

Il Progetto Genoma Umano

Human Genome Project (HGP)

2001 - 2003



Che cosa è cambiato?
Cosa si prospetta per il prossimo futuro?

Milestones:

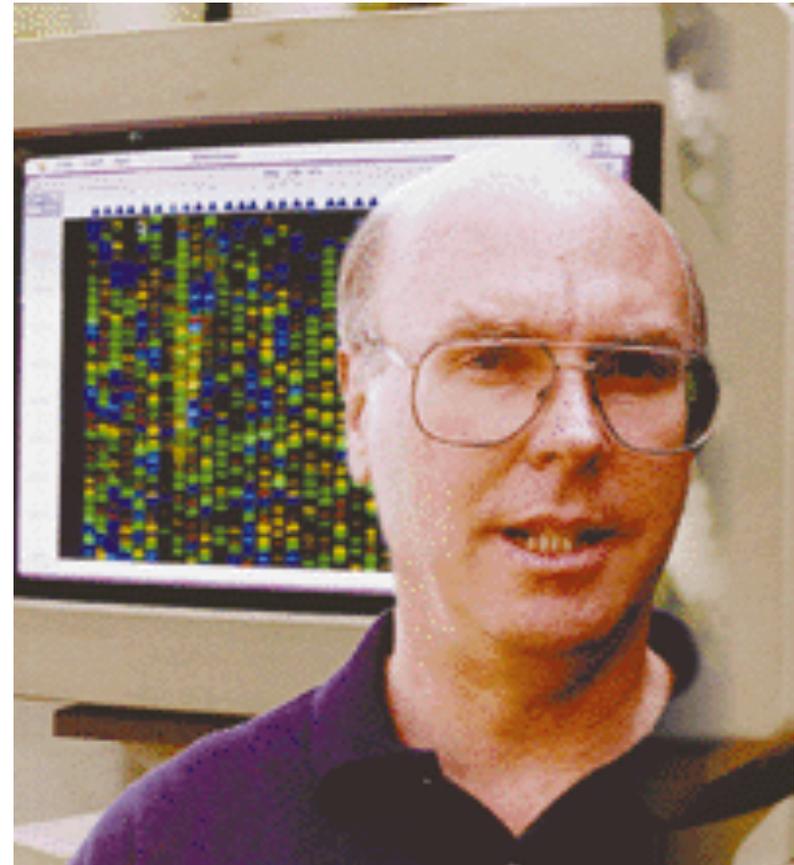
- 1990: Inizio del Progetto (U.S. Department of Energy & National Institutes of Health)
- Giugno 2000: Completamento della prima bozza dell'intero genoma umano
 - **Febbraio 2001: Pubblicazione su Science e Nature**
- Aprile 2003: Completamento della sequenza. Il progetto HGP termina il suo lavoro con due anni di anticipo sul previsto





Francis Collins

Direttore del National Human Genome
Research Institute



Craig Venter

Presidente e fondatore della Celera Genomics

Inizialmente si stimava che la sequenza sarebbe stata completa nel 2005, ma è stata terminata in anticipo nel 2003.

La combinazione dell'approccio del consorzio pubblico e di quello privato di C.Venter hanno portato alla pubblicazione di due sequenze (più o meno indipendenti) nel 2001

