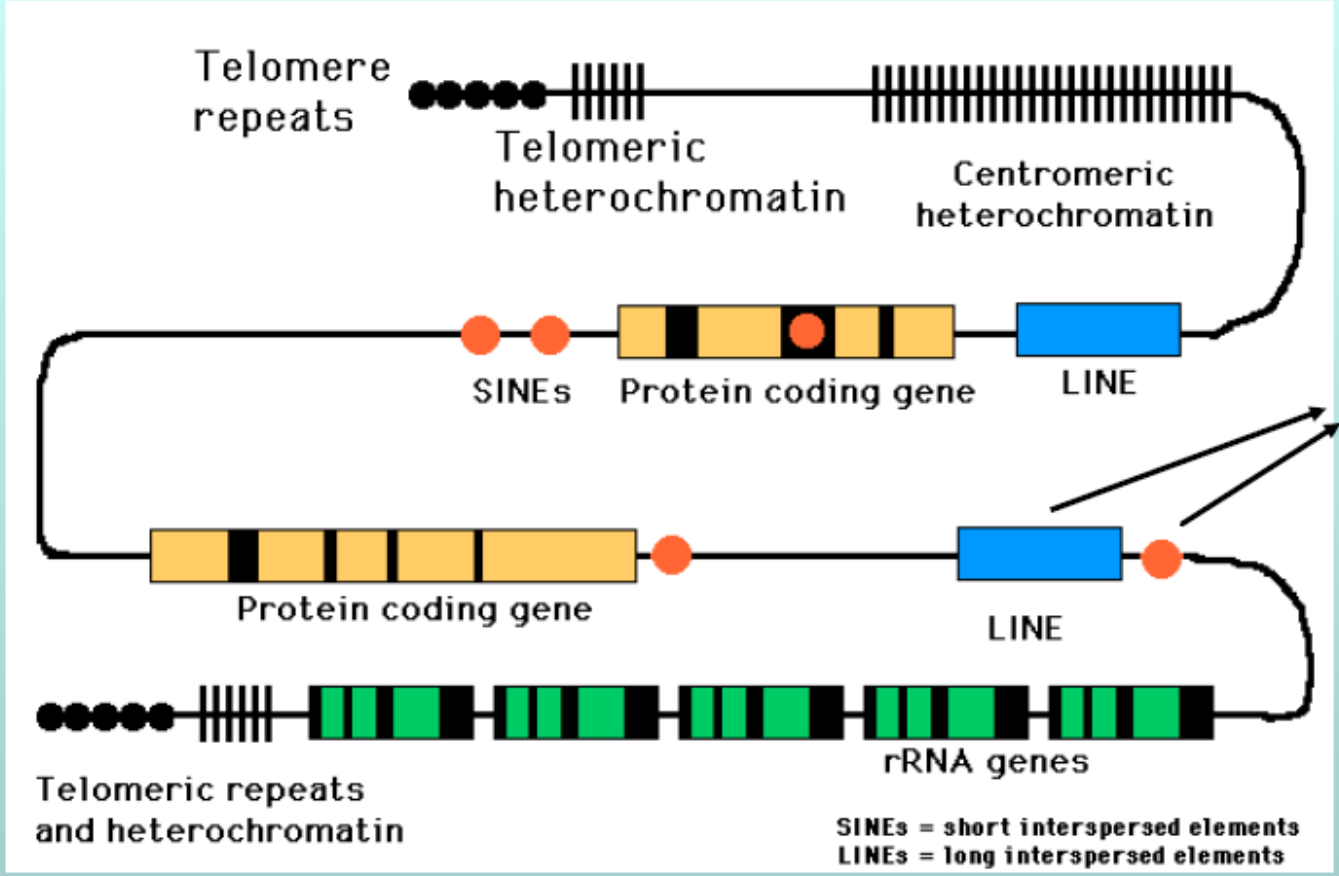
Qualche dato:

La perdita di ampli tratti di DNA non genico non ha effetti fenotipici: 1. non valida il generale.

