

Giuseppe Novelli / Emiliano Giardina

# Genetica medica pratica

*Introduzione di*  
Pier Franco Pignatti



Copyright © MMIV  
ARACNE EDITRICE S.r.l.

[www.aracneeditrice.it](http://www.aracneeditrice.it)  
[info@aracneeditrice.it](mailto:info@aracneeditrice.it)

00173 Roma  
via Raffaele Garofalo, 133 A/B  
(06) 93781065

ISBN 88-7999-489-1

*I diritti di traduzione, di memorizzazione elettronica,  
di riproduzione e di adattamento anche parziale,  
con qualsiasi mezzo, sono riservati per tutti i Paesi.*

*Non sono assolutamente consentite le fotocopie  
senza il permesso scritto dell'Editore.*

I edizione: giugno 2003  
I ristampa: ottobre 2003  
II ristampa: febbraio 2004  
III ristampa: dicembre 2004  
IV ristampa: febbraio 2006

# Sommario

<b>Presentazione</b> .....	7
<b>CAPITOLO I</b>	
<b>Struttura, funzione ed espressione del DNA</b> .....	9
<b>CAPITOLO II</b>	
<b>Le anomalie cromosomiche</b> .....	49
<b>CAPITOLO III</b>	
<b>I modelli di eredità e le mutazioni puntiformi</b> .....	65
<b>CAPITOLO IV</b>	
<b>Marcatori genetici e polimorfismi</b> .....	87
<b>CAPITOLO V</b>	
<b>Il mappaggio genetico e l'analisi di linkage</b> .....	101
<b>CAPITOLO VI</b>	
<b>Le tecniche di analisi molecolare del DNA</b> .....	115
<b>CAPITOLO VII</b>	
<b>Genetica di popolazioni</b> .....	131

---

<b>CAPITOLO VIII</b>	
<b>Genetica e ambiente</b> .....	139
<b>CAPITOLO IX</b>	
<b>Difetti congeniti, teratogenesi e mutagenesi</b> .....	151
<b>CAPITOLO X</b>	
<b>Genetica del cancro</b> .....	157
<b>CAPITOLO XI</b>	
<b>Genetica dello sviluppo</b> .....	167
<b>CAPITOLO XII</b>	
<b>La consulenza genetica, i test genetici e la genetica clinica</b> .....	185
<b>CAPITOLO XIII</b>	
<b>Terapia delle malattie ereditarie</b> .....	199
<b>Glossario</b> .....	205
<b>Indice analitico</b> .....	241

# Presentazione

*Questo testo di Genetica Medica Pratica, scritto dall'amico professor Giuseppe Novelli assieme al suo giovane collaboratore dottor Emiliano Giardina offre agli studenti un panorama ampio e aggiornato della materia.*

*I capitoli trattano sia i temi della genetica classica che quelli della genetica delle malattie complesse, i test genetici con le analisi del DNA e dei cromosomi, ed altro ancora, con un sapiente bilanciamento delle informazioni più tradizionali e sempre fondamentali con quelle più recenti, sulla base della esperienza diretta degli autori nella ricerca e nella attività assistenziale nel campo della Genetica Medica.*

*Il lettore potrà inoltre trovare alcuni vivaci e particolarissimi inserti, come quello sui gemelli e la dimostrazione con il sequenziatore automatico degli acidi nucleici della loro mono o dizigotità, o quello su Cirano de Bergerac e la sindrome di Down, ed altri ancora.*

*La esposizione è efficace, ricca come è di schemi e figure, sezioni di approfondimento di alcuni concetti particolarmente importanti, serie di esercizi per la autoverifica dell'apprendimento alla fine di ogni capitolo, ed infine un nutrito glossario che va dalla A di adenina alla Z di zooblot.*

*Giustamente questo volume che appare a cinquant'anni esatti dalla scoperta della struttura del DNA ed in coincidenza anche con la conclusione del Progetto Genoma Umano offre una sintesi dei progressi della genetica.*

*La presenza di argomenti più generali, come la genetica di popolazione e la genetica dello sviluppo, che vanno anche al di là dei temi più strettamente legati alla genetica medica tradizionale, potrebbero ben valere a questo testo anche un titolo più ampio nel campo della Genetica Umana, in linea con la tendenza internazionale nella denominazione della disciplina.*

*In conclusione, credo che lo studente possa ben trovare in questo testo chiaro e sintetico tutte le informazioni necessarie allo studio della Genetica moderna, che si trova in una fase di rapida espansione delle conoscenze ed è avviata verso la realizzazione di una medicina genomica personalizzata sulla base delle notizie genetiche individuali ed un sempre crescente coinvolgimento della società nelle questioni di genetica.*

**Pier Franco Pignatti**

*Professore Ordinario di Genetica Molecolare*

*Facoltà di Medicina e Chirurgia*

*Università degli Studi di Verona*

*Presidente della Società Italiana di Genetica Umana*



# CAPITOLO I

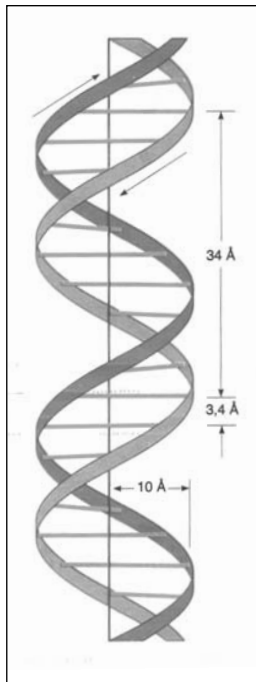
## STRUTTURA, FUNZIONE ED ESPRESSIONE DEL DNA

### Struttura del DNA

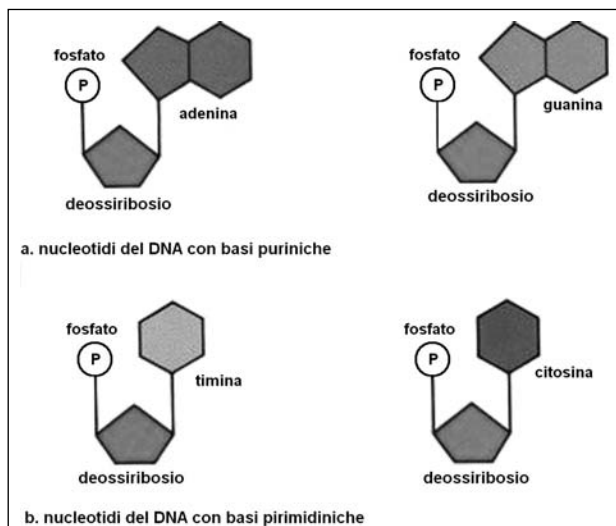
Il genoma umano è costituito da molecole di DNA che compongono i cromosomi, presenti nel nucleo e nei mitocondri. L'uomo possiede (nel nucleo) 23 coppie di cromosomi, ognuno dei quali è composto da una molecola di DNA.

La molecola di DNA ha una struttura a doppia elica determinata da due filamenti attorcigliati uno sull'altro (Fig. 1). Ciascun filamento (elica) è costituito da una catena di quattro diversi nucleotidi ognuno dei quali contiene un residuo di zucchero (deossiribosio), un gruppo fosfato e una base purinica o pirimidinica (Fig. 2).

*Figura 1. Struttura a doppia elica del DNA, le frecce indicano la direzione di ciascun filamento*



*Figura 2. Struttura dei nucleotidi del DNA*



Le basi puriniche (Fig. 3) sono adenina (A) e guanina (G); le basi pirimidiniche sono timina (T) e citosina (C).

- Lo scheletro di ciascun'elica è composto dai residui di deossiribosio uniti mediante legami fosfodiesterici covalenti in posizione 5' e 3' sull'anello dello zucchero (Fig. 4);
- i due filamenti (eliche) del DNA sono uniti all'interno della struttura da legami idrogeno che occorrono tra le basi puriniche di una catena e le basi pirimidiniche dell'altra;

Figura 3. Le basi azotate del DNA

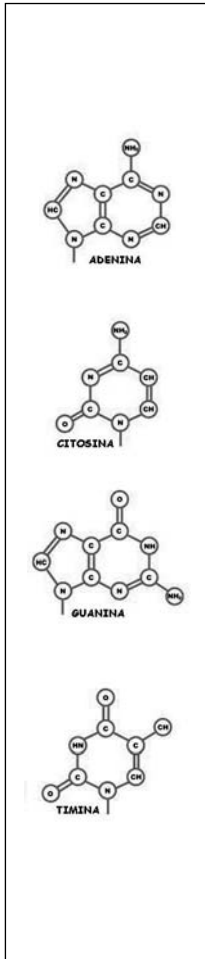
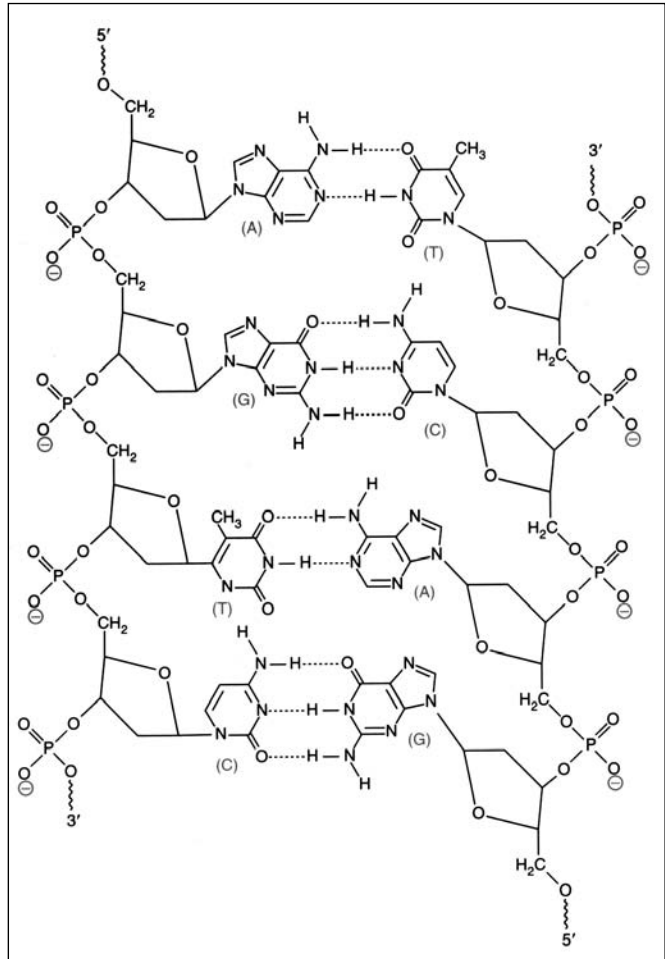


Figura 4. I due filamenti del DNA interagiscono fra loro attraverso una rete di legami a idrogeno che si stabiliscono rispettivamente tra citosina e guanina e tra adenina e timina (vedi Fig. 5 per dettaglio)





- c) l'adenina è sempre accoppiata alla timina e la guanina è sempre accoppiata alla citosina (Fig. 5);
- d) le estremità di ciascun filamento di DNA sono chiamate 5' e 3'. Per convenzione, con il 5' si indica la sequenza più vicina all'inizio del gene, con il 3' si indica la sequenza più vicina alla fine del gene;
- e) i due scheletri corrono in direzioni opposte, sono antiparalleli;
- f) Il DNA è sempre sintetizzato dal 5' al 3'.

### Le classi del DNA

Nei cromosomi il DNA non presenta un'organizzazione uniforme, bensì è composto da diverse classi con specifiche caratteristiche:

- DNA ripetuto in tandem: il genoma umano contiene moltissimi cluster (raggruppamenti) di sequenze ripetute di DNA che non codificano per nessuna proteina.

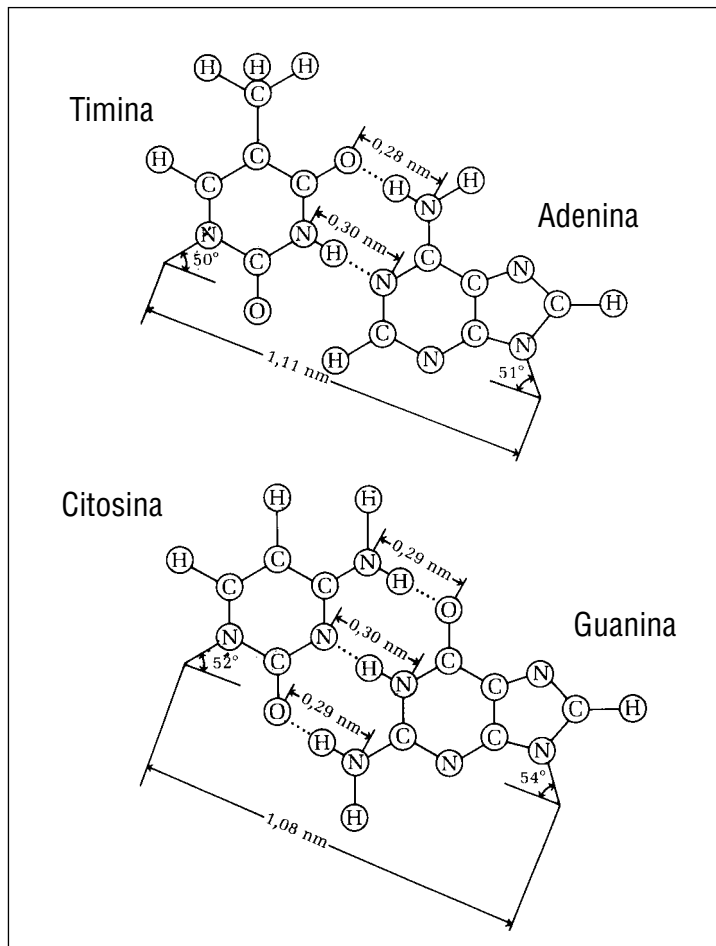


Figura 5. Appaiamento delle basi azotate

A seconda dell'estensione di questi blocchi di DNA ripetuto possiamo distinguere:

1. DNA satellite: da 5 a 171 nucleotidi dell'unità ripetuta;
  2. DNA minisatellite: da 6 a 64 nucleotidi dell'unità ripetuta;
  3. DNA microsatellite: da 1 a 4 nucleotidi dell'unità ripetuta.
- DNA ripetuto intersperso: le unità ripetute non sono concentrate in specifiche regioni bensì disperse lungo i cromosomi. Costituiscono circa un terzo del genoma umano e in base alla lunghezza dell'unità ripetuta possiamo distinguere 2 classi:
1. SINES (*short interspersed repeated sequences*): fino a 300 basi di unità ripetuta;
  2. LINES (*long interspersed repeated sequences*): fino a 6400 basi di unità ripetuta.
- DNA non ripetitivo: costituisce i geni, le sequenze di DNA che codificano per un mRNA.
- a) nelle cellule diploidi esistono due copie di ciascun cromosoma;
  - b) generalmente è presente una sola copia di ogni gene su ciascuno dei due cromosomi di ogni coppia;
  - c) gli pseudogeni sono sequenze di DNA che pur mostrando un elevato grado di omologia con un gene funzionale, non sono attivi dal punto di vista trascrizionale.

