

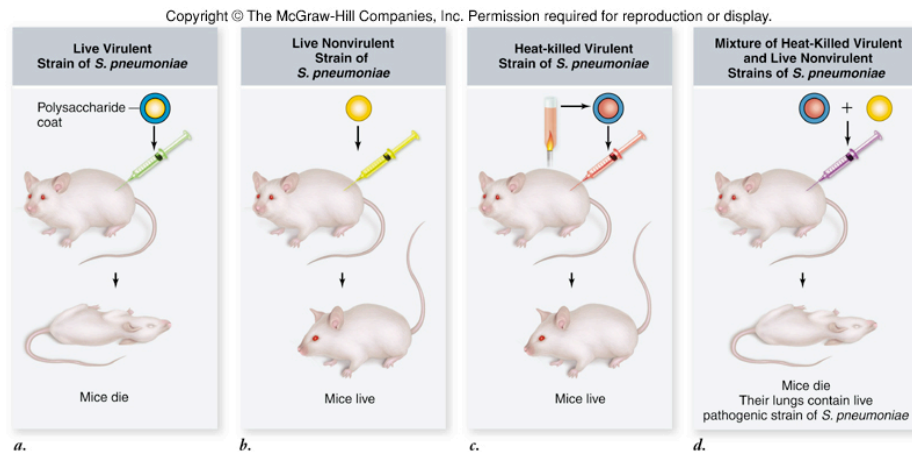


# Friedrich Miescher e la nucleina



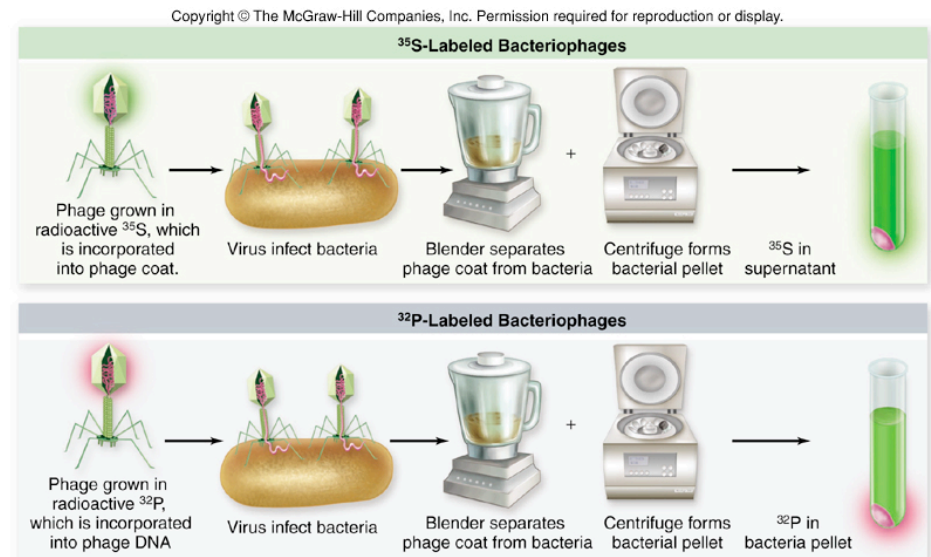
# Il DNA è il materiale ereditario

1928: Griffith



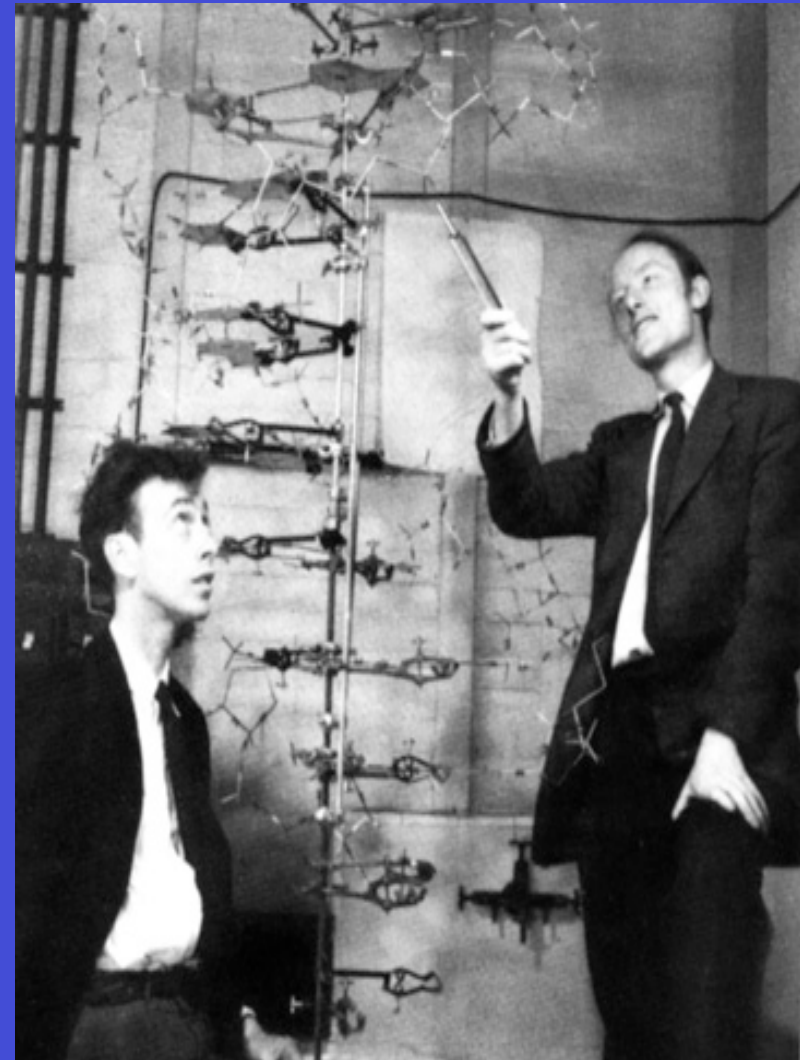
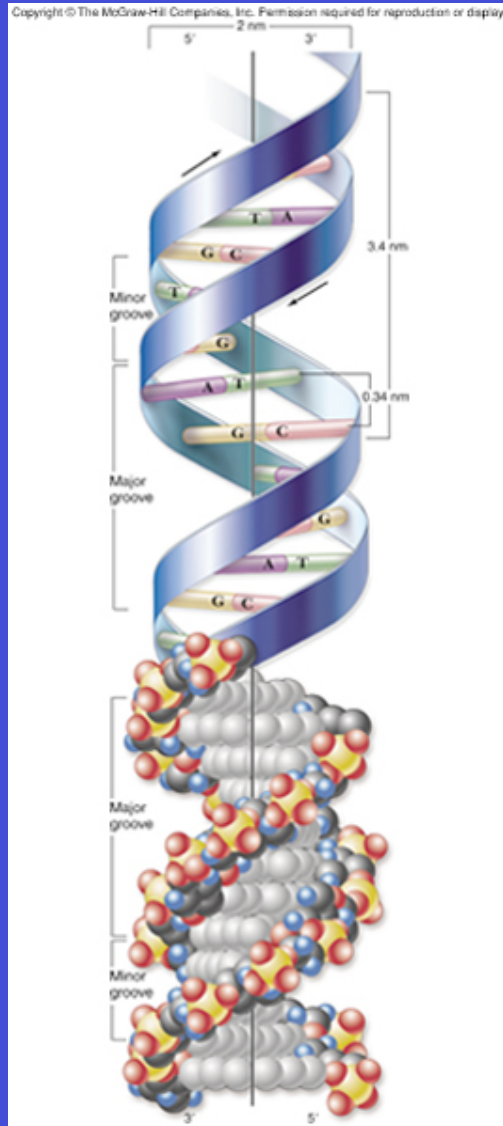
3