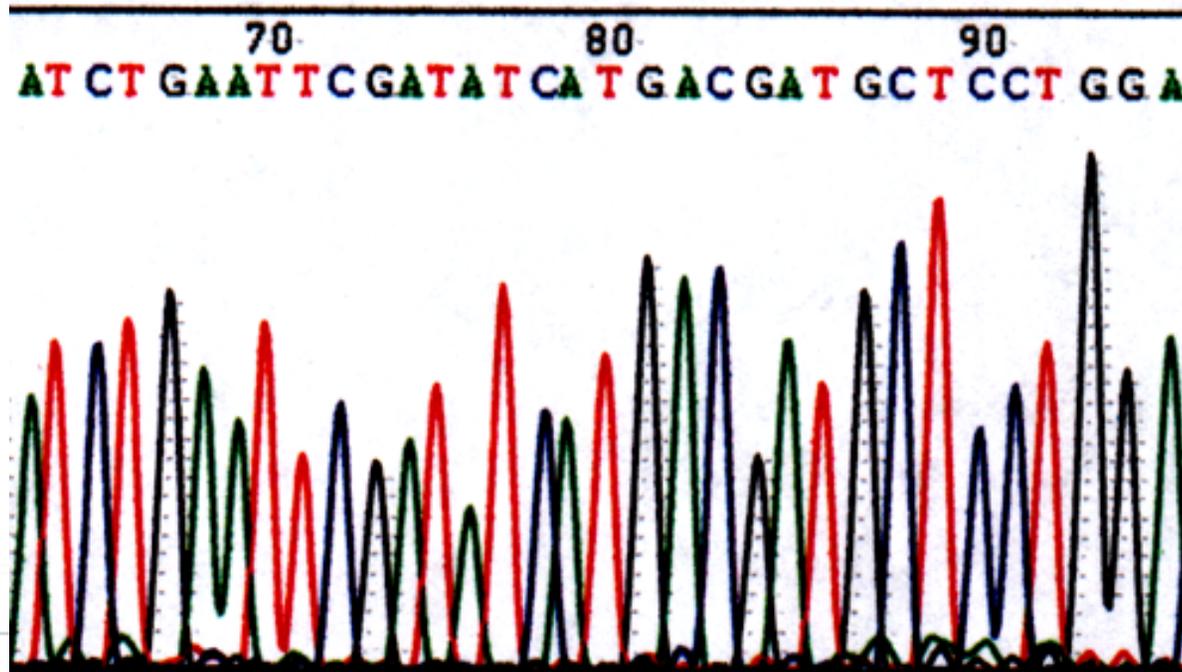
Alla fine, tutti e 2 gli approcci sono stati utili: quello di Venter per la sua efficienza, automazione e rapidità, quello del consorzio pubblico per ordinare esattamente le sequenze ripetute

Perché sequenziare il genoma umano?

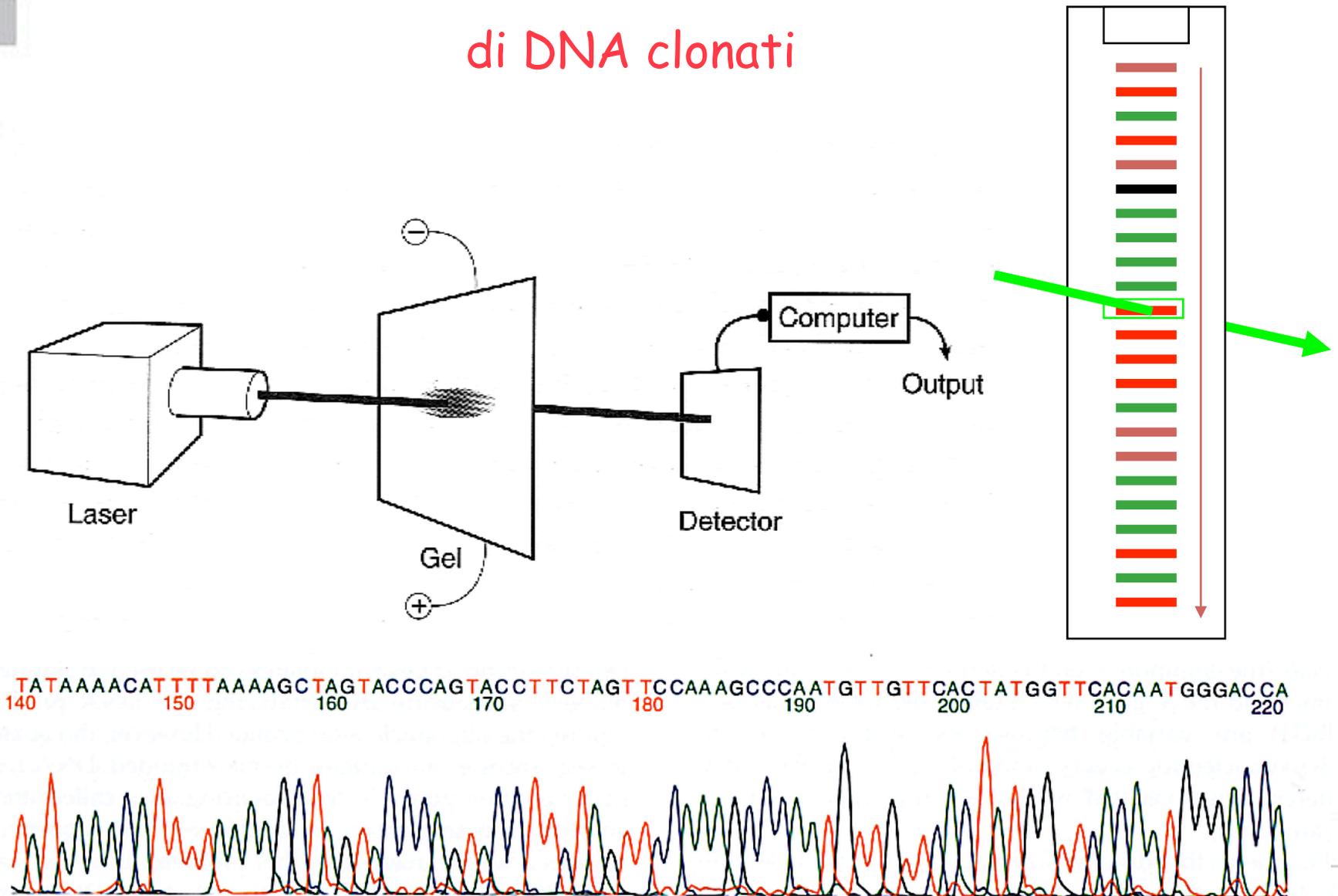
- Sequenza completa di tutti i geni (Il primo obiettivo del HGP è stato quello di sequenziare i geni del genoma)
- Identificazione dei geni responsabili delle malattie mendeliane
- Possibilità di determinare la struttura esoni-introni
 - Mappare i geni e le altre sequenze
- Rivelare le regioni di controllo non codificanti
 - Identificare polimorfismi
 - Scoprire l'inatteso