### La struttura dei cromosomi

I cromosomi umani sono costituiti di cromatina, una sostanza fibrillare che può essere osservata in due diverse forme:

1. eucromatina: è il costituente principale dei cromosomi, è distribuita in quasi tutto il nucleo e risulta meno condensata rispetto ai cromosomi mitotici. Comprende i geni funzionalmente attivi poichè la condensazione della cromatina inibisce il processo di trascrizione;
2. eterocromatina: rappresenta le regioni della cromatina notevolmente compresse. Attraversa i vari stadi del ciclo cellulare senza subire sostanziali cambiamenti nel suo stato di condensazione e si replica tardi durante la fase S (vedi avanti nel presente capitolo).  
Può essere distinta in:
  - 2.a) eterocromatina costitutiva: consiste di particolari regioni non espresse e comprende le brevi sequenze ripetute del DNA;
  - 2.b) eterocromatina facoltativa: può trovarsi in forma decondensata e geneticamente attiva e o in forma condensata e inattiva. L'esempio paradigmatico è l'inattivazione del cromosoma X descritto più avanti nel presente capitolo.

Possiamo distinguere diverse zone caratteristiche dei cromosomi (Fig. 6):

1. Il centromero: appare come una strozzatura dei cromosomi visibile durante la metafase.

- 1.a) Risulta essenziale per la corretta segregazione dei cromosomi durante la mitosi e la meiosi;
- 2.a) all'interno della regione centromerica, si distingue un oggetto fibroso chiamato cinetocoro che si attacca direttamente ai microtubuli del fuso mitotico (vedi avanti).
2. Il telomero è una struttura specializzata posta all'estremità dei cromosomi.
  - 2.a) Se viene perso un telomero, l'estremità cromosomica risulta estremamente instabile ed acquista la tendenza a fondersi con altri cromosomi eventualmente rotti o ad essere degradata;
  - 2.b) consiste di una lunga sequenza di unità ripetute in tandem ricche in TG (TTAGGG) fortemente conservate durante l'evoluzione.

Impaccamento del DNA: ogni cromosoma è composto da una singola molecola di DNA a doppia elica ma può risultare 10000 volte più corto della lunghezza dell'elica stessa. Le cellule dispongono di un efficiente sistema di spiralizzazione dei filamenti che coinvolge successivi livelli di avvolgimento (Fig. 7):

Figura 6. Schema strutturale di un cromosoma

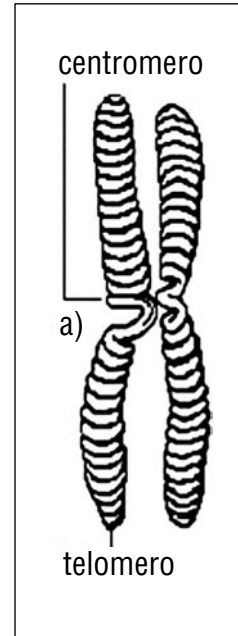
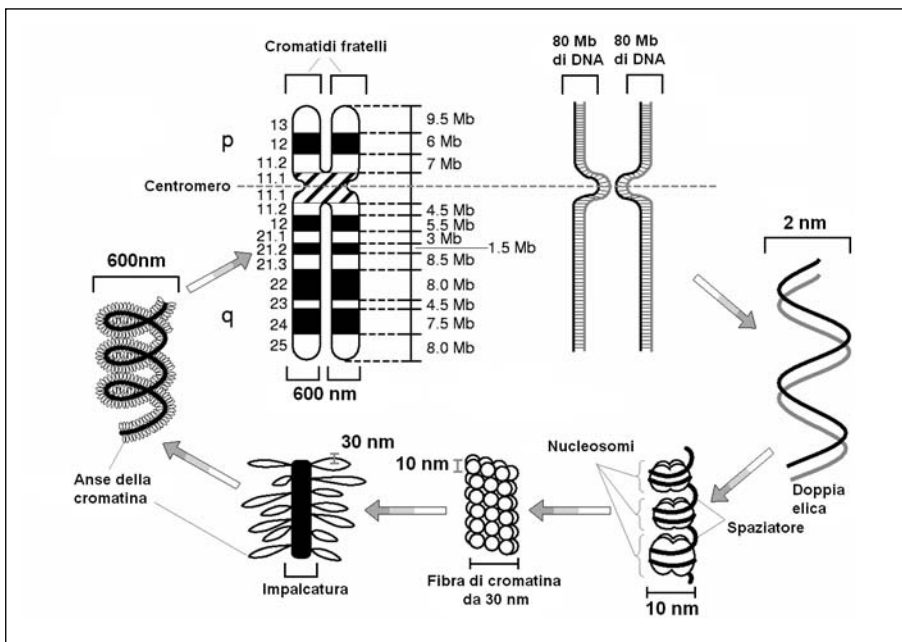


Figura 7. La cromatina è organizzata in successivi livelli di spiralizzazione. [modificata da T. Strachan, A. Read, Human Molecular Genetics UTET]



1. cromatina: complesso costituito dal DNA e dalle proteine ad esso associate. Ha una larghezza di 2nm;
2. nucleosoma: complesso proteico costituito da un ottamero di due copie di ciascuno dei quattro istoni (H<sub>2</sub>A, H<sub>2</sub>B, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>), attorno alle quali si avvolgono 146 nucleotidi di DNA a doppio filamento compiendo 1,75 giri. La larghezza del nucleosoma è circa 11nm;
3. fibra cromatinica: i nucleosomi adiacenti sono connessi da un corto segmento di DNA spaziatore. Nell'insieme tale struttura assume l'aspetto di un filo di perle del diametro di 30nm;
4. i nucleosomi assumono una forma a spirale chiamata solenoide;
5. i solenoidi si organizzano intorno ad una "impalcatura" centrale formando delle anse. Tale impalcatura è costituita principalmente dall'enzima topoisomerasi II, che svolge la funzione di srotolamento del DNA evitando i problemi connessi con il superavvolgimento dei filamenti.
6. Le anse organizzate intorno all'impalcatura si avvolgono a loro volta in una spirale di enormi dimensioni.

### Lo studio dei cromosomi

I cromosomi sono visibili solo nelle cellule in attiva divisione, pertanto lo studio delle loro caratteristiche è possibile soltanto durante la mitosi. I linfociti risultano particolarmente adatti a tal scopo, poiché possono essere facilmente indotti a dividersi se trattati con lectine quali la fitoemagglutina. Lo studio degli assetti cromosomici normali ed anormali e delle loro proprietà genetiche viene chiamato citogenetica. Fino al 1970 la classificazione dei cromosomi si basava esclusivamente sulla loro dimensione e sulla posizione del centromero. Attualmente disponiamo di metodi di colorazione che consentono un'accurata classificazione e l'identificazione di anomalie strutturali. Tali trattamenti prevedono la denaturazione o la digestione enzimatica seguite dall'incorporazione di un colorante specifico del DNA che determina la comparsa di una serie alternata di bande scure e chiare sui cromosomi (Fig. 8). La diversa suscettibilità alla colorazione dipende dalla non uniforme organizzazione del DNA, dove si alternano regioni eucromatiniche ed eterocromatiniche, tratti ricchi in coppie di AT ad altri ricchi di coppie GC, segmenti a replicazione precoce ad altri a replicazione tardiva. Sono state sviluppate diverse tecniche di bandeggio:

1. bandeggi generali (G, Q, R): identificano tutti i cromosomi determinando per ciascuno un caratteristico pattern di colorazione;
  2. bandeggi particolari (C, AgNOR, T): specifici per determinate aree di ogni singolo cromosoma;
  3. bandeggi sequenziali: applicazione di entrambe le precedenti tecniche di bandeggio al medesimo cromosoma.
- L'ibridazione in situ con fluorescenza (FISH): è un'ibridazione sito-specifica (Fig. 9) che utilizza una sonda di DNA marcata con un fluoroforo, cioè un gruppo chimico che emette fluorescenza se eccitato da una sorgente luminosa ad una determinata lunghezza d'onda. L'analisi dei cromosomi metafisici consente di individuare la presenza di microdelezioni, di anomalie strutturali e di definire l'origine dei marker cromosomici. L'analisi dei cromosomi interfisici consente la diagnosi prenatale delle aneuploidie.

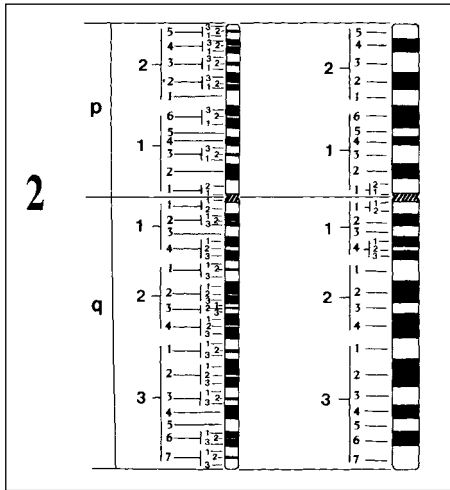


Figura 8. Bandeaggio caratteristico di un cromosoma umano

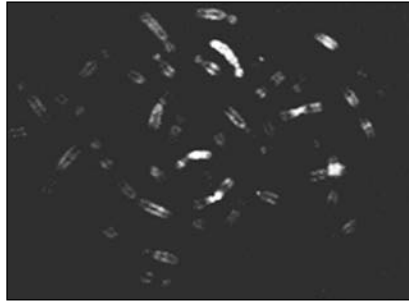
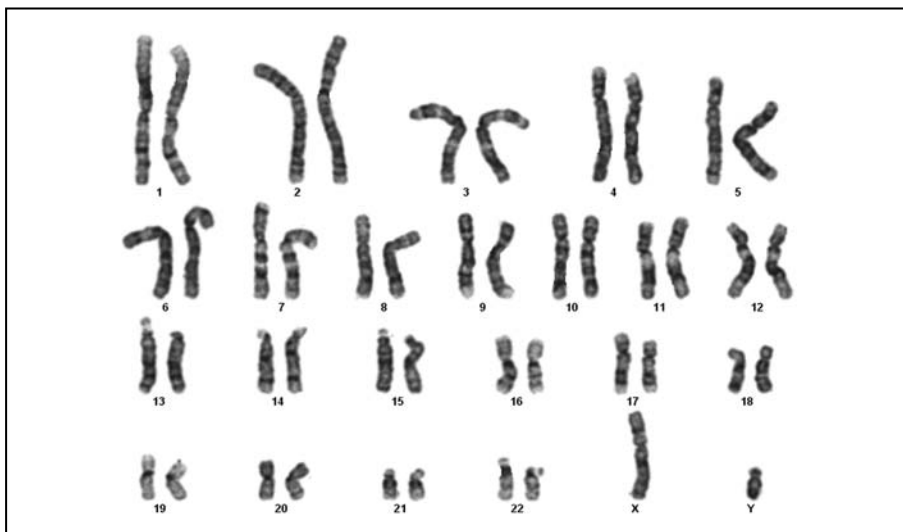


Figura 9. Le tecniche di ibridazione in situ con fluorescenza (FISH) consentono di riconoscere i cromosomi anche in interfase

Permette la caratterizzazione di piccoli marker cromosomici che sfuggirebbero alle tecniche di bandeaggio. Consente la rilevazione di delezioni submicroscopiche come quelle associate alla sindrome di Prader-Willi.

- Il cariotipo umano normale. La nomenclatura da adottare nella descrizione del cariotipo (la costituzione cromosomica di una cellula o di un individuo, fig.10) è indicata dall' International System for human Cytogenetic Nomenclature (ISCN). È stata stabilita una numerazione progressiva da 1 a 22 per le coppie di autosomi; i cromosomi sessuali sono invece indicati con

Figura 10. Cariotipo umano normale



le lettere X ed Y. Il centromero divide il cromosoma in due bracci: corto (p) e lungo (q). A seconda della posizione del centromero possiamo distinguere 4 sottogruppi di cromosomi:

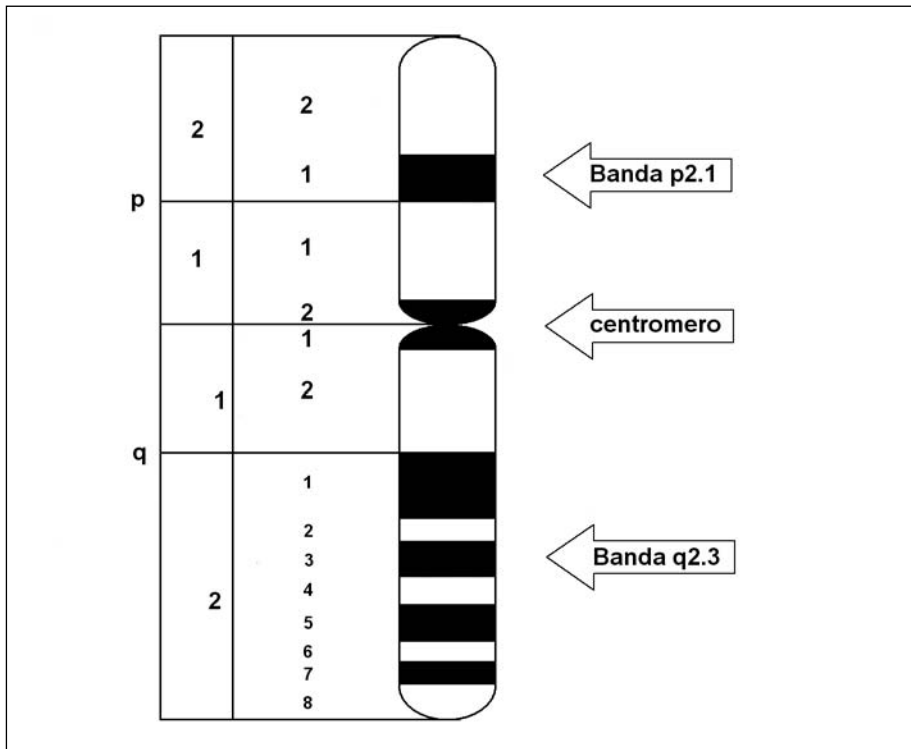
1. metacentrico: il centromero è posto nel centro del cromosoma;
2. submetacentrico: il centromero è più vicino ad una delle due estremità;
3. acrocentrico: il centromero è molto vicino all'estremità terminale;
4. telocentrico: il centromero assume posizione terminale; non è osservato nel cariotipo normale umano.