1944: Avery, MacLeod, McCarty



8

# 1953: Il modello del DNA a doppia elica



# Il codice genetico

1961: Il codice è a triplette (Crick e Brenner)

		second position				
		U	C	A	G	
first position (5' end)	U	UUU Phe UUC UUA Leu UUG	UCU Ser UCC UCA UCG	UAU Tyr UAC UAA* stop UAG* stop	UGU Cys UGC UGA* stop UGG Trp	U C A G
	C	CUU Leu CUC CUA CUG	CCU Pro CCC CCA CCG	CAU His CAC CAA Gln CAG	CGU Arg CGC CGA CGG	U C A G
	A	AUU Ile AUC AUA AUG† Met	ACU Thr ACC ACA ACG	AAU Asn AAC AAA Lys AAG	AGU Ser AGC AGA Arg AGG	U C A G
	G	GUU Val GUC GUA GUG	GCU Ala GCC GCA GCG	GAU Asp GAC GAA Glu GAG	GGU Gly GGC GAA GGG	U C A G

\* Chain-terminating or "nonsense" codons  
 † Also used in bacteria to specify the initiator formyl-Met-tRNA<sup>fMet</sup>  
 Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings

1968: Nobel a Nirenberg Khorana e Holley per la decifrazione del codice

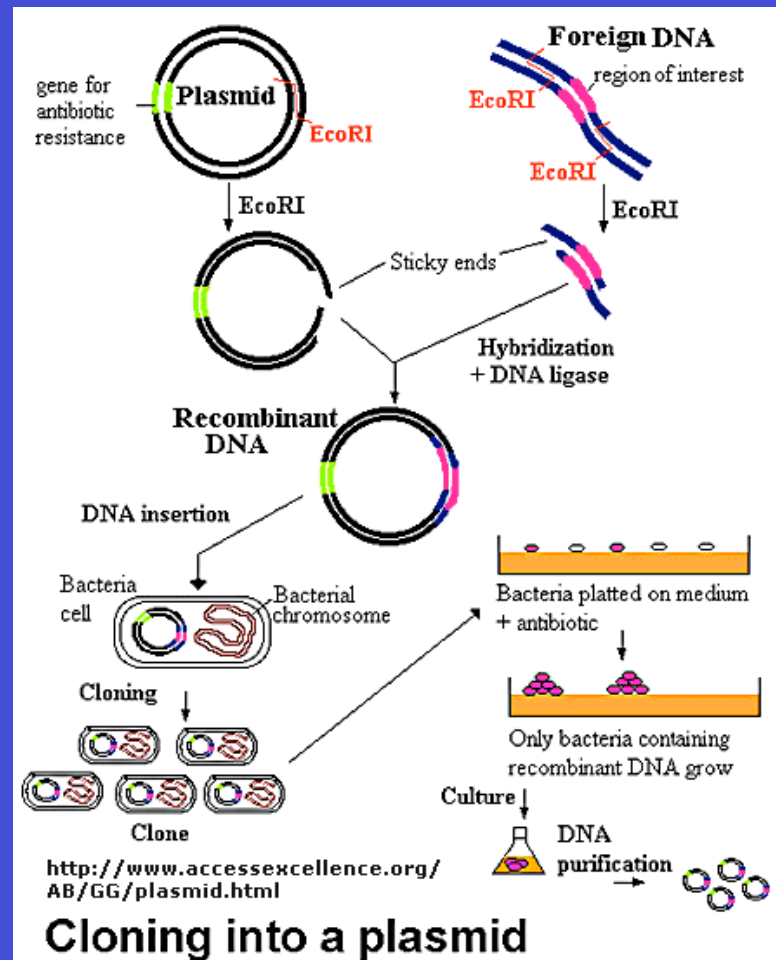
**1970:** Scoperta della prima endonucleasi di restrizione di tipo II  
(*HindII*) isolata dal batterio *Haemophilus influenzae*

Le endonucleasi di restrizione di tipo II riconoscono e tagliano specifiche sequenze palindromiche del DNA