Il progetto originale era fortemente condizionato dalla difficoltà di sequenziare il DNA, e quindi dalla necessità di ridurre al minimo il quantitativo di sequenze da effettuare.

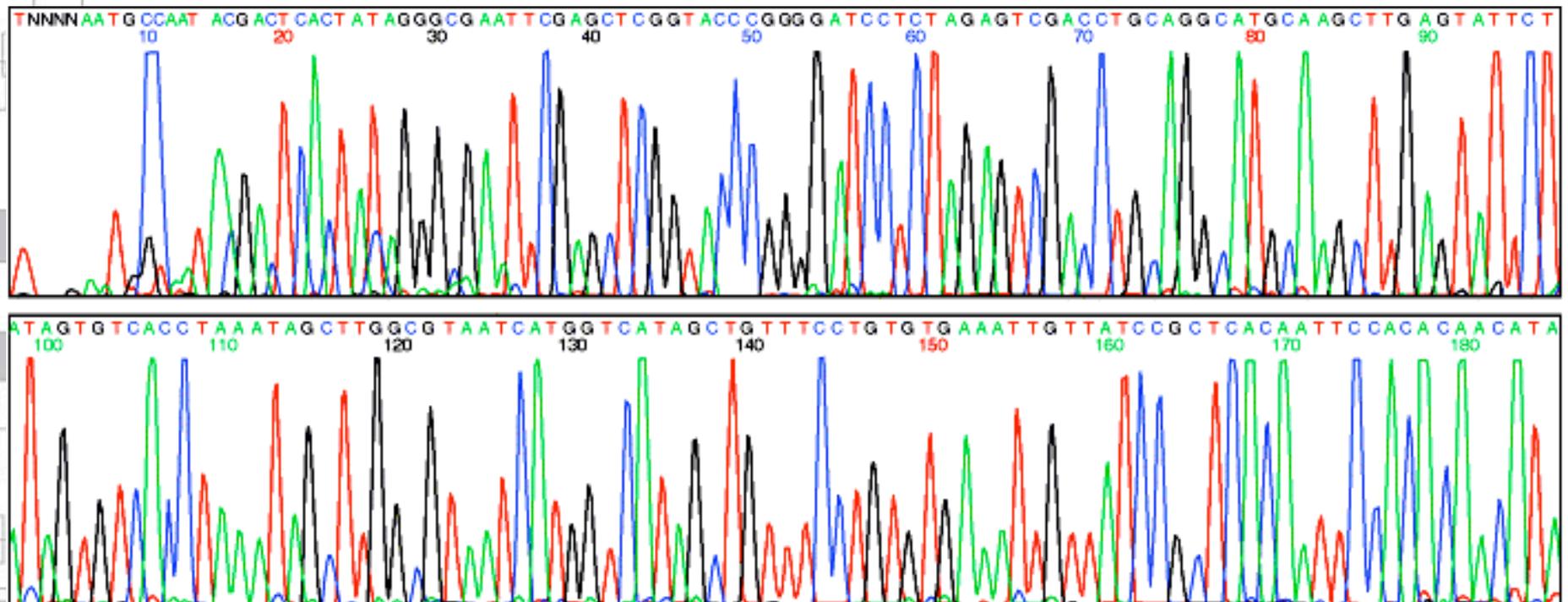
Lo sviluppo di **sequenziatori automatici** capaci di produrre 400.000 basi/giorno ha largamente superato questo ostacolo.