– Numerazione delle bande (Fig. 11):

1. le bande sono numerate progressivamente dal centromero al telomero per ciascun braccio;
2. Le bande possono essere suddivise in sottobande;
3. più bande costituiscono una regione;
4. più regioni formano un braccio;
5. ad esempio, Xp11.3 va letto: X p uno uno punto 3 ( e non X p undici punto 3!). Tale numerazione identifica: cromosoma X; braccio p, regione 1, banda 1, sottobanda 3.

A titolo di esempio riportiamo la nomenclatura di un cariotipo normale umano: 46,XX. Il primo numero indica il numero di cromosomi, il secondo indica la costituzione sessuale.

*Figura 11. Schema di numerazione delle bande citogenetiche*

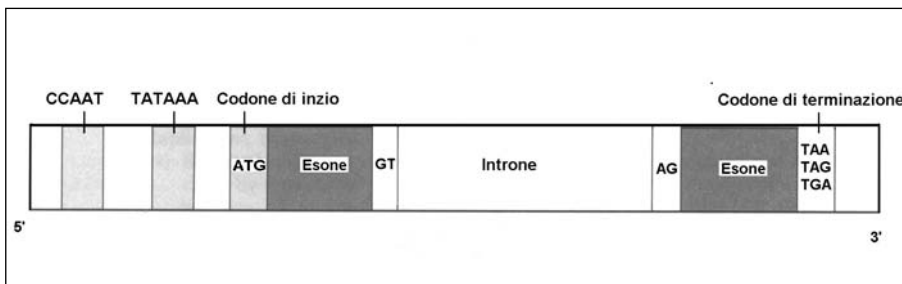


## La struttura dei geni

I geni dell'uomo sono composti da diversi segmenti, ciascuno dei quali svolge funzioni differenti (Fig. 12):

- Esoni: segmenti di un gene rappresentati nell'mRNA maturo, costituiscono le parti funzionali del gene che verranno tradotte nella sequenza aminoacidica.
- Introni: sequenze di DNA non codificanti che si alternano agli esoni.
  1. il numero e la dimensione degli introni varia enormemente nei differenti geni;
  2. la comparazione del numero e della disposizione degli introni può costituire un utile parametro per determinare la comune origine di geni con differenti funzioni.
- Giunzioni esone–introne: nella maggioranza dei casi ogni introne termina all'estremità 5' con la coppia di basi GT e all'estremità 3' con la coppia di basi AG.
- Sequenza di inizio: al 5' di ogni gene funzionale si trova una specifica tripletta, ATG, che rappresenta il segnale da cui avrà inizio la traduzione.
- TATA–BOX: sequenze ricche in AT comuni alla maggior parte dei geni e che si trovano circa 30 bp a monte del sito di inizio; indirizzano l'RNA polimerasi verso il sito di inizio della trascrizione.
- CCAT BOXES: sequenze analoghe alle TATA, poste circa 70–90 bp a monte del sito di inizio e che agiscono come elementi regolatori della trascrizione.
- Codone di terminazione: la fine del processo di traduzione è segnalata da una specifica tripletta posta alla 3' di ogni gene. Tali triplette possono essere TAA, TAG o TGA.

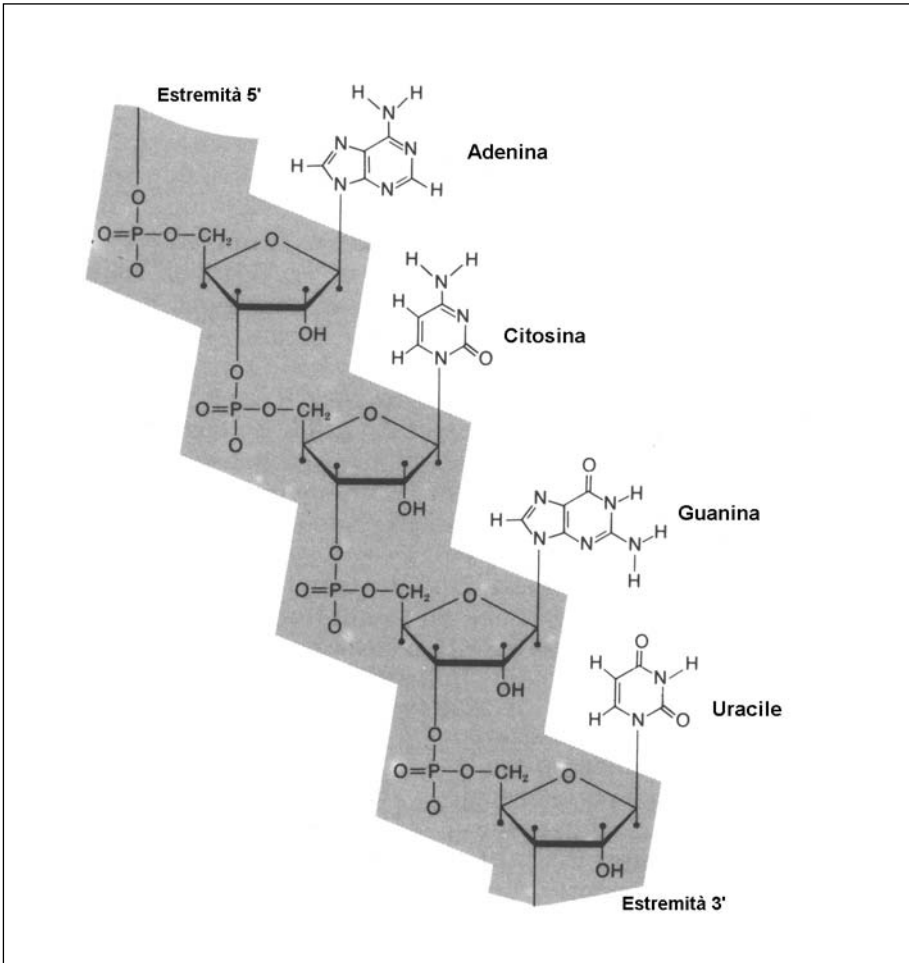
Figura 12. Struttura di un gene eucariotico



## Le tappe dell'espressione genica

- Trascrizione del DNA: la sintesi di una molecola di RNA (acido ribonucleico) a partire da un filamento stampo di DNA è detta trascrizione.
- L'acido ribonucleico ha tre proprietà che lo differenziano dal DNA:
  - 1) È una molecola a singolo filamento (Fig. 13);
  - 2) i nucleotidi dell'RNA contengono lo zucchero ribosio e non il deossiribosio (Fig. 14);
  - 3) contiene la base pirimidinica uracile al posto della timina.

*Figura 13: struttura molecolare del singolo filamento di RNA. Si noti come la timina venga sostituita dall'uracile*





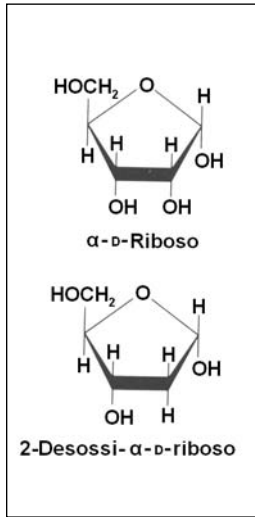


Figura 14. Struttura molecolare degli zuccheri ribosio e deossiribosio

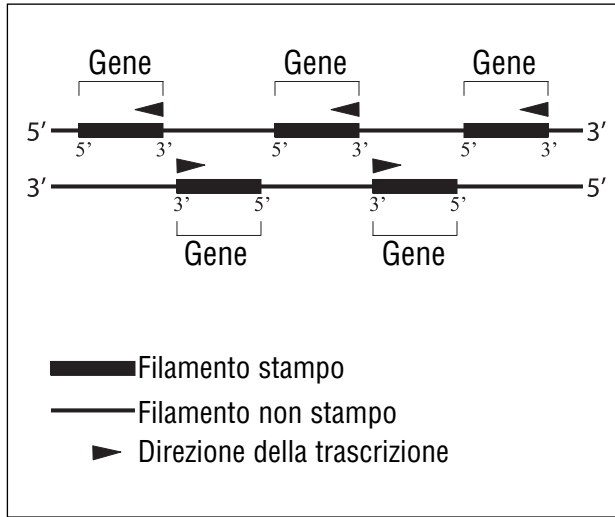
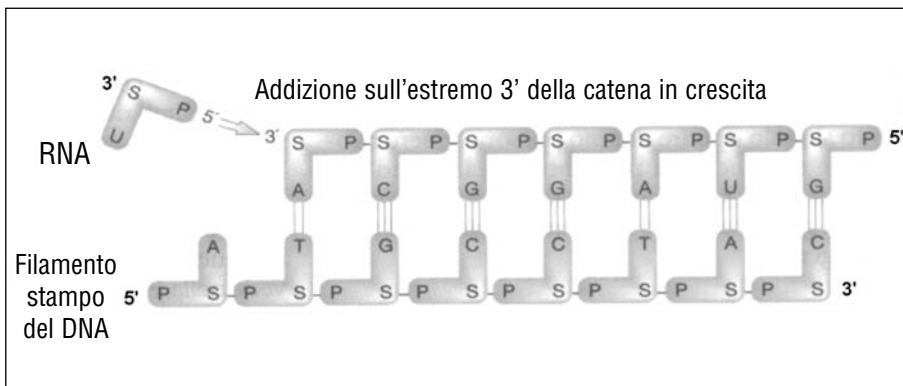


Figura 15 a. Tutti e due i filamenti del DNA possono fungere da stampo nel processo di trascrizione

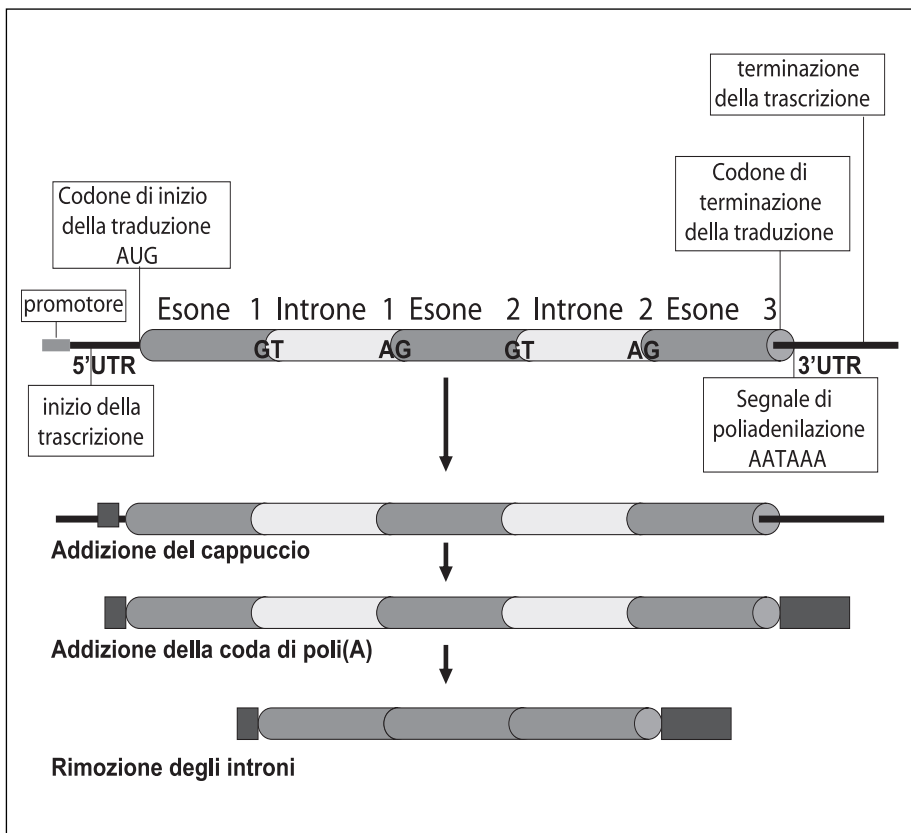
- Ognuno dei due filamenti che compongono il DNA (fig.15a) può servire da stampo per la sintesi di un filamento di RNA ad essi complementare definito messaggero (mRNA).
- La RNA polimerasi catalizza la sintesi del filamento di RNA (Fig. 15b).

Figura 15b. la RNA polimerasi catalizza l'aggiunta di nuovi nucleotidi all'estremità 3' della catena nascente [modificata da A.J.F. Griffiths et al:Genetica Moderna. Zanichelli]



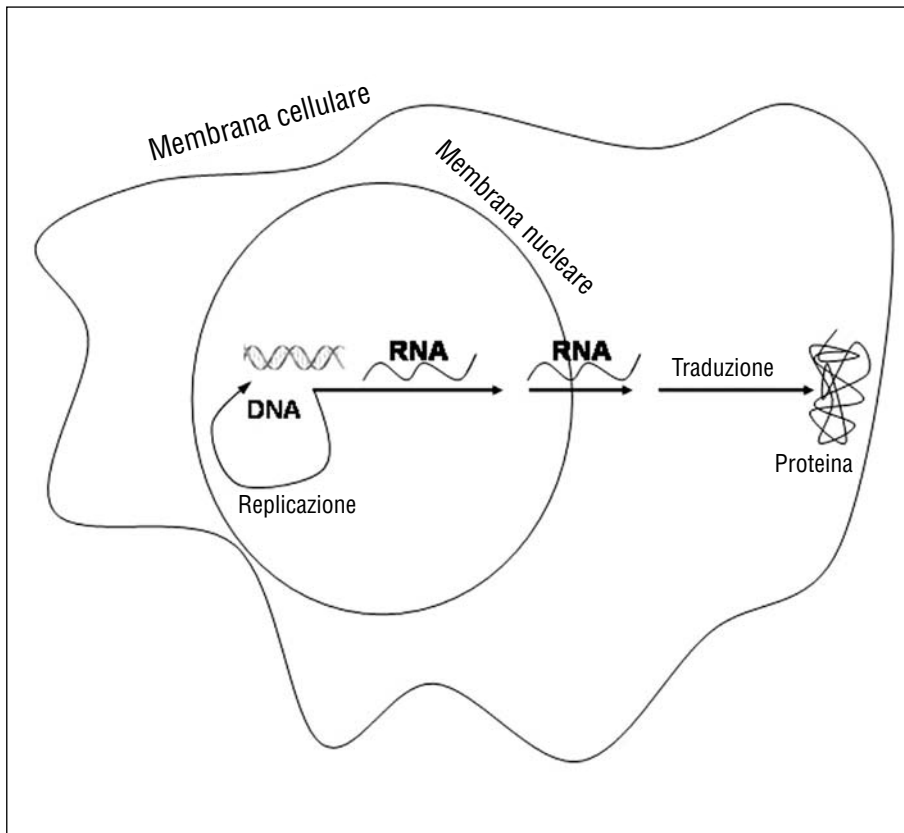
- Il primo prodotto della trascrizione è il trascritto primario, una molecola di RNA che si estende dal 5' al 3' del gene da cui deriva e che comprende gli esoni, gli introni e gli elementi regolatori.
- Il trascritto primario prodotto nel nucleo è una molecola fortemente instabile e, prima di essere trasportato nel citoplasma, subisce una serie di modificazioni che ne aumentano la stabilità (Fig. 16):
  1. al 5' dell' mRNA viene aggiunto un residuo di 7-metilguanosa detto CAP;
  2. al 3' viene aggiunto un tratto di RNA composto da adenosine, la coda di poli-A;