**1972:** Paul Berg produce la prima molecola di DNA ricombinante utilizzando *EcoRI*

**1973:** Trasformazione in *E. coli* del primo plasmide ricombinante





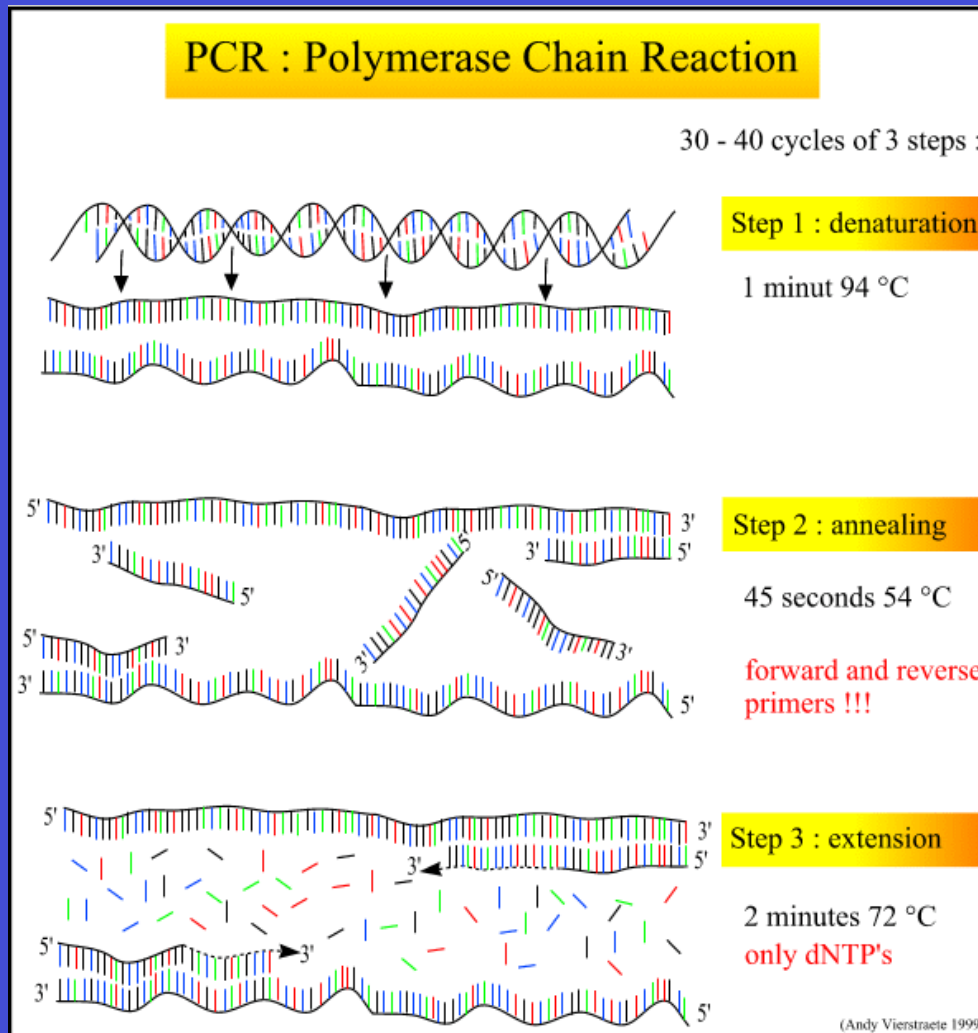
# 1977: Il sequenziamento del DNA

**Maxam e Gilbert: sequenziamento chimico**

**Sanger: sequenziamento per terminazione  
della catena nucleotidica**



# 1986: Reazione a catena della polimerasi (PCR) (Mullis)



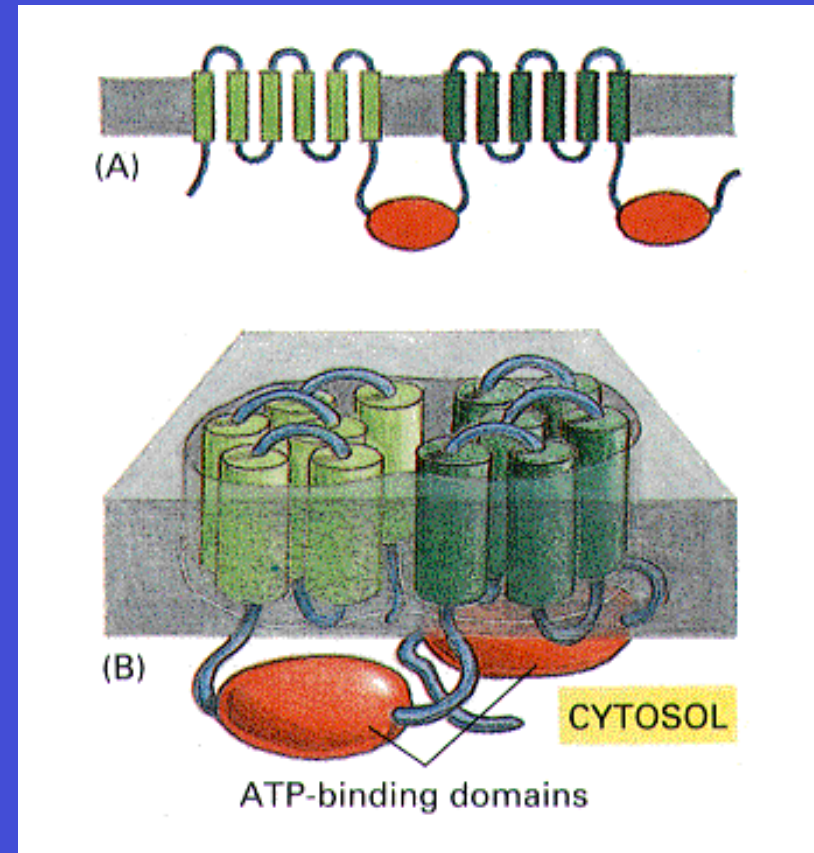
Polimerasi termostabile  
dal batterio termofilo  
*Thermus aquaticus*