Replicare una grande quantità di DNA è costoso: 2. poco probabile.

In certi casi, variazioni del volume cromosomico provocano variazioni del volume del nucleo, ma 4. non è valida il generale.

Cosa c'è in un cromosoma tipico



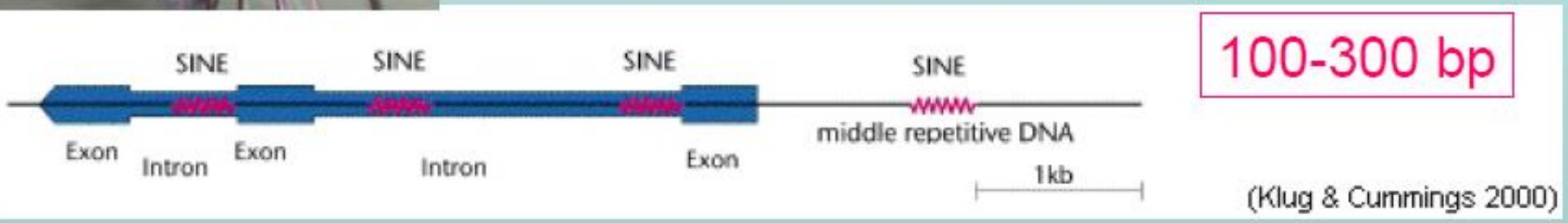
LINE: Long Intespersed Elements SINE: Short Intespersed Elements

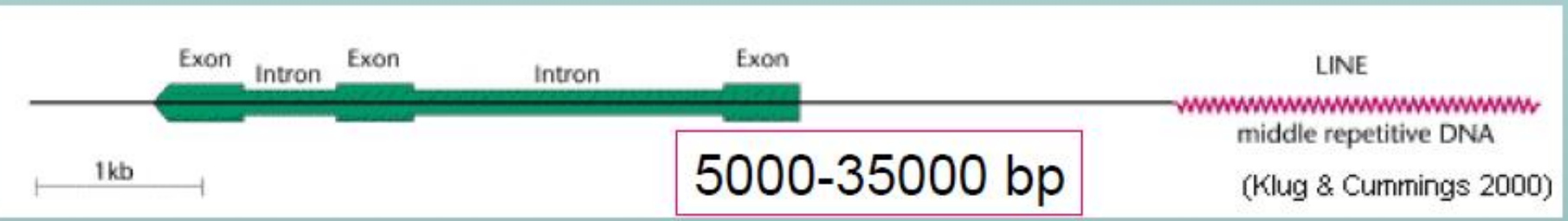
DNA ripetuto: tandem repeats, Elementi interdispersi corti (SINE) e lunghi (LINE)