**Figura 16.** Schema riassuntivo del processo di trascrizione e delle successive modificazioni subite dalla molecola di RNA



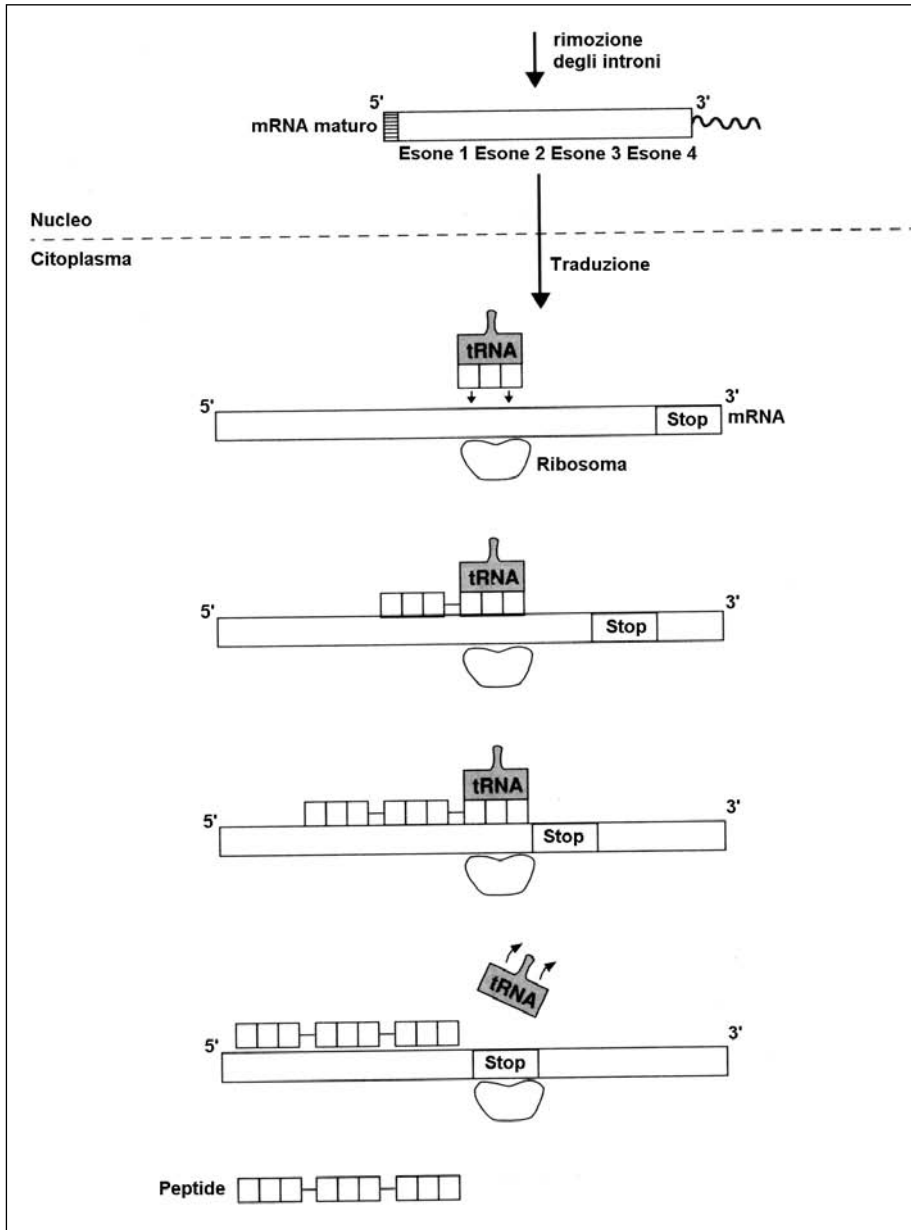
3. il trascritto subisce lo splicing, ovvero la rimozione degli introni e la fusione degli esoni contigui da parte di un complesso ribonucleoproteico. Le giunzioni esone–introne, viste in precedenza, garantiscono l'efficienza di questo processo, tutt'ora non perfettamente delucidato.
- Subite tali modificazioni, la molecola di mRNA, sintetizzata nel nucleo, viene trasportata nel citoplasma (Fig. 17).

Figura 17. Processi di trasferimento dell'informazione che avvengono nella cellula



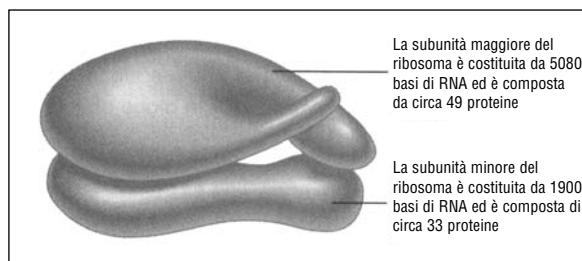
- Traduzione dell'RNA: nel citoplasma, l'informazione contenuta nella molecola di mRNA viene utilizzata per dirigere la sintesi di una catena di aminoacidi attraverso un processo noto come traduzione (Fig. 18a):

*Figura 18a. La sintesi proteica ha luogo sui ribosomi e la sequenza degli aminoacidi nei polipeptidi è determinata dalla sequenza dei nucleotidi nelle molecole di mRNA. Le molecole di tRNA trasportano gli aminoacidi ai siti di crescita delle catene polipeptidiche*



- ogni aminoacido è codificato da una specifica sequenza di tre basi consecutive sull'mRNA (tripletta);
- diverse triplette possono codificare per lo stesso aminoacido (il codice genetico è degenerato);
- le diverse triplette che identificano lo stesso aminoacido differiscono tra loro quasi sempre per l'ultima delle tre basi;
- la traduzione di un mRNA in una sequenza aminoacidica è catalizzata dal ribosoma;
- Il ribosoma (Fig. 18b) è un organello complesso composto da RNA ribosomiale e proteine. Negli eucarioti risulta formato da due subunità una minore (40S) e l'altra maggiore (60S);
- il ribosoma scorre lungo la molecola di mRNA, esponendo una alla volta tutte le triplette (codoni) che identificano gli aminoacidi del polipeptide nascente;
- alcune particolari molecole di RNA (tRNA, RNA transfer) trasportano gli aminoacidi fino al ribosoma. Esiste una molecola di tRNA specifica per ognuno dei 20 aminoacidi;
- il complesso aminoacido-tRNA si lega al ribosoma e riconosce la tripletta esposta che codifica per quello specifico aminoacido;
- l'aminoacido viene aggiunto alla catena nascente legata al ribosoma;
- il ribosoma avanza sull'mRNA esponendo il successivo codone;
- il tRNA, ormai privo dell'aminoacido si separa dal ribosoma;
- questo processo continua in direzione 5'–3' fino a quando il ribosoma incontra un codone di terminazione, una tripletta che non codifica per nessun aminoacido ma che costituisce il segnale di fine della sintesi proteica. I codoni di terminazione sono 3 (UAA, UAG, UGA);
- giunto al codone di terminazione il ribosoma si separa dall'mRNA rilasciando il peptide neosintetizzato;
- le proteine sintetizzate durante la traduzione subiscono spesso delle modificazioni che le rendono attive e funzionali.

**Figura 18b.** Il ribosoma è costituito da due subunità: 40S e 60S



## Organizzazione strutturale delle proteine

- Le molecole proteiche sono organizzate secondo una gerarchia strutturale che prevede quattro diversi livelli di complessità:
  1. struttura primaria: sequenza aminoacidica lineare, il semplice ordine di successione degli aminoacidi lungo la catena polipeptidica;
  2. struttura secondaria: le strutture ad  $\alpha$  elica o filamento  $\beta$ . Una particolare sequenza aminoacidica favorisce la formazione di una o dell'altra struttura secondaria;
  3. struttura terziaria: strutture globulari risultanti dalla combinazione dei motivi della struttura secondaria;
  4. struttura quaternaria: proteine costituite da più catene polipeptidiche identiche (subunità) che si associano a formare molecole multimeriche.

## Regolazione dell'espressione genica

Esistono diversi livelli di controllo dell'espressione genica: trascrizionale, post-trascrizionale, post-traduzionale ed epigenetico:

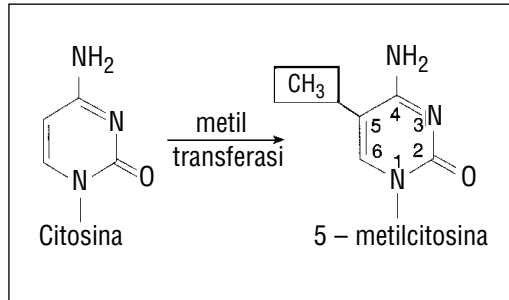
- controllo trascrizionale: come visto, alcune sequenze a monte della sequenza codificante influenzano il tasso di trascrizione del gene. Tali sequenze non vengono direttamente riconosciute dalla RNA polimerasi, bensì si legano a proteine regolatrici che, probabilmente, aumentano l'affinità della regione per la RNA polimerasi. Pertanto, il controllo trascrizionale si avvale non solo di elementi presenti nelle adiacenze del gene (TATA, CCAAT), ma anche di sequenze distanti dal gene, di fattori di trascrizione, proteine, ormoni che, coordinati, determinano il tasso di trascrizione di quella regione codificante. Il controllo trascrizionale comprende anche le regolazioni epigenetiche che verranno discusse più avanti in modo dettagliato;
- controllo post-trascrizionale: la quantità di proteina tradotta non dipende soltanto dalla quantità di mRNA sintetizzato, ma anche dalla stabilità, ovvero quanto un mRNA rimane nella cellula disponibile per la traduzione. L'emivita di un mRNA dipende da alcune sequenze regolatrici non tradotte e da proteine e ormoni che riducono o aumentano la velocità di degradazione dei trascritti. Ulteriori livelli di regolazione post-trascrizionale sono rilevabili nell'efficienza del trasporto nucleo-citoplasmatico e della maturazione dei trascritti;
- controllo post-traduzionale: le proteine possono subire processi di degradazione selettiva che ne regolano l'attività.

## Controllo epigenetico dell'espressione genica

I fattori epigenetici influenzano l'espressione genica ma non inducono cambiamenti nella sequenza del DNA. Svolgono un ruolo determinante nel mantenere l'espressione differenziale dei geni nei vari tessuti.

Il controllo epigenetico dell'espressione genica è garantito da diversi fattori, quali la struttura della cromatina (vista in precedenza), la metilazione del DNA e l'acetilazione degli istoni.

Figura 19. Addizione di un gruppo metilico al carbonio in posizione 5 della citosina



1. La metilazione del DNA consiste nell'aggiunta di un gruppo metilico ( $-\text{CH}_3$ ) al carbonio in posizione 5 delle citosine (Fig. 19):
  - a) Il trasferimento del gruppo metilico avviene ad opera di un enzima chiamato citosina metil-transferasi;
  - b) soltanto il 3% delle citosine del DNA umano sono metilate;
  - c) la maggior parte delle citosine soggette a metilazione sono legate ad una guanina (dinucleotidi CpG);
  - d) le regioni del DNA che presentano un'alta concentrazione di dinucleotidi CpG (isole CpG) hanno le citosine scarsamente metilate;
  - e) la metilazione delle regioni promotore, al di fuori delle isole CpG, inibisce il processo di trascrizione e costituisce pertanto un efficace meccanismo di controllo dell'espressione;
  - f) il genoma dello spermatozoo risulta più metilato di quello dell'ovulo e potrebbe spiegare le patologie correlate alla disomia uniparentale e all'imprinting (vedi oltre).
2. L'acetilazione degli istoni consiste nell'aggiunta di un gruppo acetilico ai residui di lisina delle estremità N-terminali delle proteine istoniche (Fig. 20).

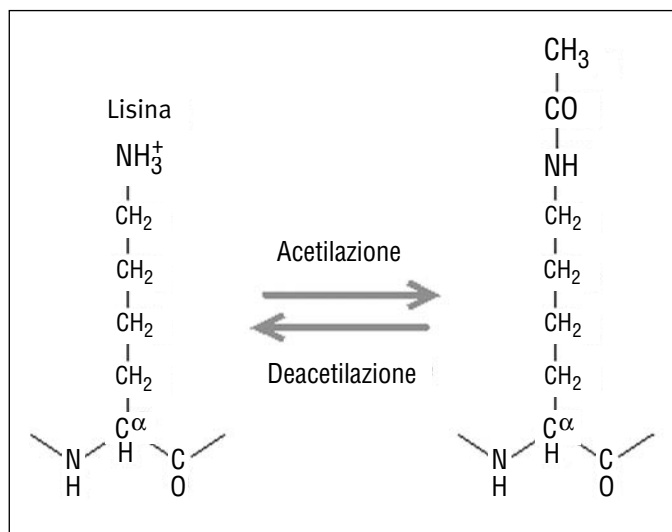
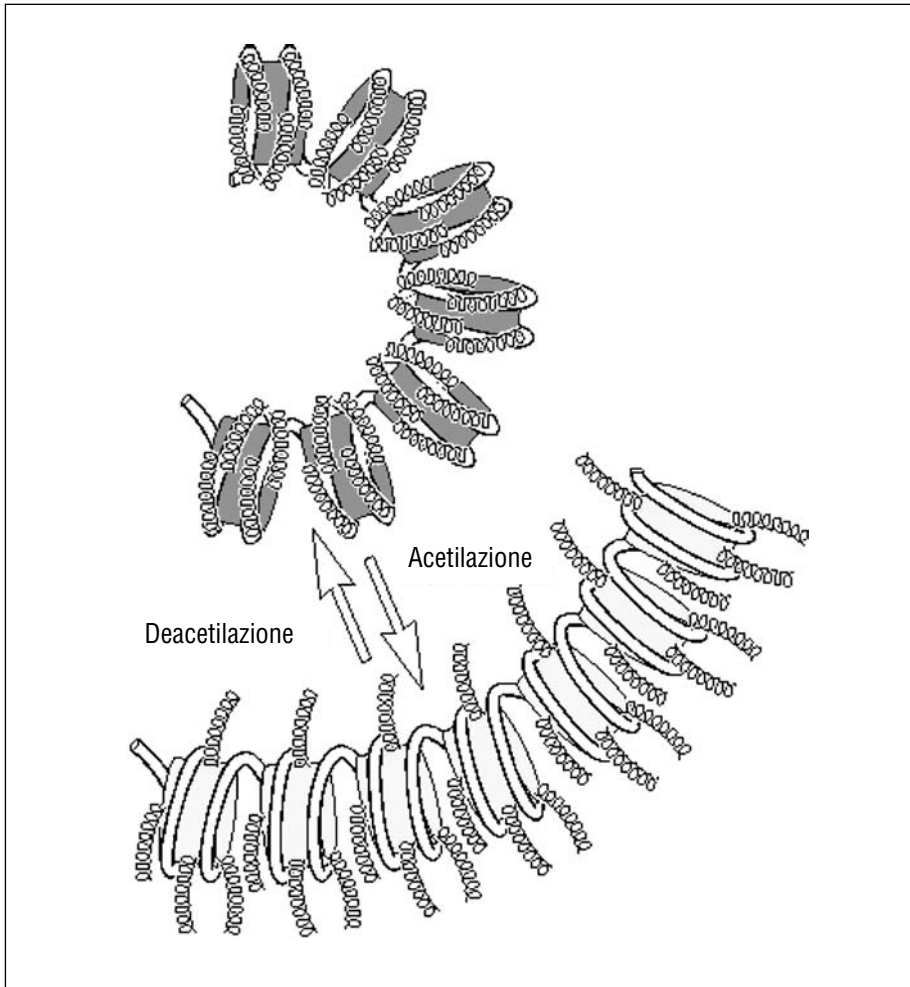