# 1989: Identificazione e clonaggio del gene della fibrosi cistica (Tsui, Riordan, Collins)

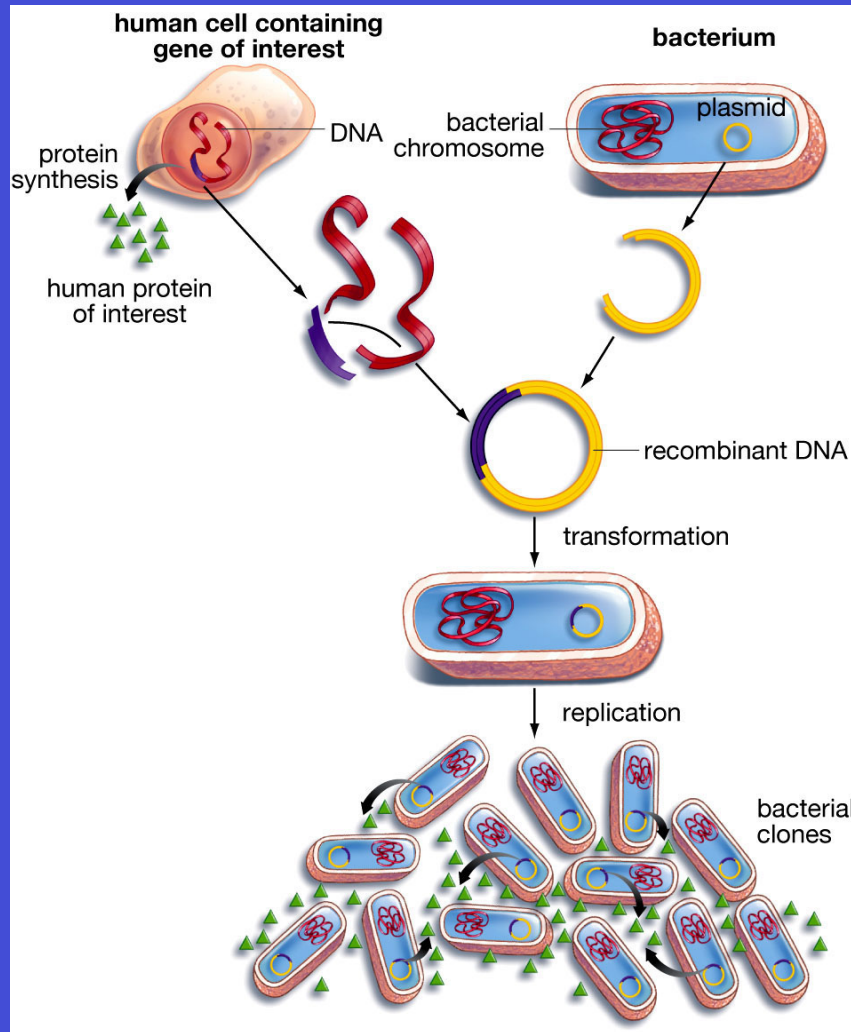
Malattia autosomica recessiva

Incidenza: 1/2500

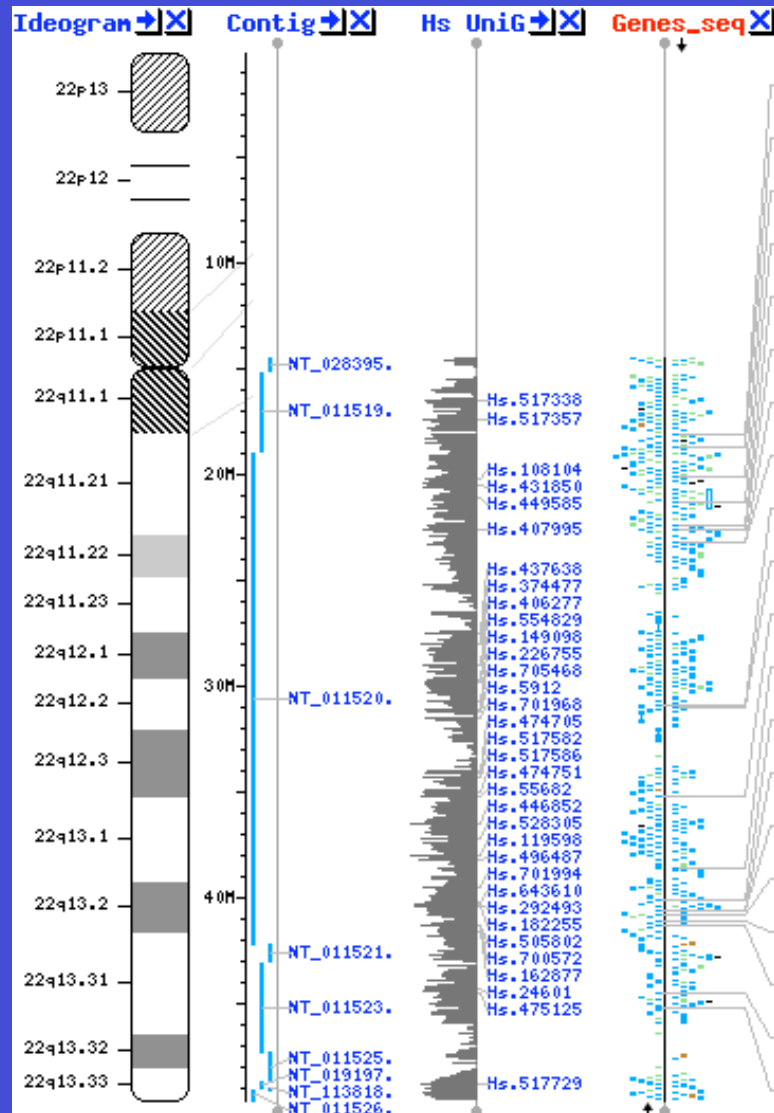
Frequenza di portatori: ~ 1/50



# Produzione di insulina umana in batteri



# 1990: Inizio del Progetto Genoma Umano (Watson et al.)



**1999:** completata la sequenza del cromosoma 22

**2001:** completata la prima stesura del genoma umano

**2004:** completato il sequenziamento (numero stimato di geni 20.000-25.000)

# Genomica: analisi dei genomi

Figure T24.1

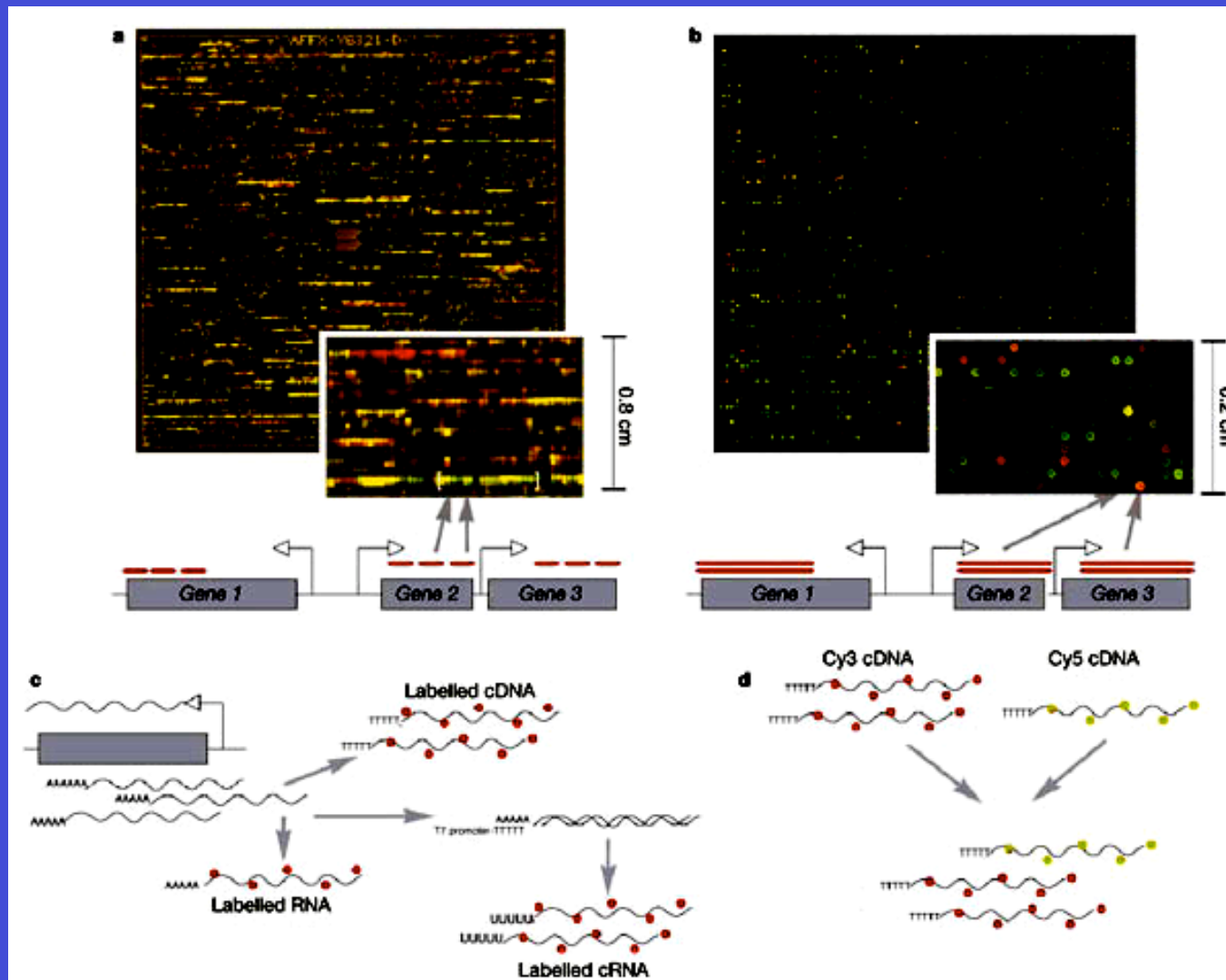
Copyright © The McGraw-Hill Companies, Permission required for reproduction or display.