Sequenziamento automatico di frammenti di DNA clonati



Printout da un sequenziatore automatico



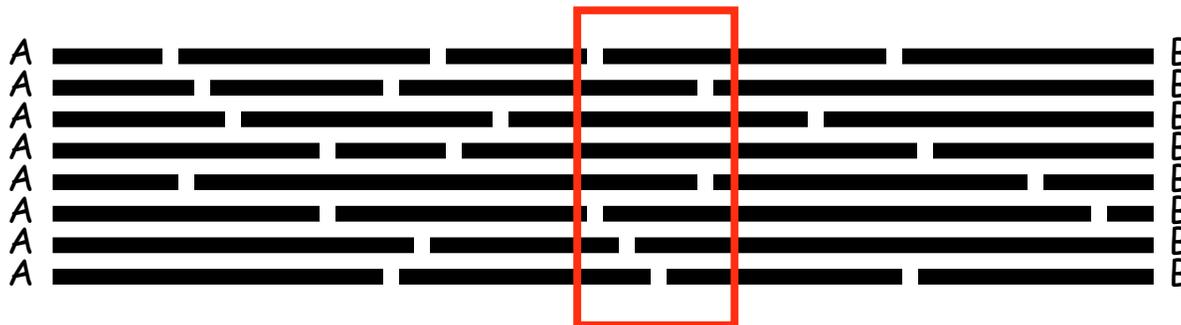
I colori sono generati dalla macchina (che riconosce i fluorocromi) e indicano le quattro basi: A verde, G nero, C blu, T rosso. N indica una base non identificabile.

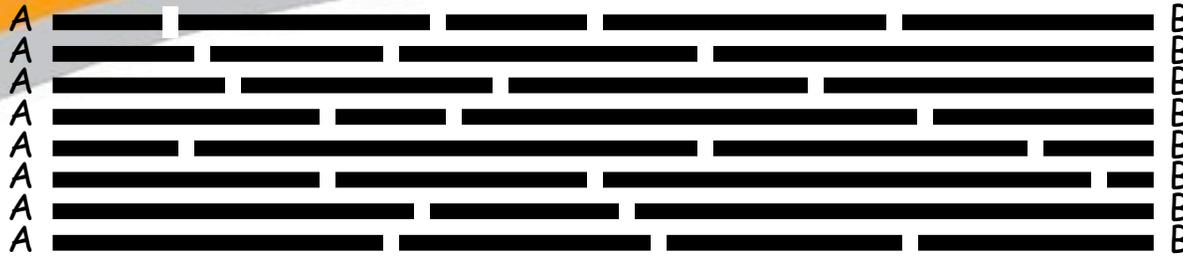
Costi di sequenziamento

DATA	Costo per base (in \$ USA)	Costo del genoma umano completo (3 x 10 ⁹ basi in \$ USA)
1985	10	3 x 10 ¹⁰
1991	1	3 x 10 ⁹
1993	0.1 – 0.15	3 x 10 ⁸ – 4.5 x 10 ⁸
2006	< 0.001	1x 10 ⁶ - 2 x 10 ⁶

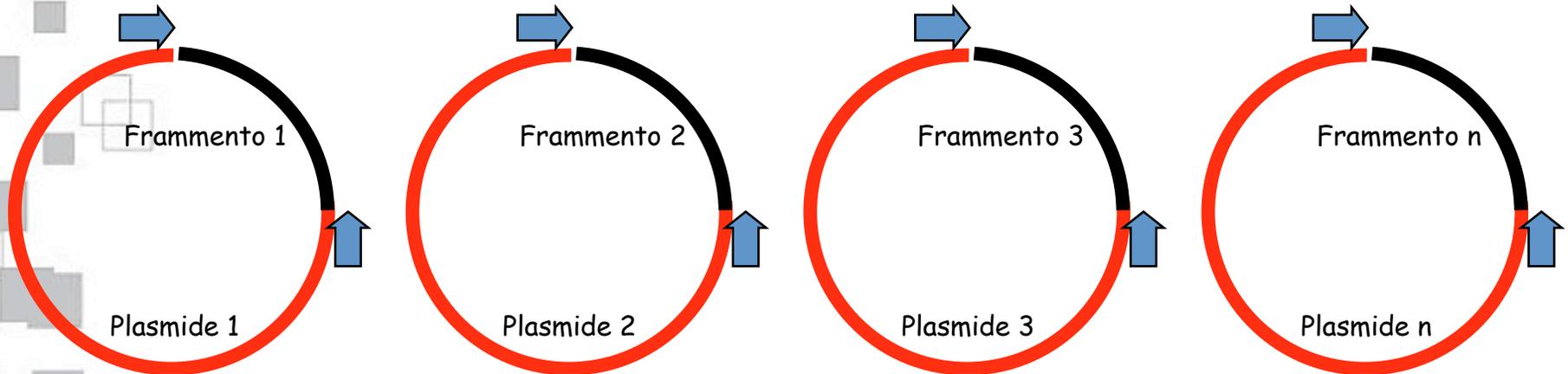
Shotgun Sequencing (CELERA)