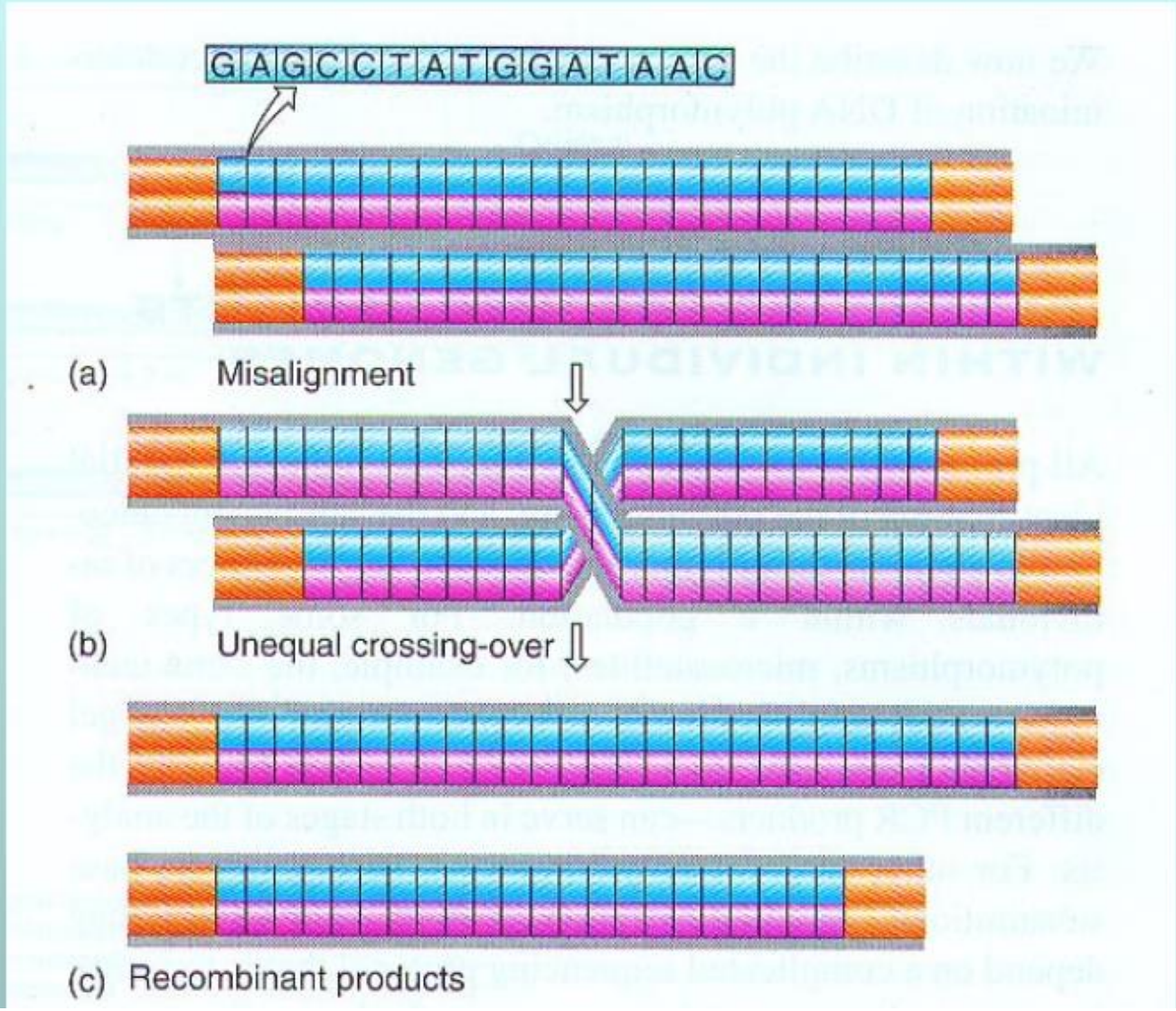
Short tandem repeats, o STR (microsatellite): 1-6 bp, ripetuti da alcune volte a decine di volte

Variable-number of tandem repeats, o VNTR (minisatellite): più lunghi, ripetuti da alcune volte a decine di volte