Table 24.1 Milestones in Genomic Sequencing

Genome (Importance)	Size	Year
Phage $\phi$ X174 (first genome)	5,375	1977
<i>Hemophilus influenzae</i> (bacterium, first organism)	1,830,000	1995
<i>Mycoplasma genitalium</i> (bacterium, smallest genome)	580,000	1995
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (yeast, first eukaryote)	12,068,000	1996
<i>Methanococcus jannaschii</i> (first archaeon)	1,660,000	1996
<i>Escherichia coli</i> (best studied bacterium)	4,639,221	1997
<i>Borrelia burgdorferi</i> (the spirochete that causes Lyme disease)	910,725	1997
<i>Caenorhabditis elegans</i> (first animal, roundworm)	97,000,000	1998
<i>Arabidopsis thaliana</i> (first plant, mustard family)	120,000,000	2000
Human chromosome 22 (first human chromosome)	53,000,000	1999
<i>Drosophila melanogaster</i> (a favorite genetic model)	180,000,000	2000
Human (working draft of the “holy grail” of genomics)	3,200,000,000	2001

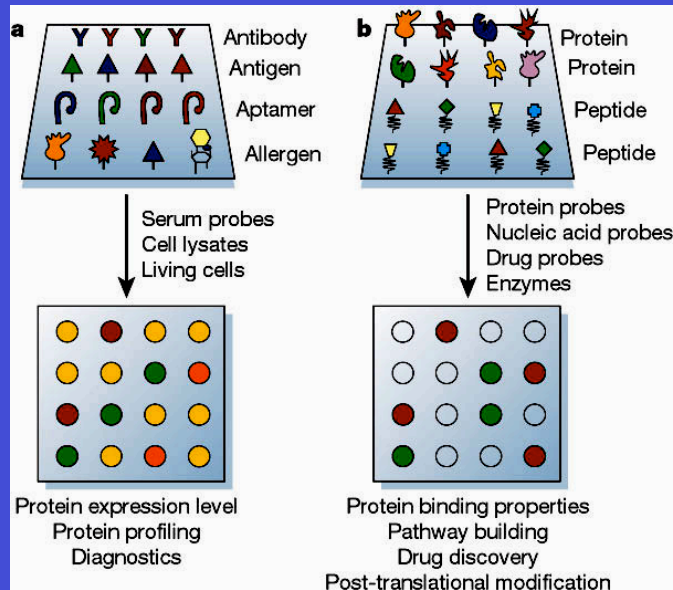


# Trascrittomica: analisi dell'espressione dei genomi

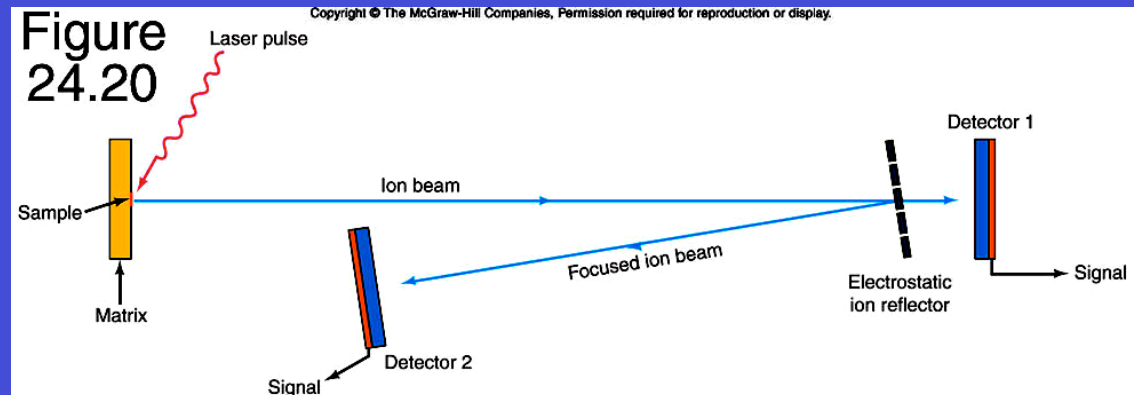


# Proteomica: analisi delle proteine codificate da un genoma

## MicroArray proteici



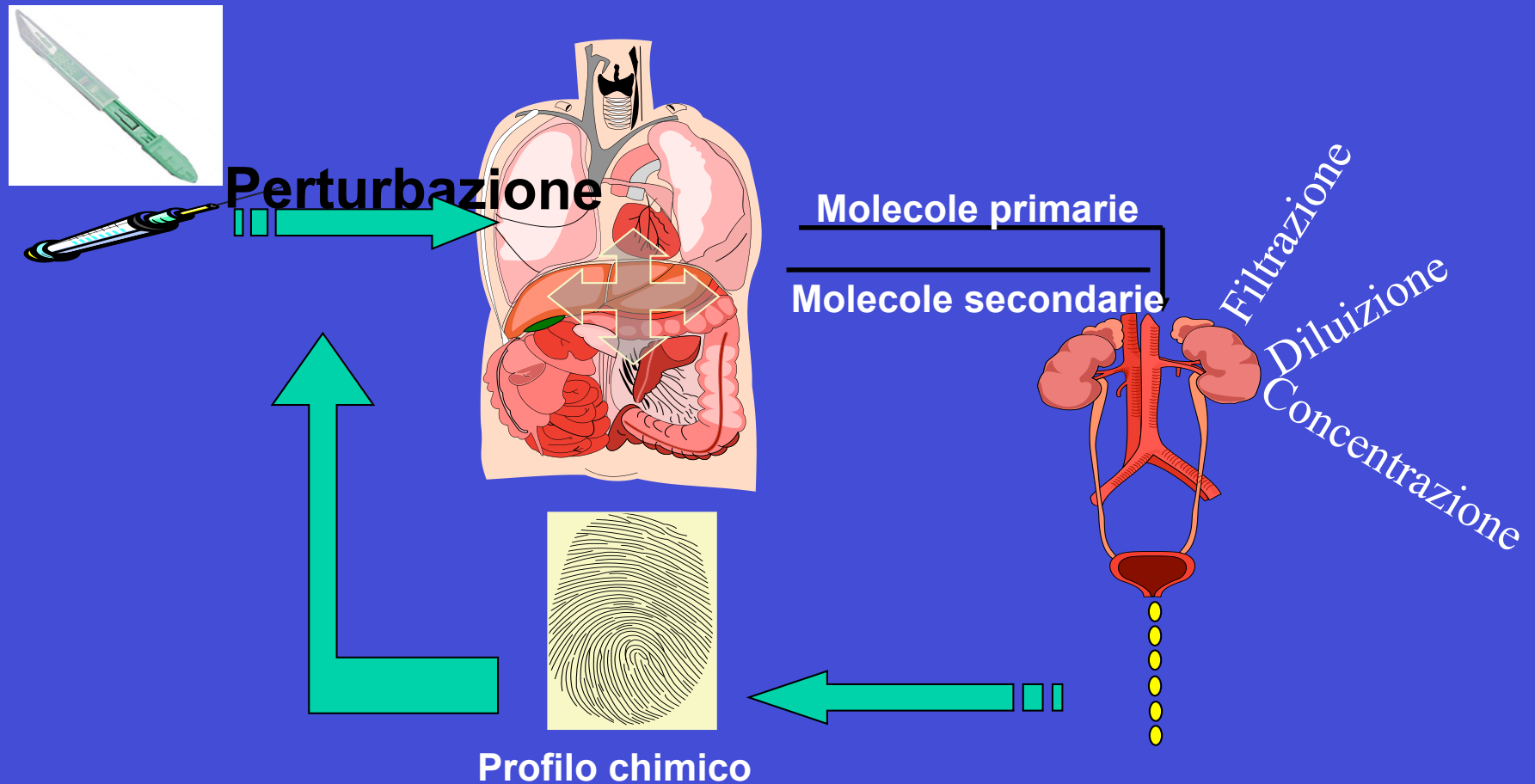
## Spettrometria di massa





# Metabolomica

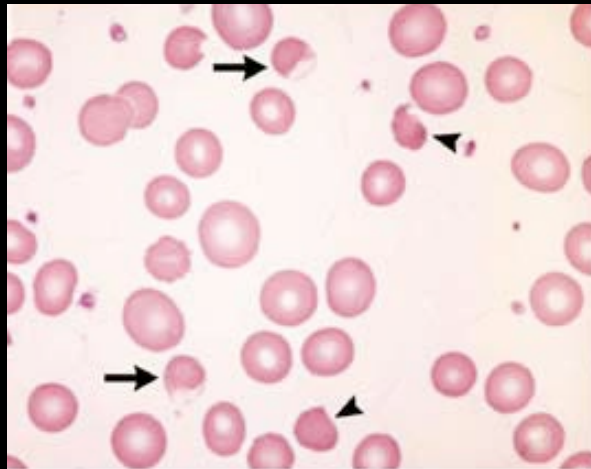