Il DNA umano totale è stato frammentato meccanicamente (spinto attraverso l'ago di una siringa), in frammenti di circa 500 bp. Ogni frammento è stato clonato in un vettore e sequenziato da sequenziatori automatici. Per ogni regione del DNA si formano molti frammenti sovrapposti, per cui ogni sequenza viene sequenziata numerose volte.





Ciascun frammento viene clonato in un vettore plasmidico e sequenziato automaticamente



Si ottengono milioni di sequenze parzialmente sovrapposte

Le sequenze del database vengono confrontate da un computer

A TACCTGTGTGGAAGGAAGCAACCAACCACTCTATTTTGTGCATCAGATGCTAAAGCATATGATACAGAGGTACAT
AATGTTTGGGCCACACATGCCTGTGTACCCACAGACCCCAACCCACAAGAAGTAGTATTGGTAAATGTGACAGA
AAATTTAACATGTGGAAAAATGACATGGTAGAACAGATG

Frammenti che contengono sequenze sovrapposte
vengono riuniti in un unico frammento

B ACTGCTCTTTCAATATCAGCACAAGCATAAGAGGTAAGGTGCAGAAAGAATATGCATTTTTTTTATAAACTTGAT
ATAATACCAATAGATAATGATACTACCAGCTATAAGTTGACAAGTTGTAACACCTCAGTCATTACACAGGCCTG
TCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAATTCCCATACATTATTGTGCCCCGGCTGGTTTTGCGATTCTAAAATGT

C GAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAACTTTGTGGAATTGGTTTAACATAACAAATTG
GCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGCTTTAAGAATAGTTTTTGTGCTGTACTTT
CTATAGTGAATA

D ATGAGAGTGAAGGAGAAATATCAGCACTTGTGGAGATGGGGGTGGAGATGGGGCACCATGCTCCTTGGGATGTT
GATGATCTGTAGTGCTACAGAAAAATTGTGGGTCACAGTCTATTATGGGGTACCTGTGTGGAAGGAAGCAACCA
CCACTCTATTTTGTGCATCAGATGCTAAAGCATATGATACAGAGGTACATAATGTTTG

E CATCAAATATTACAGGGCTGCTATTAACAAGAGATGGTGGTAATAGCAACAATGAGTCCGAGATCTTCAGACCT
GGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATGAACCATTAGG
AGTAGCACCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCC
TTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGA

F GGAAAAATGACATGGTAGAACAGATGCATGAGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTGTA
AAATTAACCCCACTCTGTGTTAGTTTAAAGTCACTGATTTGAAGAATGATACTAATACCAATAGTAGTAGCGG
GAGAATGATAATGGAGAAAGGAGAGATAAAAACTGCTCTTTCAATATCAGCACAAGCATAAGAGGTAAGGTG

D+A

ATGAGAGTGAAGGAGAAATATCAGCACTTGTGGAGATGGGGGTGGAGATGGGGCACCATGCTCCTTGGGATGTT
GATGATCTGTAGTGCTACAGAAAAATTGTGGGTCACAGTCTATTATGGGGTACCTGTGTGGAAGGAAGCAACCA
CCTCTATTTTTGTGCATCAGATGCTAAAGCATATGATACAGAGGTACATAATGTTTGGGCCACACATGCCTGT
GTACCCACAGACCCCAACCCACAAGAAGTAGTATTGGTAAATGTGACAGAAAATTTTAAACATGTGGAAAAATGA
CATGGTAGAACAGATG

B

ACTGCTCTTTCAATATCAGCACAAAGCATAAGAGGTAAGGTGCAGAAAGAATATGCATTTTTTTTATAAACTTGAT
ATAATACCAATAGATAATGATACTACCAGCTATAAGTTGACAAGTTGTAACACCTCAGTCATTACACAGGCCTG
TCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAATTCCCATACATTATTGTGCCCCGGCTGGTTTTTGCATTCTAAAATGT

C

GAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAAACATAACAAATTG
GCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAAGAATAGTTTTTGTGTACTTT
CTATAGTGAATA

E

CATCAAATATTACAGGGCTGCTATTAACAACAGATGGTGGTAATAGCAACAATGAGTCCGAGATCTTCAGACCT
GGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGG
AGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCC
TTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGA

F

GGAAAAATGACATGGTAGAACAGATGCATGAGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTGTA
AAATTAACCCACTCTGTGTTAGTTTAAAGTGCACTCATTGGAAGAATGATACTAATACCAATAGTAGTAGCGG
GAGAATGATAATGGAGAAAGGAGAGATAAAAACCTGCTCTTTCAATATCAGCACAAACATAAGAGGTAAGGTG



D+A

ATGAGAGTGAAGGAGAAATATCAGCACTTGTGGAGATGGGGGTGGAGATGGGGCACCATGCTCCTTGGGATGTT
 GATGATCTGTAGTGCTACAGAAAAATTGTGGGTCACAGTCTATTATGGGGTACCTGTGTGGAAGGAAGCAACCA
 CCACTCTATTTTGTGCATCAGATGCTAAACCATATGATACAGAGGTACATAATGTTTGGGCCACACATGCCTGT
 GTACCCACAGACCCCAACCCACAAGAAGTAGTATTGGTAAATGTGACAGAAAATTTAACATGTGGAAAAATGA
 CATGGTAGAACAGATG

C

GAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAAACATAACAAATTG
 GCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAAGAATAGTTTTTGGCTGTACTTT
 CTATAGTGAATA

E

CATCAAATATTACAGGGCTGCTATTAACAAGAGATGGTGGTAATAGCAACAATGAGTCCGAGATCTTCAGACCT
 GGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATGAACCATTAGG
 AGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCC
 TTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGA

F+B

GGAAAAATGACATGGTAGAACAGATGCATGAGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTGTA
 AAATTAACCCCACTCTGTGTTAGTTTAAAGTGCCTGATTTGAAGAATGATACTAATAACCAATAGTAGTAGCGG
 GAGAATGATAATGGAGAAAGGAGAGATAAAAACTGCTCTTTCAATATCAGCACAAGCATAAGAGGTAAGGTGC
 AGAAAGAATATGCATTTTTTTTATAAACTTGATATAAATACCAATAGATAATGATACTACCAGCTATAAGTTGACA
 AGTTGTAACACCTCAGTCATTACACAGGCCTGTCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAATTCACATACATTATTGTGC
 CCCGGCTGGTTTTTGCATTCTAAAATGT

D+A+F+B

ATGAGAGTGAAGGAGAAATATCAGCACTTGTGGAGATGGGGGTGGAGATGGGGCACCATGCTCCTTGGGATGTT
GATGATCTGTAGTGCTACAGAAAAATTGTGGGTACAGTCTATTATGGGGTACCTGTGTGGAAGGAAGCAACCA
CCTCTATTTTGTGCATCAGATGCTAAAGCATATGATACAGAGGTACATAATGTTTGGGCCACACATGCCTGT
GTACCCACAGACCCCAACCCACAAGAAGTAGTATTGGTAAATGTGACAGAAAATTTTAACATGTGGAAAAATGA
CATGGTAGAACAGATGCATGAGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAGCCTAAAGCCATGTGTAAAATTAACCC
CACTCTGTGTAGTTTAAAGTGCCTGATTTGAAGAATGATACTAATAACCAATAGTAGTAGCGGGAGAATGATA
ATGGAGAAAGGAGAGATAAAAACTGCTCTTTCAATATCAGCACAAGCATAAGAGGTAAGGTGCAGAAAGAATA
TGCATTTTTTTATAAACTTGATATAATACCAATAGATAATGATACTACCAGCTATAAGTTGACAAGTTGTAACA
CCTCAGTCATTACACAGGCCTGTCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAATTCCATACATTATTGTGCCCGGCTGGT
TTTGCGATTCTAAAATGT

C

GAAAAGAATGAACAAGAATTATTGGAATTAGATAAATGGGCAAGTTTGTGGAATTGGTTTAAACATAACAAATTG
GCTGTGGTATATAAAATTATTCATAATGATAGTAGGAGGCTTGGTAGGTTTAAAGAATAGTTTTTGTGCTGTACTTT
CTATAGTGAATA

E

CATCAAATATTACAGGGCTGCTATTAACAAGAGATGGTGGTAATAGCAACAATGAGTCCGAGATCTTCAGACCT
GGAGGAGGAGATATGAGGGACAATTGGAGAAGTGAATTATATAAATATAAAGTAGTAAAAATTGAACCATTAGG
AGTAGCACCCACCAAGGCAAAGAGAAGAGTGGTGCAGAGAGAAAAAGAGCAGTGGGAATAGGAGCTTTGTTCC
TTGGGTTCTTGGGAGCAGCAGGA

A poco a poco, l'intero genoma viene organizzato in 24 molecole
(corrispondenti ai 22 autosomi + X + Y)