Figura 20. Addizione di un gruppo acetilico all'estremità N-terminale della lisina ad opera dell'istone-acetil-transferasi

- a) Il trasferimento del gruppo acetilico avviene ad opera di un enzima chiamato istone acetil-transferasi;
- b) l'acetilazione degli istoni comporta una ridotta affinità per il DNA, impedendo la formazione di strutture superavvolte (Fig. 21);
- c) in corrispondenza degli istoni acetitati la cromatina assume una struttura più aperta garantendo un'efficiente trascrizione;
- d) la deacetilazione degli istoni consente la formazione dei superavvolgimenti della cromatina ostacolando il processo di trascrizione.

*Figura 21. Modificazioni strutturali della cromatina indotte dal diverso stato di acetilazione*

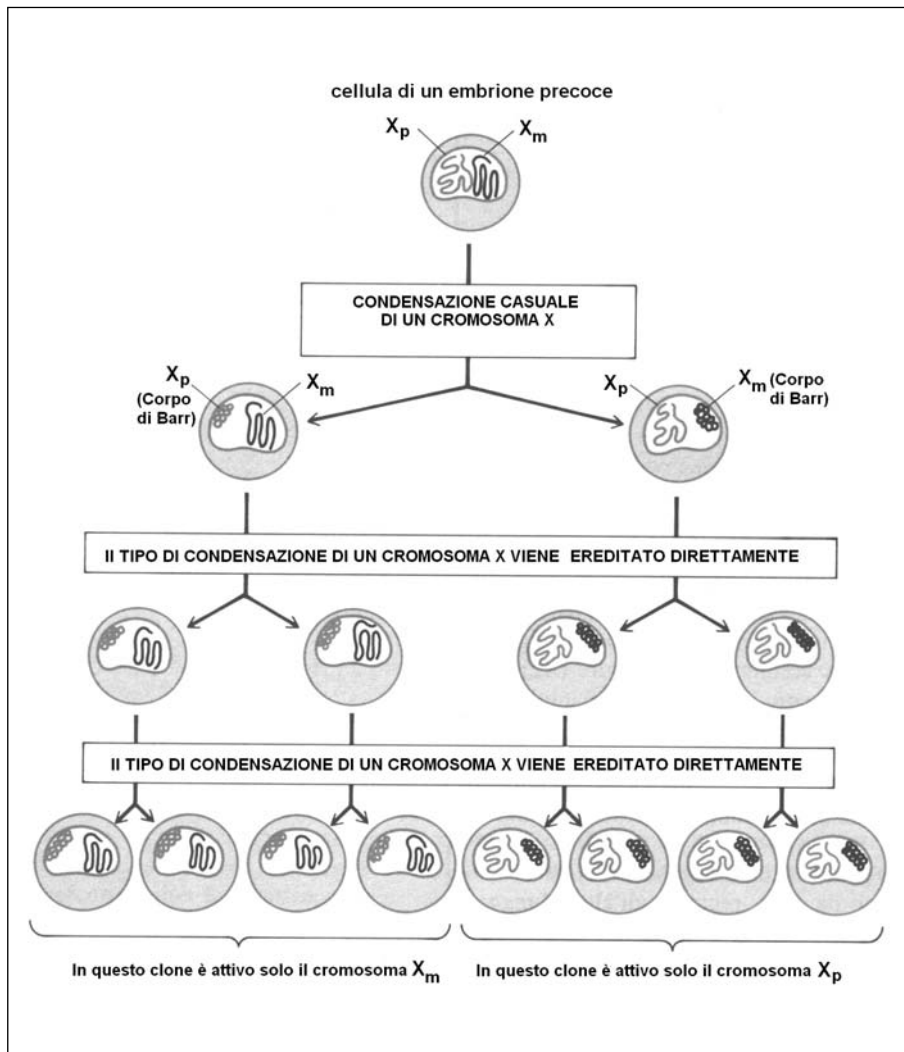




L'inattivazione del cromosoma X e l'imprinting genomico sono due esempi di fattori epigenetici che influenzano l'espressione genica.

- Inattivazione del cromosoma X. L'inattivazione del cromosoma X o lyonizzazione determina, nelle femmine, l'inibizione selettiva di uno dei due cromosomi X (Fig. 22). In tal modo, qualunque sia il sesso dell'individuo, sarà atti-

Figura 22. Il meccanismo di inattivazione del cromosoma X assicura, in entrambi i sessi, la stessa quantità di prodotti presenti sul cromosoma X. Si noti il fenomeno della formazione del Corpo di Barr. [modificata da B. Alberts et al: *Biologia Molecolare della Cellula*. Zanichelli]



vo soltanto un cromosoma X e la quantità di prodotto genico sarà simile tra maschi e femmine (effetto dose):

1. avviene negli stadi precoci dello sviluppo embrionale allo stadio di morula o blastula;
2. in ogni singola cellula embrionale il processo è casuale e può venire inattivato sia il cromosoma di origine paterna che quello di origine materna;
3. una volta inattivato un cromosoma X di una data cellula embrionale, questo rimarrà inattivo per tutte le generazioni cellulari successive;
4. le femmine sono quindi un mosaico di cloni derivanti dalle diverse cellule embrionali esistenti al momento dell'inattivazione;
5. il cromosoma X inattivo, rimane in uno stato altamente condensato ed è pertanto visibile nelle cellule interfasiche come Corpo di Barr o cromatina sessuale. Il numero di corpi di Barr osservati corrisponde al numero dei cromosomi X inattivati. Ciò fornisce un metodo rapido, ma non affidabile, per l'attribuzione del sesso di un individuo;
6. il cromosoma X inattivo contiene estese regioni di DNA metilato al contrario del cromosoma X attivo;
7. il gene Xist (Xq13) è necessario per dare inizio al processo di inattivazione, ma non è sufficiente per mantenerla;
8. L'ipoacetilazione dell'istone H<sub>4</sub> è associata all'inattivazione del cromosoma X.

Implicazioni cliniche della lyonizzazione:

1. Una femmina portatrice di una mutazione X-linked recessiva potrebbe esprimere il fenotipo patologico se, durante lo stadio embrionale, la maggior parte dei cloni avesse inattivato il cromosoma X portatore dell'allele normale.
2. Diversamente dalle monosomie autosomiche che non sono compatibili con la vita, quelle legate al cromosoma X determinano un fenotipo lieve (Sindrome di Turner)
3. Le trisomie legate al cromosoma X determinano fenotipi più lievi di quelle autosomiche.

Imprinting genomico

Per imprinting genomico si intende l'espressione differenziale di un gene in rapporto alla sua origine paterna o materna. Alcuni geni sono attivi se trasmessi attraverso la oogenesi (imprinting paterno), mentre altri sono attivi se trasmessi attraverso la spermatogenesi (imprinting materno).

- 1) L'imprinting riflette pertanto una modificazione funzionale del gene (la sua sequenza non viene mai modificata), temporanea, avvenuta durante la gametogenesi.
- 2) Si stima che circa 200 geni nell'uomo subiscano il fenomeno dell'imprin-

ting. Molti di essi svolgono un importante ruolo nel differenziamento e nello sviluppo. Si ritiene pertanto che questo fine meccanismo di regolazione sia rilevante per il dosaggio quantitativo dei prodotti di alcuni geni durante lo sviluppo embrionale e fetale.

- 3) L'imprinting si manifesta immediatamente dopo la formazione dello zigote, quando gli alleli sottoposti a imprinting possono essere riattivati. Questo evento presuppone l'esistenza di meccanismi in grado di distinguere gli alleli paterni da quelli materni, in base a modificazioni chimiche o strutturali avvenute durante la gametogenesi.
- 4) Ogni modificazione epigenetica dell'imprinting viene cancellata durante la gametogenesi successiva e soggetta a nuove modifiche, in rapporto al sesso dell'individuo.

### Conseguenze cliniche dell'imprinting

Alterazioni del pattern dell'imprinting si traducono spesso in disturbi dello sviluppo e sono causa di alcune malattie genetiche (malattie da imprinting).

Queste malattie sono principalmente conseguenza dell'assenza di espressione del/i gene/i sottoposto/i a imprinting, se l'allele presente sul cromosoma omologo (non sottoposto a imprinting e quindi normalmente funzionante) subisce una mutazione, una delezione o la perdita completa del cromosoma.

- a) Ad esempio, la delezione prossimale del braccio lungo del cromosoma 15 paterno (15q11-q13) causa circa il 70% dei casi di sindrome di Prader-Willi (PWS), che è caratterizzata da obesità, bassa statura, ipogonadismo, dimensioni ridotte delle mani e dei piedi e ritardo mentale. Un'analogia delezione del cromosoma 15 di origine materna causa invece circa il 70% dei casi di sindrome di Angelman (AS), caratterizzata da ritardo mentale e motorio, assenza di linguaggio, atassia e crisi improvvise di riso. La differenza tra questi due fenotipi è dovuta alla mancanza dell'espressione di uno o più geni sottoposti a imprinting materno, nella sindrome di PWS, e alla deficienza nell'espressione di altri geni sottoposti a imprinting paterno, che mappano nella stessa regione, nella sindrome di Angelman. In entrambe le condizioni, l'evento di delezione sul cromosoma che normalmente esprime questi geni (non sottoposti a imprinting) determina l'assenza totale dei prodotti genici nella cellula. Altri esempi di patologie correlate all'imprinting genomico sono: il diabete neonatale transiente e la sindrome di Beckwith-Wiedemann [OMIM#130650].
- b) L'assenza dei prodotti attivi dei geni sottoposti a imprinting può anche essere dovuta alla disomia uniparentale (UPD) di alcuni cromosomi (entrambe le copie di un cromosoma ereditate dallo stesso genitore). La UPD di alcuni cromosomi non produce alcun effetto fenotipico, mentre per altri produce effetti anomali e talvolta complementari a seconda delle differenti origini parentali: si può osservare un eccesso di crescita nella di-

somia uniparentale di origine materna e un ritardo di crescita nella stessa disomia uniparentale di origine paterna.

- c) Alterazioni del meccanismo dell'imprinting sono anche causate da mutazioni all'interno di regioni genomiche che apparentemente regolano il processo dell'imprinting (centri di imprinting). Queste regioni controllano la trascrizione di geni distanti anche qualche centinaio di Kb. Altre mutazioni riguardano geni sottoposti a imprinting solo in determinati periodi dello sviluppo o che sono regolati in modo tessuto-dipendente. Sono esemplificative le mutazioni del gene *UBE3A/E6-AP* (ubiquitin-protein ligasi E6-AP), patogeneticamente correlate alla AS a cariotipo normale, in assenza di UPD o di alterazioni dei centri di imprinting.
- d) Il fenomeno dell'imprinting è anche causa del fallimento della partenogenesi (sviluppo biologico di uova non fecondate) e dell'androgenesi (sviluppo di uova anucleate fecondate) nello sviluppo dei mammiferi. Queste anomalie si verificano all'inizio dello sviluppo embrionale, ma non danno mai origine a prole vitale.

### **Ciclo cellulare**

Il ciclo cellulare è la serie coordinata di eventi che conduce alla divisione di una cellula madre in due cellule figlie identiche. Possiamo distinguere quattro fasi principali (Fig. 23):

1. Fase  $G_1$ : appena terminata la mitosi la cellula sintetizza gli enzimi e i fattori necessari al processo di duplicazione, ma il suo DNA rimane in uno stato di non replicazione.
2. Fase S: è il processo di replicazione del DNA e comporta la duplicazione dell'intero genoma.
3. Fase  $G_2$ : inizia la condensazione dei cromosomi che, dopo la fase S, risultano duplicati ognuno in due cromatidi.
4. Fase M: i cromosomi sono segregati nelle cellule figlie.