Analisi dei profili metabolici per caratterizzare le risposte ad alterazioni genetiche o ambientali



# Farmacogenetica

Variazione individuale del metabolismo e della distribuzione dei farmaci  
Geni singoli

## Carenza di G6PD (1956)



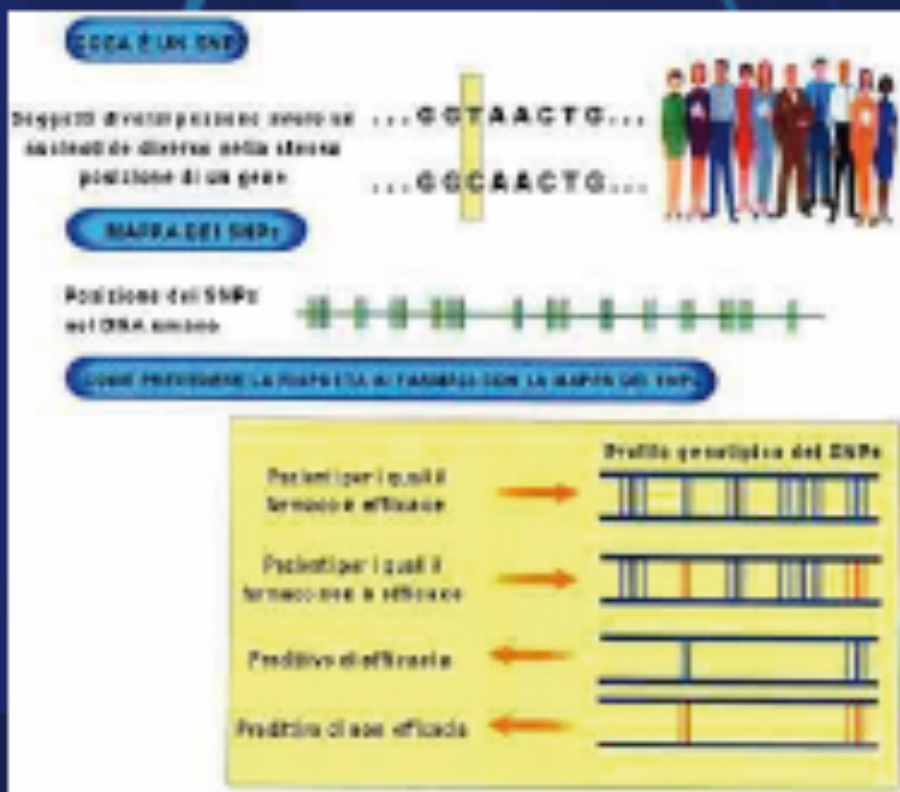
- I soldati afro-americani che assumevano il farmaco antimalaria *primaquine* sviluppavano un'anemia emolitica e una riduzione dell'attività dell'enzima G6PD.
- 200-400 milioni di persone hanno varianti di G6PD che aumentano il rischio di emolisi
- Sono state descritte più di 70 mutazioni puntiformi.
- Una variante comune ha un'attività quasi normale, ma è associata a una grave emolisi quando viene esposta a farmaci ossidanti.

# Farmacogenetica

“ La Farmacogenetica studia l’associazione tra varianti genetiche di determinati geni e la risposta a trattamenti farmacologici”



Si basa sull’identificazione di polimorfismi **SNP** (Single Nucleotide Polymorphism) a carico di geni coinvolti nella risposta farmacologica



Confrontando la frequenza di tali polimorfismi presenti in pazienti affetti con quella di soggetti sani è possibile identificare SNP associati ad una specifica risposta ad un determinato farmaco

...G**G**TAACTG...

...G**C**A AACTG...