La sequenza ricostruita viene analizzata per la presenza di uno o più del milione di SNP già mappati

D+A+F+B

```
ATGAGAGTGAAGGAGAAATATCAGCACTTGTGGAGATGGGGGTGGAGATGGGGCACCATGCTCCTTGGGATGTTGATGATCTGTAG
TGCTACAGAAAAATTGTGGGTCACAGTCTATTATGGGGTACCTGTGTGGAAGGAAGCAACCACCACTCTATTTTGTGCATCAGATG
CTAAAGCATATGATACAGAGGTACATAATGTTTGGGCCACACATGCCTGTGTACCCACAGACCCCAACCCACAAGAAGTAGTATTG
GTAAATGTGACAGAAAATTTAACATGTGGAAAAATGACATGGTAGAACAGATGCATGAGGATATAATCAGTTTATGGGATCAAAG
CCTAAAGCCATGTGTAAAATTAACCCCACTCTGTGTTAGTTTAAAGTGCACCTGATTTGAAGAATGATACTAATAACCAATAGTAGTA
GCGGGAGAATGATAATGGAGAAAGGAGAGATAAAAACTGCTCTTTCAATATCAGCACAAGCATAAGAGGTAAGGTGCAGAAAGAA
TATGCATTTTTTTTATAAACTTGATATAATACCAATAGATAATGATACTACCAGCTATAAGTTGACAAGTTGTAACACCTCAGTCAT
TACACAGGCCTGTCCAAAGGTATCCTTTGAGCCAATTCCCATACATTATTGTGCCCGGCTGGTTTTGCGATTCTAAAATGT
```

SNP-1-237 (Chr1)

In questo caso, se ne è trovato uno, che permette di mappare la sequenza sul cromosoma 1

E una volta che il genoma è sequenziato?

Annotazione

- Posizione dei geni
- Struttura esoni-introni
- Inizio e termine della trascrizione
- Posizione regioni di controllo
- Eventuali splicing alternativi
- Sequenza delle proteine codificate
- Profili di espressione
- Funzioni biologiche (**gene ontology**: funzione molecolare, processo biologico, compartimento cellulare)
- Identificazione di **geni ortologhi** (geni presenti in specie diverse, derivanti da un gene ancestrale comune) e **paraloghi** (formati in seguito a duplicazione nell'ambito di una stessa specie)
- Sequenze ripetute
- **Polimorfismi**