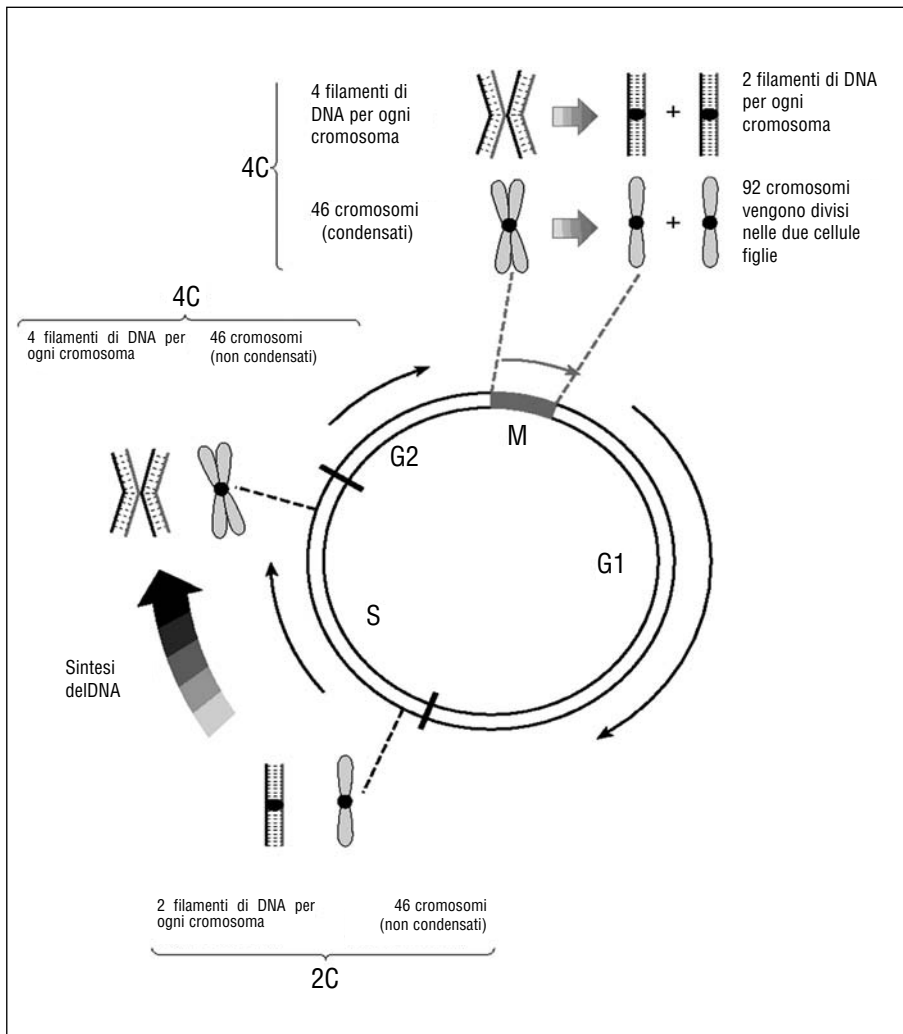
Questo processo si ripete ad ogni divisione delle cellule somatiche. Tuttavia, alcuni tipi di cellule differenziate (ad esempio i neuroni) non si dividono, ma permangono ferme allo stato  $G_1$  che in tali casi viene chiamato  $G_0$ . La porzione di ciclo cellulare che intercorre tra due mitosi successive è chiamato interfase.

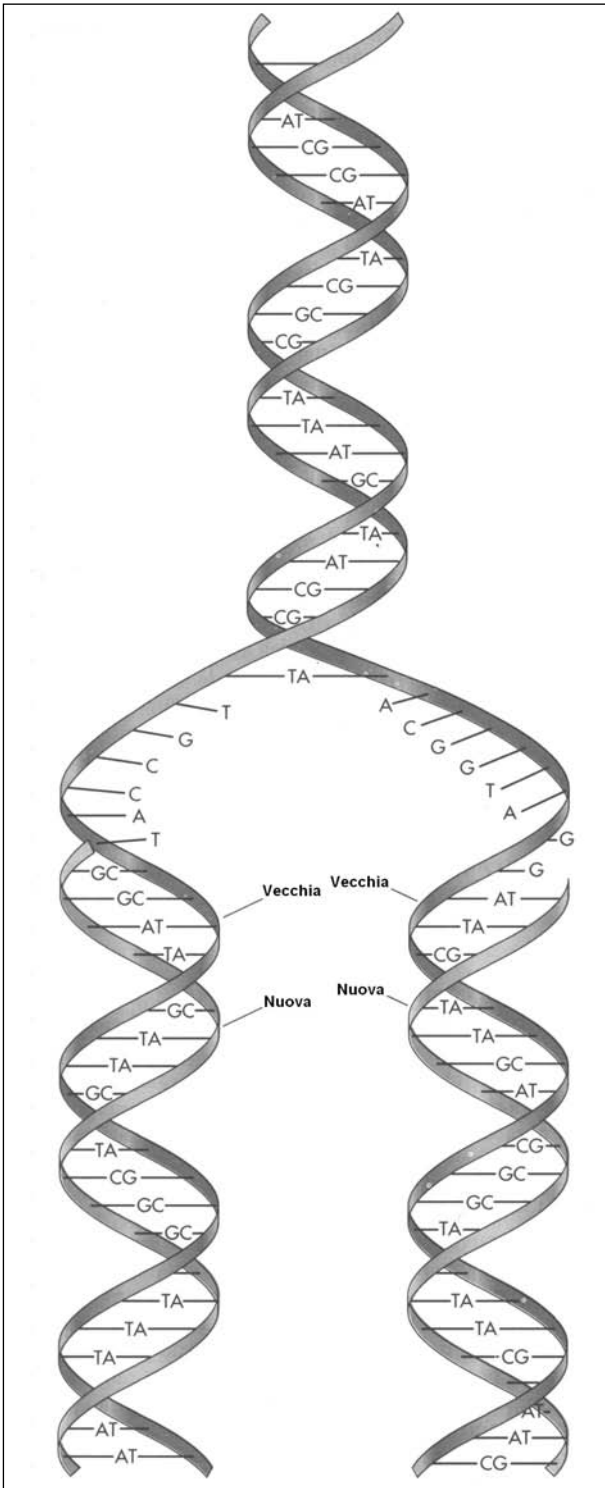
### **La replicazione del DNA**

Durante la divisione cellulare, il DNA contenuto nella cellula parentale deve essere interamente trasmesso ad entrambe le cellule figlie e deve pertanto subire una replicazione:

- il processo di replicazione comincia in precisi punti chiamati origini di replicazione;
- i due filamenti di DNA vengono srotolati da un enzima chiamato elicasi;

**Figura 23.** Il ciclo cellulare ha una durata di circa 24 ore (in vitro). Durante l'interfase (fase  $G_1$ ,  $S$  e  $G_2$ ) la cellula non si divide. A partire dalla fase  $G_2$  la cellula è caratterizzata da un numero doppio di cromosomi [modificata da T. Strachan, A. Read: Human Molecular Genetics. UTET]



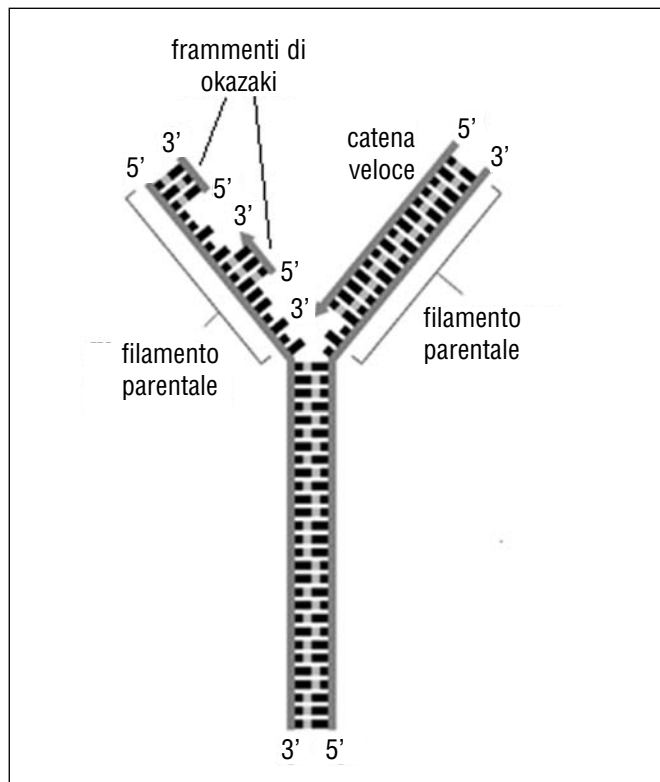


*Figura 24. Processo semiconservativo di replicazione del DNA. Ciascun filamento funge da stampo per la sintesi di un filamento complementare*

- ciascun filamento dirige la sintesi del filamento di DNA ad esso complementare in accordo con le regole di appaiamento delle basi azotate (Fig. 24);
- la DNA-polimerasi è l'enzima che sintetizza i nuovi filamenti di DNA;
- la sintesi del DNA avviene sempre in direzione 5'–3';
- dal momento che i due filamenti della doppia elica sono antiparalleli, la sintesi di un filamento (filamento guida) può avvenire in modo continuo seguendo la direzione della elicasasi (Fig. 25);
- l'altro filamento (filamento "in ritardo") non dispone di estremità 3' libere, poiché l'elicasasi procede, per questo filamento, in direzione 3'–5'. Tale filamento viene replicato in modo discontinuo, attraverso la formazione di piccoli frammenti (frammenti di Okazaki), con funzione di origine, che permettono la sintesi in direzione opposta a quella dell'elicasasi;
- la replicazione è semiconservativa, poiché ciascuna delle doppie eliche figlie contiene un filamento originale ed uno neosintetizzato.

### La mitosi

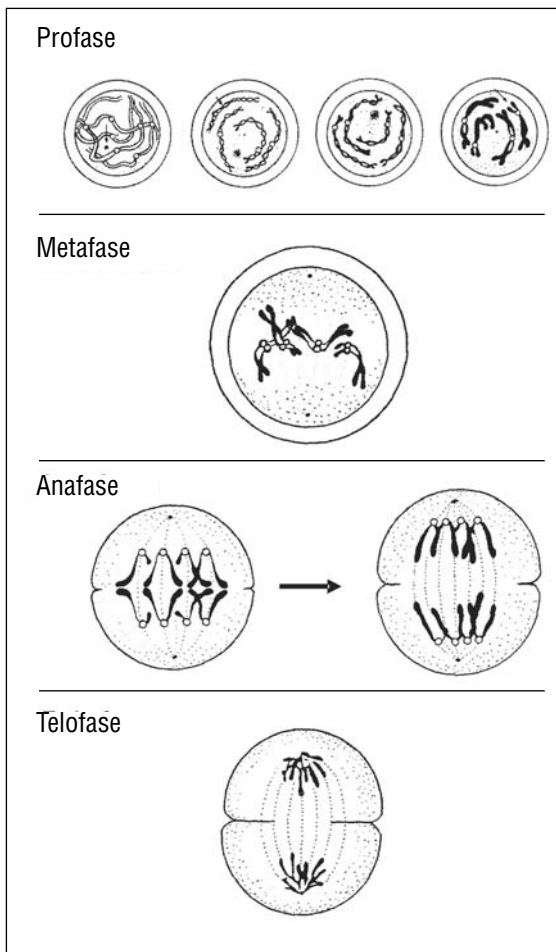
La mitosi è un tipo di divisione nucleare che avviene durante la divisione cellulare e produce due nuclei figli identici al nucleo da cui si sono originati.



*Figura 25. Durante la replicazione del DNA, la sintesi dei filamenti avviene in modo asimmetrico. La sintesi dei frammenti di Okazaki (sul filamento lento) utilizza un innesco di RNA*

Ricordando che la mitosi è un processo dinamico, possiamo schematizzarla, a fini descrittivi, in quattro fasi principali (Fig. 26):

1. Profase: inizia il processo di condensazione dei cromosomi che risultano formati da una serie di spirali che ne faciliteranno la mobilità durante le successive fasi. Ogni cromosoma consiste di due cromatidi fratelli tenuti insieme dal centromero.
2. Metafase: i cromosomi si contraggono completamente e si dirigono verso il piano equatoriale della cellula attaccandosi alle fibre del fuso a livello del centromero.
3. Anafase: le coppie di cromatidi fratelli si separano e si dirigono verso i poli opposti della cellula.
4. Telofase: si ricostituisce un involucro nucleare attorno a ciascun nucleo figlio e i cromosomi si decondensano in fibre di cromatina interfascica. Il citoplasma è ripartito nelle due cellule figlie e contenuto in una nuova membrana cellulare.



*Figura 26. Durante la mitosi, le molecole di DNA figlie (cromatidi fratelli) vengono tirate ai poli opposti della cellula, ove formano i due nuclei identici delle cellule figlie generate dalla divisione cellulare*

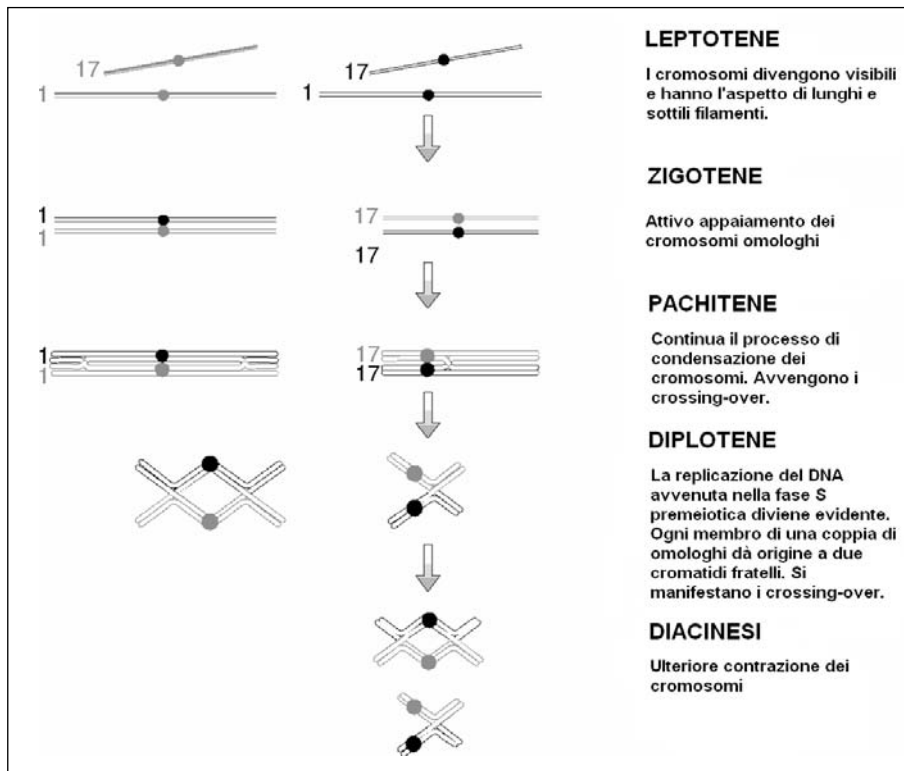


## La meiosi

La meiosi è la divisione nucleare che avviene nelle cellule diploidi che sono destinate a produrre gameti aploidi. Il prodotto della meiosi è una cellula che contiene un numero di cromosomi pari alla metà di quello della cellula da cui ha avuto origine. Consiste di due speciali divisioni: Meiosi I e Meiosi II.