# Polimorfismi genetici a carico di geni che codificano bersagli molecolari dei farmaci

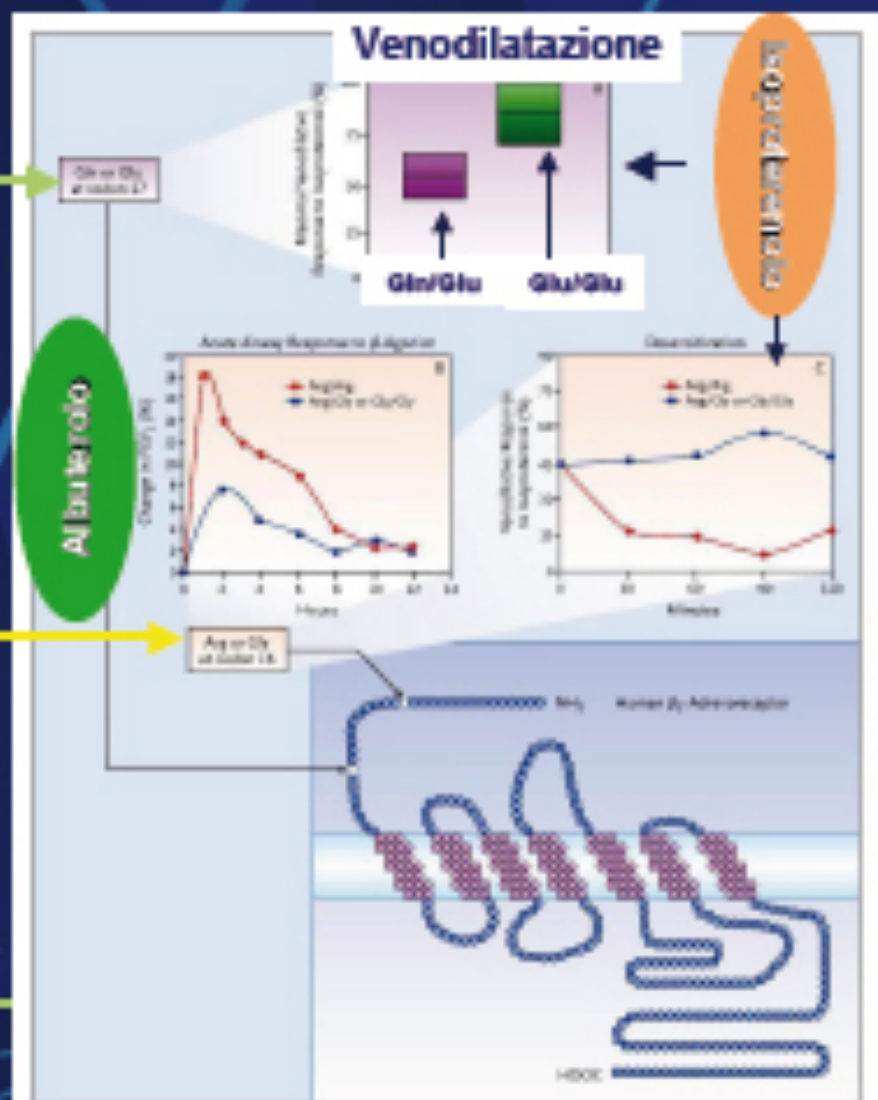
Es. l'adrenorecettore  $\beta 2$  codificato dal gene ADRB2.

Polimorfismi più comuni di questo gene

Gln  $\rightarrow$  Glu  
codone 27

Arg  $\rightarrow$  Gly  
codone 16

I risultati di questo studio suggeriscono che la mutazione SNP a carico gene ADRB2 può essere usata per identificare preventivamente pazienti a rischio di effetti collaterali se trattati con una terapia di farmaci  $\beta$ -agonisti, somministrati mediante inalazione





# Polimorfismi genetici a carico di geni che codificano per proteine trasportatrici di farmaci

Es. il gene *MDR1*, che codifica la glicoproteina-P.

Polimorfismi più comuni di questo gene

C → T

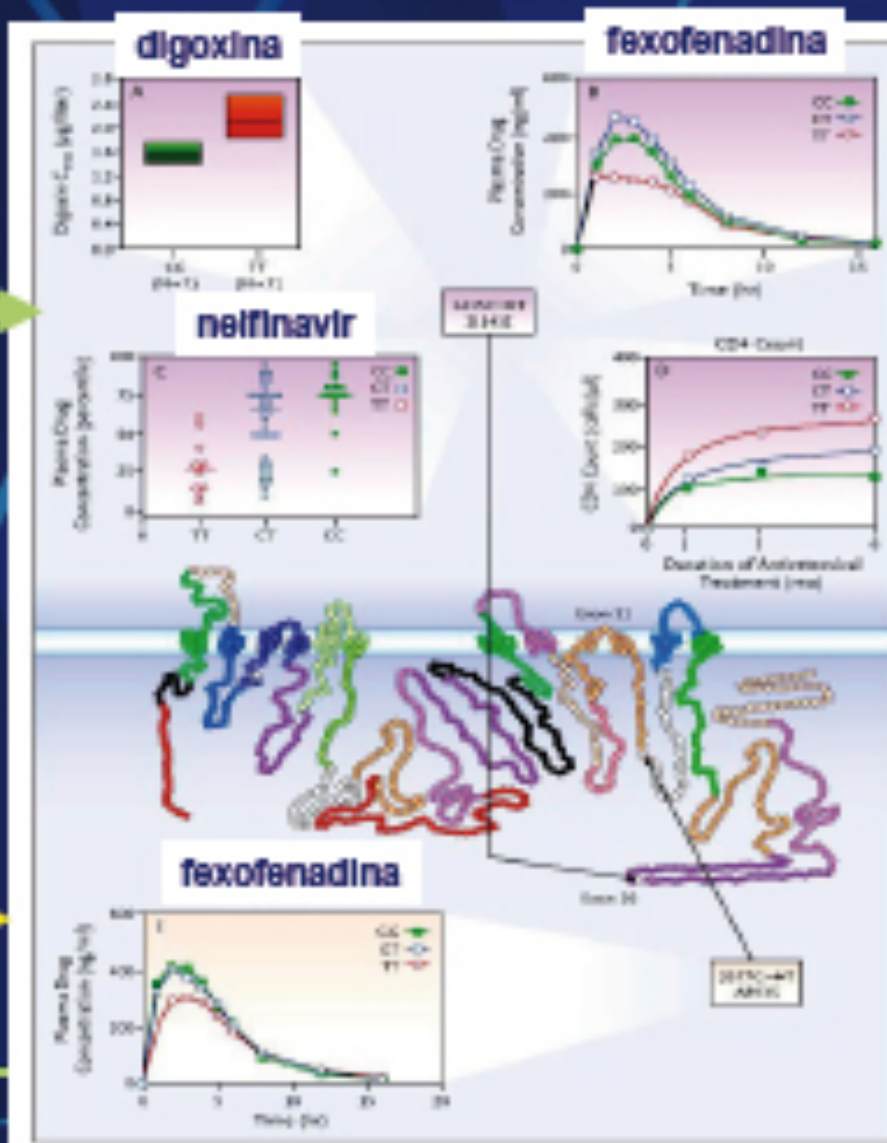
nt 3435 esone 26

L'SNP nell'esone 26 è associato ad una alta concentrazione del farmaco digoxina

G → T

nt 2677 esone 21

L'SNP nell'esone 21 è associato ad una bassa concentrazione del farmaco fexofenadina