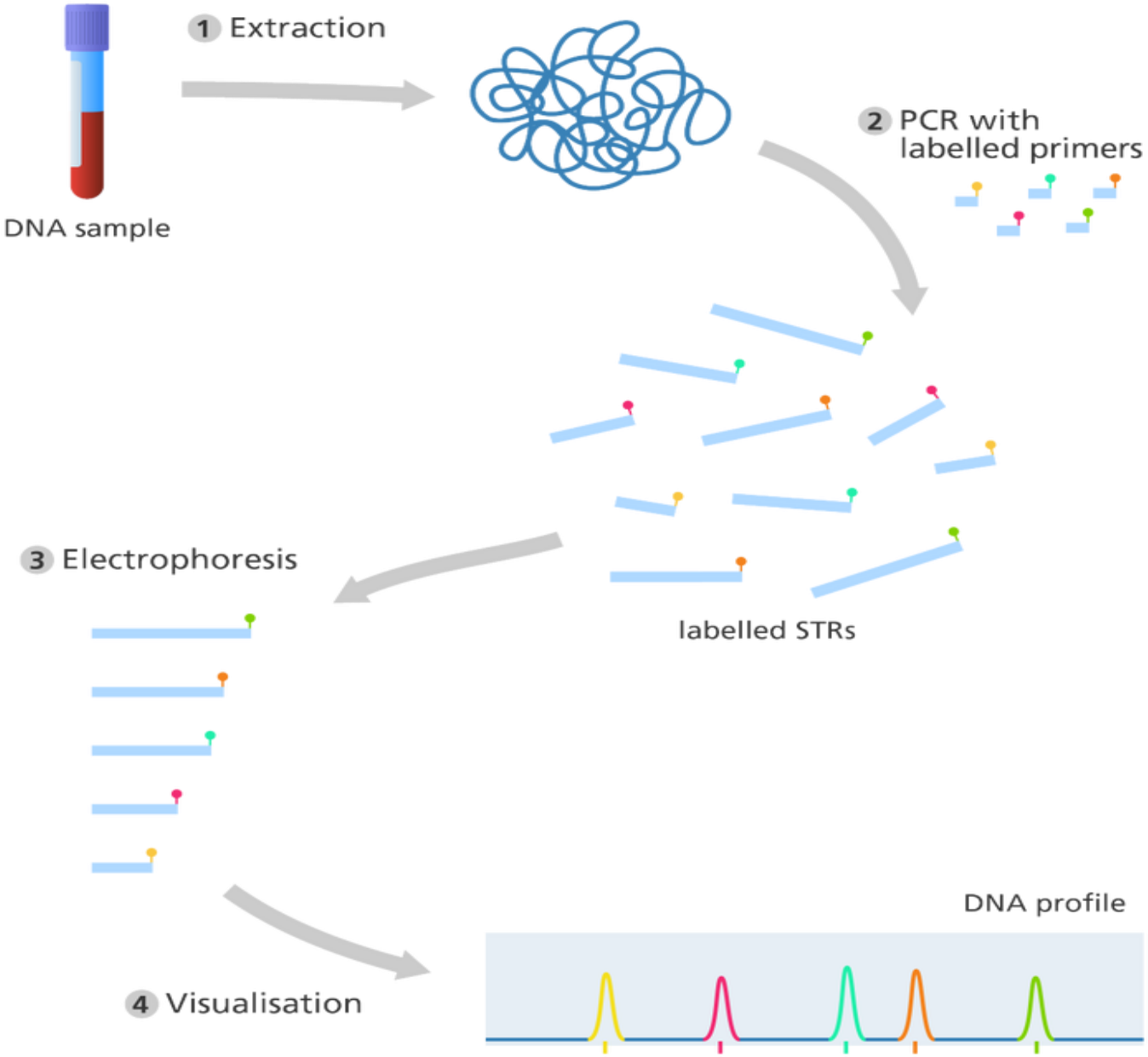




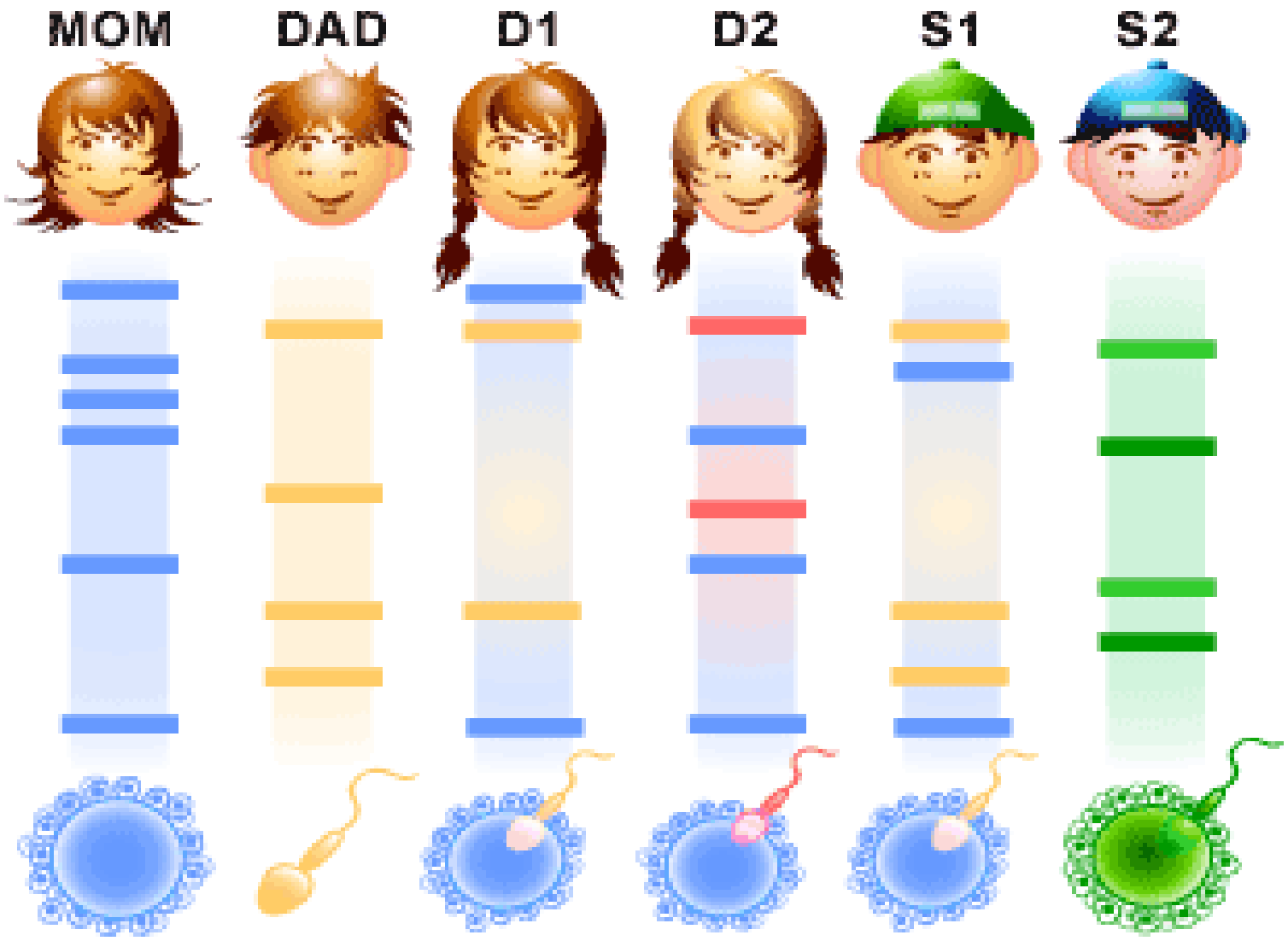
VNTR


GAGCCTATGGATAAC
(a) Misalignment
(b) Unequal crossing-over
(c) Recombinant products