- Meiosi I. È una divisione riduzionale (Fig. 27), poiché il numero dei cromosomi in ciascuna cellula figlia ( $n$ ) è la metà di quello presente nella cellula da cui hanno avuto origine ( $2n$ ). Ciascun cromosoma risulta duplicato, cioè composto da cromatidi fratelli. Può essere suddivisa in quattro fasi:
  1. Profase I. È la fase più lunga e complessa e può essere a sua volta suddivisa in 5 fasi sequenziali:
    - a) Leptotene. I cromosomi diventano visibili ed hanno l'aspetto di lunghi e sottili filamenti. Non sono distinguibili i cromatidi fratelli.
    - b) Zigotene. I cromosomi omologhi (uno di origine materna, l'altro di origine paterna) si appaiano per la loro intera lunghezza, dando luogo ad un processo noto come Sinapsi.
    - c) Pachitene. Continua il processo di condensazione dei cromosomi che ora appaiono come bivalenti, strettamente associati nella sinapsi. Il numero delle unità presenti nel nucleo è pertanto uguale ad  $n$ .

Figura 27. Dettaglio delle fasi distintive della profase della prima divisione meiotica [modificata da T. Strachan, A. Read: Human Molecular Genetics. UTET]



d) Diplotene. Ogni membro di una coppia di omologhi dà origine ad una coppia di cromatidi fratelli, pertanto la struttura sinaptica è costituita da quattro cromatidi omologhi. Gli omologhi cominciano a separarsi e si rendono evidenti delle strutture poste a croce tra i due cromatidi non fratelli, chiamate chiasmi.

e) Diacinesi. Ulteriore contrazione dei cromosomi.

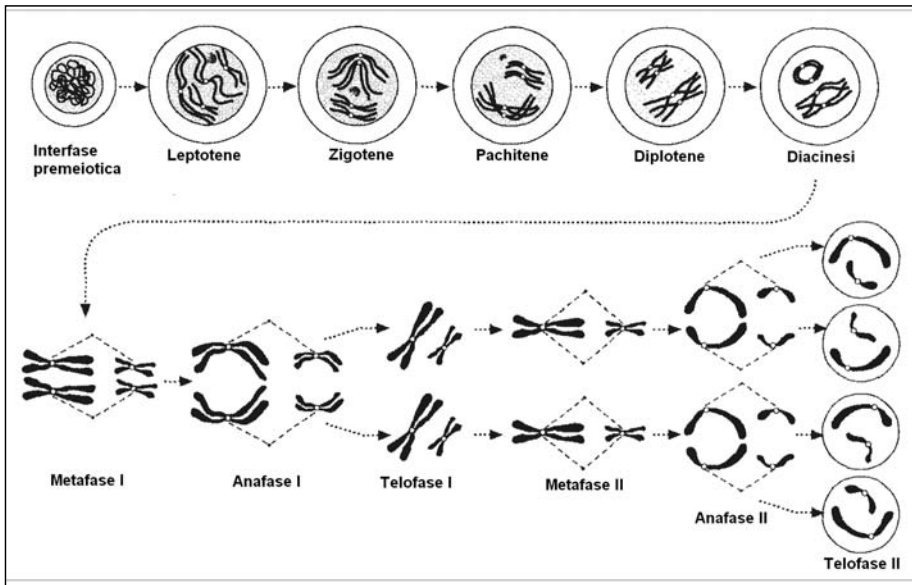
2. Metafase I (Fig. 28). Scompare la membrana nucleare e ogni coppia di omologhi raggiunge il piano equatoriale della cellula. I centromeri di ogni coppia di omologhi si ancorano alle fibre del fuso che connettono i due poli della cellula.

3. Anafase I. I due membri di ciascuna coppia di omologhi migrano verso i poli opposti della cellula. I due cromatidi fratelli di ogni cromosoma non si dividono, ma rimangono uniti attraverso il centromero.

4. Telofase I. I due corredi aploidi di cromosomi raggiungono i poli opposti della cellula. Per convenzione, i due nuclei risultanti sono considerati aploidi, dal momento che i cromatidi fratelli sono uniti tra loro tramite il centromero.

- Meiosi II. È preceduta da una breve interfase in cui non c'è sintesi di DNA. Come nella mitosi, i due cromatidi fratelli migrano verso il piano equatoriale della cellula, per poi essere attratti ai poli opposti dalle fibre del fuso. Alle fine della seconda divisione meiotica, si ottengono quattro prodotti aploidi. L'assortimento indipendente e la distribuzione casuale dei cromosomi nelle cellule figlie dà origine, in ogni persona, a un numero teorico di combinazioni gametiche pari a  $2^{23}$ , cioè 8.388.608 tipi diversi di gamete. Perciò gli zigoti prodotti da una determinata coppia di genitori possono in teoria avere  $2^{46}$  combinazioni diverse. A questa straordinaria variabilità, aggiunge un'ulteriore variabilità il *crossing-over*. Ammettendo che si verifichi anche un solo *crossing-over* per cromosoma e che nei genitori circa il 10% dei geni presenti-

Figura 28. La meiosi si compone di due divisioni cellulari, ognuna caratterizzata da fasi differenti

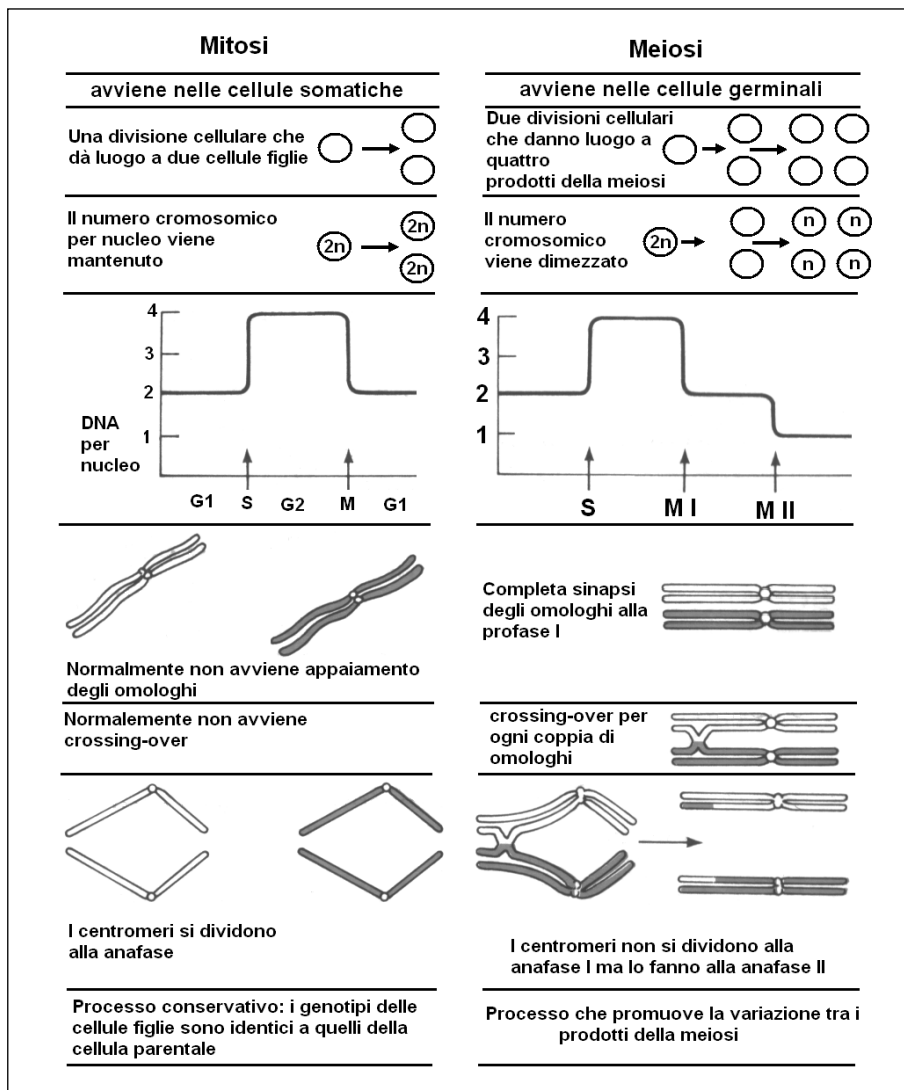


no differenze alleliche, il numero delle combinazioni zigotiche sarebbe superiore a  $6 \times 10^{43}$ , numero che è di gran lunga più elevato rispetto al numero complessivo delle persone fino ad oggi vissute sulla terra. Di fatto si verificano una cinquantina di *crossing-over* per meiosi. Questo dato indica che la meiosi è un meccanismo biologico in grado di garantire l'unicità biologica delle persone. L'unica eccezione è rappresentata dai gemelli monozigoti.

## Differenze tra Mitosi e Meiosi

- La meiosi avviene solo nelle cellule germinali (Fig. 29), la mitosi sia nelle cel-

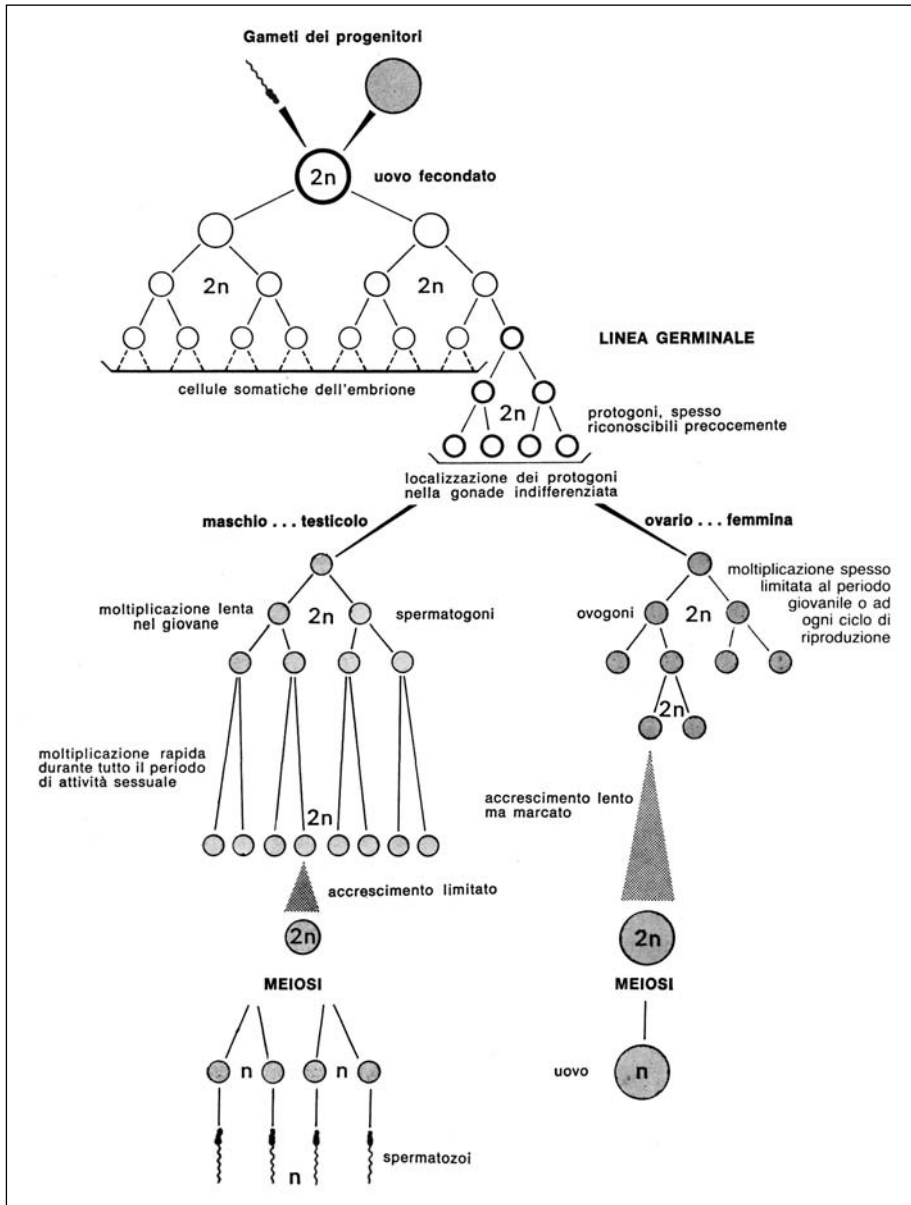
Figura 29. Schema riassuntivo delle differenze tra mitosi e meiosi



lule somatiche che in quelle germinali (prima del raggiungimento degli ultimi stadi di sviluppo);

- la meiosi è composta da due divisioni cellulari, la mitosi da una soltanto;
- l'appaiamento dei cromosomi omologhi avviene solo nella meiosi;
- la ricombinazione avviene quasi esclusivamente durante la meiosi;

Figura 30. Spermatogenesi e oogenesi



- la meiosi determina la riduzione del numero di cromosomi nelle cellule figlie, da 46 a 23 (nell'uomo).

### Conseguenze genetiche della meiosi

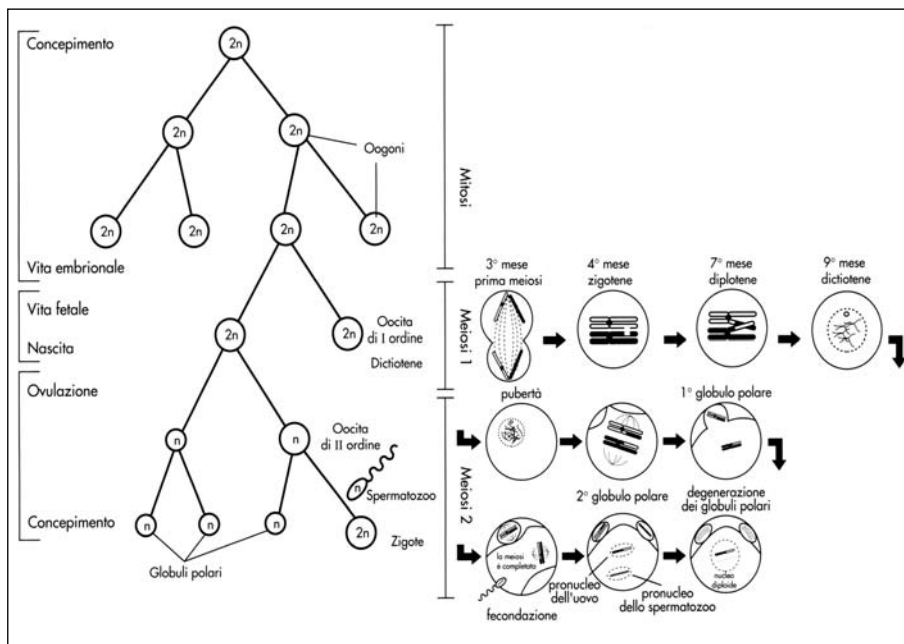
- Segregazioni degli alleli: un gamete contiene soltanto una singola copia di un gene;
- assortimento indipendente dei cromosomi omologhi: un gamete contiene cromosomi ereditati sia per via paterna che materna;
- ricombinazione: ogni cromosoma contenuto nei gameti contiene materiale sia di origine materna che di origine paterna.