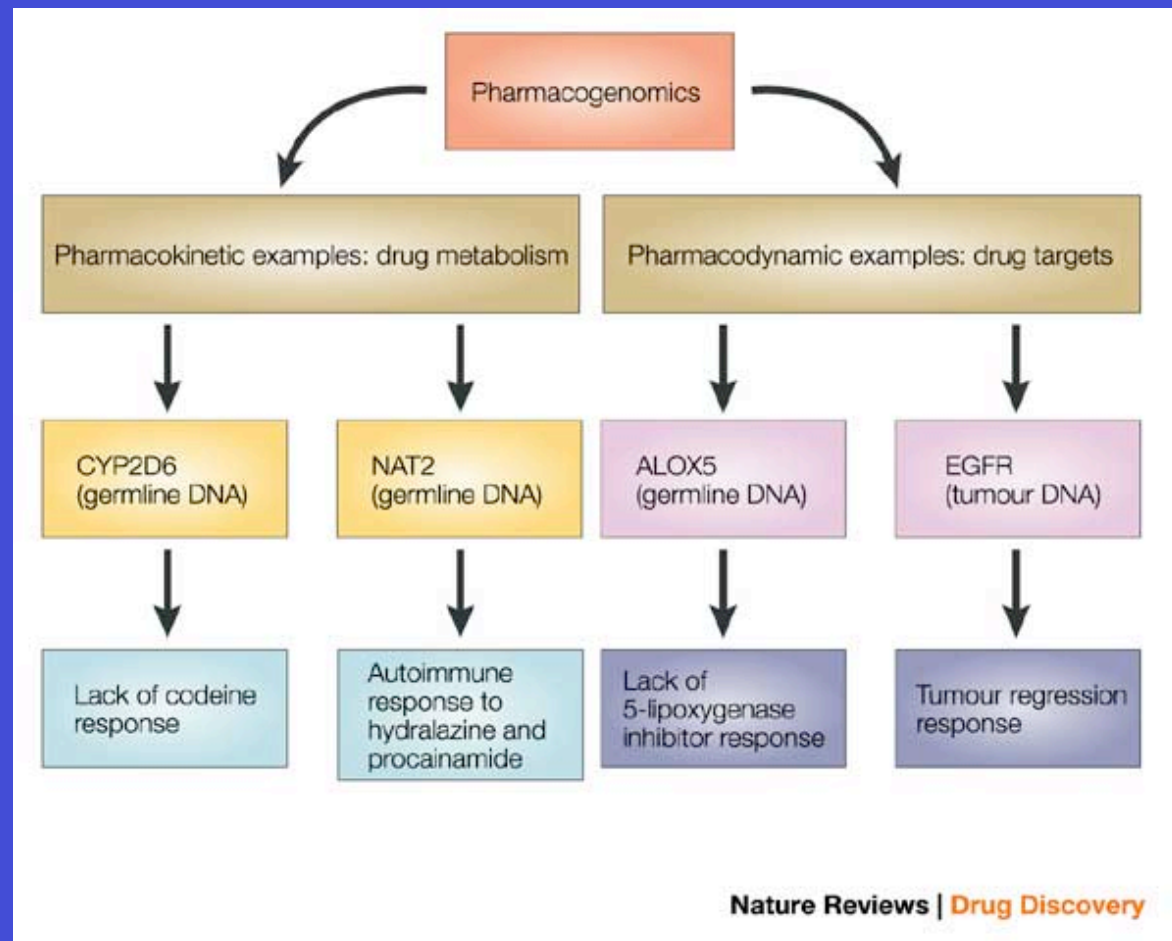


# Farmacogenomica

Farmacogenetica + variazione interindividuale dei bersagli dei farmaci e dei meccanismi alla base delle malattie

Geni multipli

*“Lo studio molecolare dei fattori genetici che determinano l’efficacia e la tossicità dei farmaci”*



## La Farmacogenetica e la Farmacogenomica applicata alla cura del cancro

La farmacogenetica e la farmacogenomica offrono la potenzialità di mettere a punto terapie anti-tumorali individualizzate



La tiopurina metiltransferasi e la 6-mercaptopurina nel trattamento della leucemia



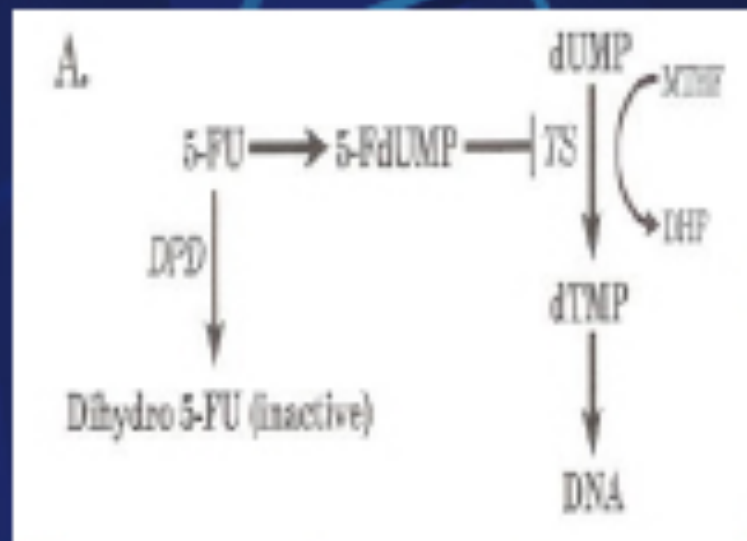
La timidilato sintetasi e il 5-fluorouracile





## La timidilato sintetasi e il 5-fluorouracile

Il 5-FU inibisce la timidilato sintetasi (TS)



La genotipizzazione delle varianti genetiche TSER del gene TS può essere utile per individuare pazienti con risposta variabile al trattamento con 5-FU o suoi analoghi

Resistenze cliniche al 5-FU che ha come target la TS sono associate alla sovraespressione delle TS in cellule tumorali i cui livelli sono regolati dalle sequenze polimorfiche ripetute in tandem nella regione *enhancer* del gene TS (TSER)



## QUESTIONI ETICHE

- ➔ E' stato a lungo dibattuto e si continua a dibattere sui problemi di *privacy* relativo all'uso di test genetici sia per predire il rischio di una malattia che per il trattamento personalizzato di un determinato farmaco.
- ➔ Trattandosi di discipline ancora recenti ed in evoluzione l'attuale legislazione, soprattutto nel nostro Paese, è ancora carente nel tutelare i diritti dei singoli individui in questo campo