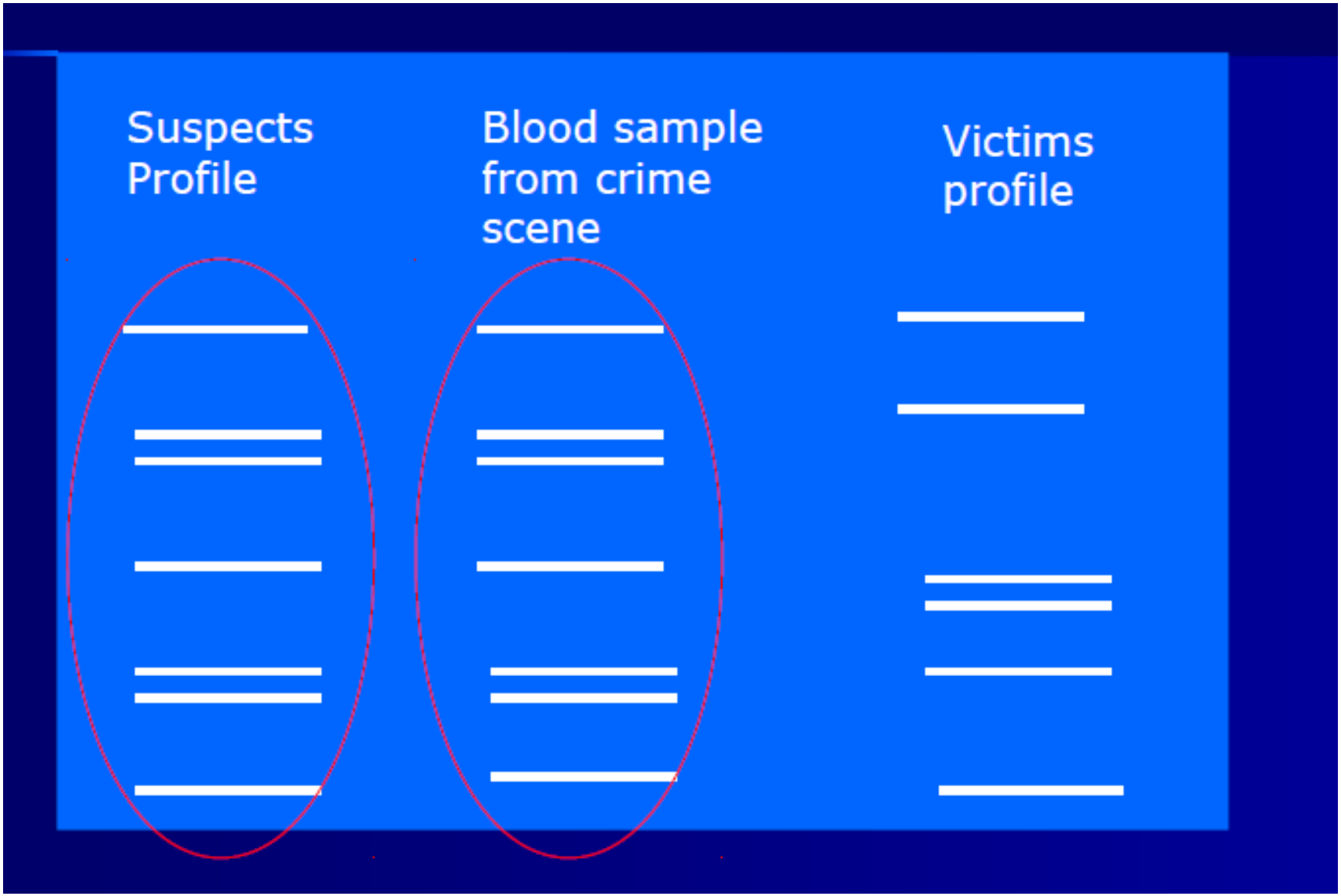
Procedura:


1 Extraction
DNA sample
2 PCR with labelled primers
labelled STRs
3 Electrophoresis
4 Visualisation
DNA profile

DNA fingerprinting: un'applicazione



Era il sospettato presente sulla scena del crimine?



Riassunto

- Beadle e Tatum dimostrano in *Neurospora* che c'è una corrispondenza diretta un gene – un enzima
- Yanofsky dimostra in *E. coli* la colinearità fra sequenza di nucleotidi e sequenza polipeptidica
- Alterazioni della sequenza genica si riflettono in alterazioni della sequenza proteica: malattie del metabolismo
- Nei vertebrati, meno del 10% del genoma codifica per proteine; il dibattito su ruolo e funzione del restante 90% è aperto
- Varie regioni del DNA non codificante contengono comunque informazione importante per studi di identificazione personale (impronta digitale genetica)