### Gametogenesi

Nelle gonadi (ovaio e testicolo) si svolge la *gametogenesi* (Fig. 30), la divisione cellulare (*meiosi*) che produce i *gameti* (uovo e spermatozoo). Questo processo dimezza il numero dei cromosomi delle cellule somatiche, riducendolo da *diploide* (46 o  $2n$ ) ad *aploide* (23 o  $n$ ). Il concepimento ricostituisce il numero diploide nell'uovo fecondato (zigote).

Oogenesi. L'oogenesi (Fig. 30, 31), il processo attraverso il quale maturano i

**Figura 31. L'oogenesi, a differenza della spermatogenesi, si realizza in larga parte prima della nascita. Una volta avvenuta la fecondazione, la testa dello spermatozoo forma il pronucleo maschile e la cellula uovo completa la seconda divisione meiotica e dà luogo al pronucleo femminile. La fusione dei due pronuclei nello zigote dà inizio all'embriogenesi**



gameti femminili, a differenza della spermatogenesi, si realizza in larga misura prima della nascita. Dalle cellule germinali primitive originano gli oogoni, ognuno dei quali costituisce la cellula centrale all'interno del follicolo. A partire dal terzo mese di vita fetale, gli oogoni si sono trasformati in oociti di I ordine e iniziano la prima divisione meiotica. Fino alla maturità sessuale (menarca) gli oociti di I ordine rimangono bloccati nella profase della prima divisione meiotica (fase di *dictiotene*). Durante la vita fetale e prima della pubertà la maggior parte di queste cellule degenera. Il numero massimo di cellule germinali in un feto di sesso femminile a 5 mesi di vita è stimato in  $6,8 \times 10^6$ , mentre alla pubertà il loro numero scende a circa 200.000. Soltanto 400 di queste cellule vengono ovulate durante la vita feconda della donna. Alla pubertà, ogni mese, sotto l'azione degli ormoni un solo oocita in media completa la propria maturazione.

Lo scoppio del follicolo corrisponde all'immissione dell'oocita nella tuba di Falloppio. La prima divisione meiotica distribuisce in maniera asimmetrica il citoplasma, formando un oocita di II ordine, che riceve la maggior parte del citoplasma, e un globulo polare, con citoplasma ridotto. La seconda divisione meiotica viene completata solo quando l'oocita viene fecondato. In questo caso l'uovo maturo emette il secondo globulo polare e il primo globulo si divide autonomamente. Pertanto l'oogenesi produce un solo uovo maturo e tre globuli polari. Inoltre, l'oogenesi è un processo discontinuo, che può impiegare oltre 50 anni per completarsi. Questo lungo intervallo temporale tra l'inizio della prima divisione meiotica e la sua conclusione aumenta progressivamente con l'età materna e costituisce un fattore di rischio per la corretta separazione dei cromosomi appaiati o dei cromatidi fratelli. Per questo l'invecchiamento dell'oocita e l'età materna avanzata sono causalmente correlati con patologie di numero dei cromosomi.

**Spermatogenesi.** La spermatogenesi (Fig. 30) è il processo continuo che porta alla formazione delle cellule germinali maschili, nei tubuli seminiferi del testicolo, a partire dalla pubertà. Nella porzione periferica dei tubuli sono localizzati gli spermatogoni, cellule staminali capaci di autoreplicarsi o di trasformarsi negli spermatozoi, attraverso lo stadio spermatocita di I ordine, che possiede 46 cromosomi duplicati. Lo spermatocita di I ordine entra in divisione meiotica per dare origine a due spermatociti di II ordine, che contengono 23 cromosomi duplicati. Gli spermatociti di II ordine si dividono (questa è la seconda divisione meiotica) per dare origine ciascuno a due spermatidi, che contengono 23 cromosomi non duplicati. La loro maturazione porta alla formazione degli spermatozoi, che vengono liberati nel lume del tubulo. Pertanto, ogni spermatogonio produce quattro spermatozoi maturi. L'intero processo dura circa 61 giorni. In ogni eiaculato vengono emessi circa 50–100 milioni di spermatozoi. La loro produzione decresce con il tempo e il loro numero durante tutta la vita feconda è di circa  $10^{12}$ . Il numero delle divisioni mitotiche che portano alla produzione degli spermatogoni aumenta proporzionalmente con l'età paterna (circa 550 divisioni all'età di 35 anni). Ciò comporta un progressivo aumento del rischio di mutazioni genetiche, proporzionale all'età paterna.

**Concepimento.** La penetrazione dello spermatozoo nell'uovo identifica il momento del concepimento (Fig. 31) che di solito avviene nella tuba di Falloppio.

La penetrazione dello spermatozoo determina modificazioni chimiche che impediscono l'ingresso di altri spermatozoi. La testa dello spermatozoo forma il cosiddetto *pronucleo maschile* e la cellula uovo completa la seconda divisione meiotica e forma il *pronucleo femminile*.

La fusione dai due pronuclei nello zigote dà avvio all'embriogenesi che, attraverso successive divisioni mitotiche, produce nel neonato circa  $2 \times 10^{12}$  cellule e  $5 \times 10^{12}$  cellule nell'adulto.

### **Principali differenze tra spermatogenesi e oogenesi.**

- La proliferazione mitotica (Fig. 30) degli oogoni è limitata solo ai primi mesi di vita fetale mentre le divisioni mitotiche degli spermatogoni continuano anche nell'età adulta;
- lungo arresto dei gameti femminili alla profase I della prima divisione meiotica;
- ogni meiosi femminile produce soltanto un gamete funzionale, contro i quattro gameti prodotti dalla meiosi maschile;
- la seconda divisione meiotica femminile si completa soltanto dopo l'avvenuta fecondazione, mentre la spermatogenesi maschile è un processo continuo.

Conseguenze genetiche della oogenesi femminile: il prolungato blocco alla profase I della prima divisione meiotica potrebbe contribuire all'incremento del rischio di eventi di non-disgiunzione all'aumentare dell'età materna.





# Esercizi

- 1. Quali delle seguenti caratteristiche è propria del DNA ma non dell' RNA?**
  - a) il filamento neosintetizzato è antiparallelo al filamento stampo
  - b) i nuovi filamenti sono sintetizzati in direzione 5'-3'
  - c) la sintesi è semi-conservativa
  - d) assume strutture secondarie complesse
  
- 2. Quali caratteristiche hanno in comune sia il DNA che l'RNA?**
  - a) sono localizzati esclusivamente nel nucleo
  - b) contengono il deossiribosio quale zucchero
  - c) sono molecole a doppio filamento
  - d) contengono legami fosfodiesterici
  
- 3. La meiosi:**
  - a) avviene in tutte le cellule che compongono un organismo
  - b) è composta da una singola divisione
  - c) avviene solo nelle cellule della linea germinale
  - d) produce 4 gameti aploidi sia nei maschi che nelle femmine
  
- 4. Di quante coppie di cromosomi è composto il normale cariotipo umano?**
  - a) 23
  - b) 24
  - c) 22
  - d) 20
  
- 5. Quali delle seguenti affermazioni è falsa:**
  - a) gli pseudogeni non sono attivi dal punto di vista trascrizionale
  - b) la eterocromatina costitutiva consiste di regioni non espresse
  - c) il DNA microsatellite ha un numero di nucleotidi della singola unità ripetuta superiore al DNA minisatellite
  - d) l'eterocromatina è il principale costituente dei cromosomi
  
- 6. Indicare l'ordine esatto dei successivi livelli di spiralizzazione dei filamenti del DNA (dal meno compresso al più condensato):**
  - a) nucleosoma, cromatina, fibra cromatinica, solenoide
  - b) nucleosoma, solenoide, fibra cromatinica, cromatina
  - c) cromatina, nucleosoma, solenoide, fibra cromatinica
  - d) cromatina, nucleosoma, fibra cromatinica, solenoide
  
- 7. Un cromosoma metacentrico è un cromosoma:**
  - a) sprovvisto di centromero

- b) con due centromeri
- c) con un centromero posto molto vicino ad una delle due estremità
- d) con un centromero posto nel centro del cromosoma

**8. Le TATA-BOX:**

- a) sono sequenze poste al 3' del gene
- b) proteggono il trascritto dall'attacco delle esonucleasi
- c) indicano il sito di fine del processo di traduzione consentendo al ribosoma di separarsi dal RNA
- d) sono sequenze ricche in AT che indirizzano la polimerasi verso il sito di inizio della trascrizione

**9. La molecola di RNA:**

- a) non contiene residui di zucchero
- b) contiene la base pirimidinica timina
- c) si trova solo nel citoplasma delle cellule
- d) si trova sia nel citoplasma che nel nucleo

**10. Quale delle seguenti affermazioni caratterizza in modo migliore gli esoni?**

- a) sono presenti in egual numero nei geni che codificano per proteine
- b) hanno, in genere, dimensioni maggiori degli introni
- c) costituiscono le porzioni del gene che saranno tradotte in proteina
- d) sono necessari per l'identificazione di un gene da parte della DNA polimerasi

**11. La sequenza 5'-ATTGACTTACTA-3' su un filamento stampo di DNA codifica una molecola di RNA caratterizzata da quale sequenza?**

- a) 5'-UAGUAAGUCAAU-3'
- b) 5'-UAACUGAAUGAU-3'
- c) 5'-TAACTGAATGAT-3'
- d) 3'- TAACTGAATGAT-5'

**12. Un evento di mutazione inserisce una coppia nucleotidica nella regione codificante di un gene. Cosa osservo?**

- a) non osservo più un prodotto proteico
- b) un aminoacido della proteina sarà cambiato
- c) tre aminoacidi della proteina saranno cambiati
- d) la maggior parte degli aminoacidi della proteina che seguono il sito di inserzione è cambiata

**13. Quale dei seguenti codoni indica il segnale di fine della sintesi proteica?**

- a) UAA
- b) AAU
- c) GUU
- d) UAU

**14. La struttura secondaria di una proteina è considerata:**

- a) la struttura tridimensionale del polipeptide
- b) la sequenza aminoacidica della proteina
- c) l'associazione di diverse subunità che si associano a formare un multimerico
- d) costituita dagli avvolgimenti dei domini della proteina

**15. L'inattivazione del cromosoma X:**

- a) avviene sia nei maschi che nelle femmine ma a diversi stadi di sviluppo
- b) avviene in ogni singola cellula embrionale e può coinvolgere sia il cromosoma di origine paterna che quello di origine materna
- c) porta ad un'estesa metilazione del cromosoma X che rimane attivo
- d) nelle femmine verranno inattivati o tutti i cromosomi X di origine paterna o tutti i cromosomi X di origine materna

**16. Un campione di DNA a doppio filamento ha un contenuto in adenina (A) del 20%. Qual è il suo contenuto percentuale di citosine (C)?**

- a) 20%
- b) 30%
- c) 40%
- d) 60%

**17. Il DNA non può essere analizzato da:**

- a) eritrociti
- b) sistema nervoso
- c) spermatozoi
- d) capelli

**18. Quale di queste affermazioni riguardanti la meiosi è sbagliata?**

- a) durante l'interfase della seconda divisione non avviene sintesi del DNA
- b) al termine della prima divisione ogni cromosoma possiede materiale di origine materna e paterna
- c) durante la telofase compaiono i chiasmi
- d) la seconda divisione meiotica è analoga ad un normale processo di divisione mitotica

**19. Quali legami chimici legano due nucleotidi successivi lungo un filamento di un acido nucleico?**

- a) legame fosfodiesterico
- b) legame peptidico
- c) legame polare
- d) legame idrogeno

**20. La specificità delle coppie AT e GC è determinata da:**

- a) legami covalenti
- b) legami idrogeno
- c) legami disolfuro
- d) legami O-glicosidici

**21. Quanti corpi di Barr sono attesi nelle cellule di un individuo con A) sindrome di Turner, B) triplo X e C) femmine con sindrome di Down?**

- a) A) 0; B) 2; C) 1
- b) A) 1; B) 0, C) 2
- c) A) 2, B) 1, C) 0
- d) A) 0, B) 1, C) 0

**22. Il codice genetico è degenerato quando:**

- a) un aminoacido può essere codificato da più codoni
- b) un anticodone può riconoscere diversi codoni
- c) un codone può codificare diversi aminoacidi
- d) possono avvenire errori di appaiamento tra codone e anticodone

**23. Quali delle sequenze sotto indicate rappresenta una sequenza consenso di splicing nella giunzione esone-introne?**

- a) AG GT
- b) AT CC
- c) GT AG
- d) AC CG

**24. Cos'è l'anticodone?**

- a) una tripletta di basi di tRNA complementare ad un codone "senso" di RNA messaggero
- b) una tripletta di basi di mRNA complementare ad un codone "senso" di tRNA
- c) una tripletta di tRNA complementare unicamente ai codoni di stop presenti sull'mRNA
- d) una tripletta di basi tradotta unicamente nella sintesi proteica mitocondriale

**25. Che cos'è un promotore?**

- a) una sequenza di DNA a cui l'RNA polimerasi deve legarsi per dare un corretto inizio alla trascrizione
- b) una sequenza di RNA che l'RNA polimerasi riconosce per dare un corretto inizio alla trascrizione
- c) una sequenza amminoacidica che si ritrova all'inizio di ogni catena polipeptidica
- d) una sequenza nucleotidica dove si ritrovano sempre i codoni non senso

**26. Quale di queste caratteristiche contraddistingue la meiosi dalla mitosi:**

- a) appaiamento degli omologhi
- b) non disgiunzione
- c) telofase
- d) metafase

**27. La disomia uniparentale definisce:**

- a) la presenza in una coppia di omologhi del cromosoma paterno e materno
- b) due cromosomi geneticamente identici
- c) non-disgiunzione di omologhi alla I divisione meiotica
- d) la presenza di due copie dello stesso cromosoma segregate dallo stesso genitore

**28. Cosa sono i frammenti di Okazaki?**

- a) Frammenti discontinui di DNA che si formano nel processo di replicazione
- b) Frammenti di RNA che si formano durante la traduzione
- c) Frammenti di DNA ottenuti dopo trattamento con specifici enzimi di restrizione
- d) Segmenti di DNA frammentato dopo irradiazione

**Risposte:**

- |      |       |       |       |
|------|-------|-------|-------|
| 1. c | 8. d  | 15. b | 22. a |
| 2. d | 9. d  | 16. b | 23. c |
| 3. c | 10. c | 17. a | 24. a |
| 4. a | 11. a | 18. d | 25. a |
| 5. c | 12. d | 19. a | 26. a |
| 6. d | 13. a | 20. b | 27. d |
| 7. d | 14. d | 21. a | 28. a |