Mappa citogenetica

In Rosso, i Loci genetici

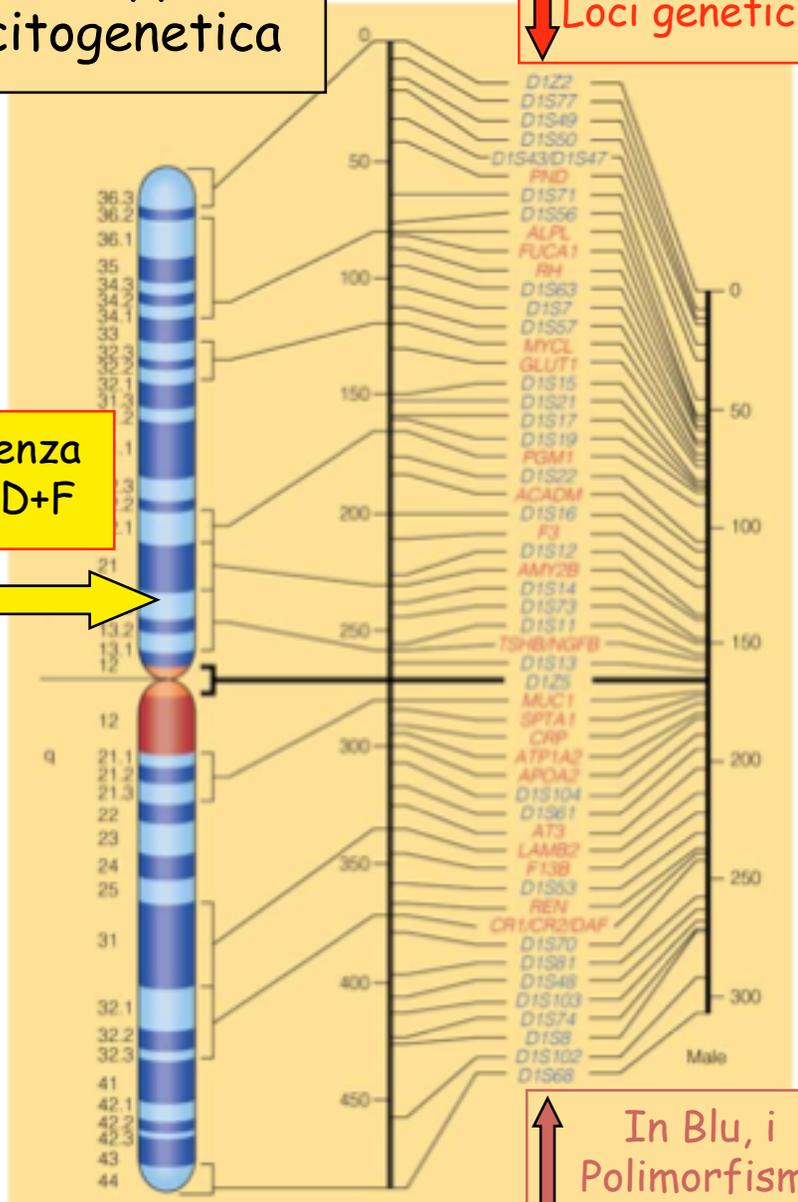
RFLP

VNTR

SNP

Sequenza A+B+D+F

237



Chr1

In Blu, i Polimorfismi del DNA

Non si può capire come è fatto il genoma umano e come funzionano i nostri geni se non li confrontiamo con quelli dei principali organismi modello:

Gli altri progetti genoma

E. coli

S. cerevisiae

Drosophila melanogaster

Caenorhabditis elegans

Fugu rubripes

Danio rerio (zebrafish)

Mus musculus

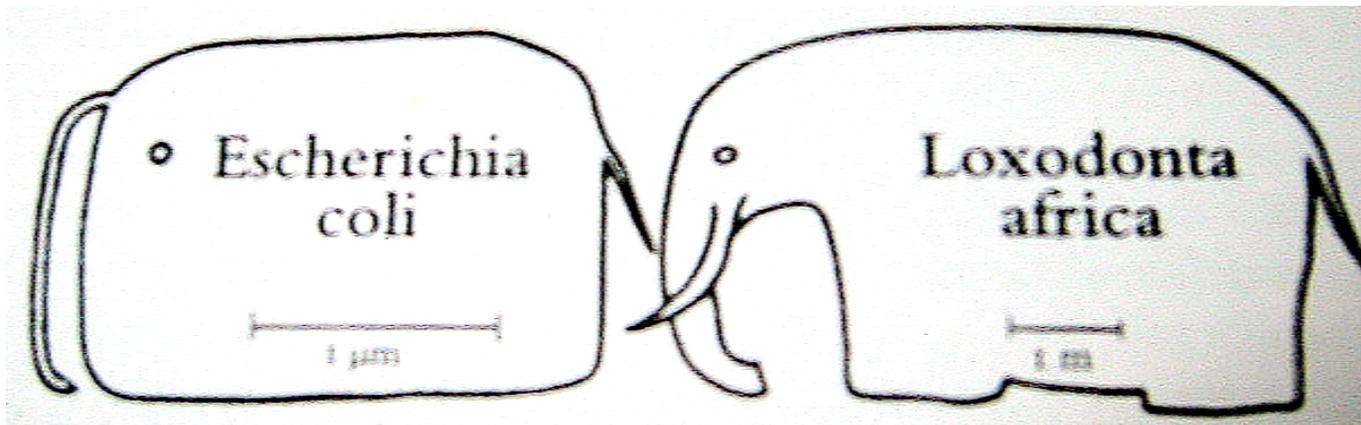
Rattus norvegicus

Primate non umani

Solo il confronto con gli organismi modello (**genomica comparativa**) ci permetterà di conoscere cosa ci accomuna alle altre specie e le ragioni delle nostre peculiarità.

Inoltre i modelli sperimentali geneticamente trattabili sono fondamentali per lo studio della funzione genica in condizioni normali e patologiche

Il progetto genoma umano e gli altri progetti genoma: importanza degli organismi modello

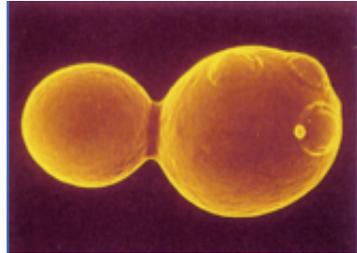


Ciò che è vero per *E.coli*, vale anche per l'elefante

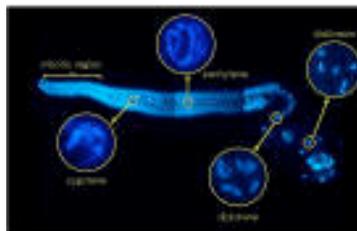
Jacques Monod

Genomica comparativa

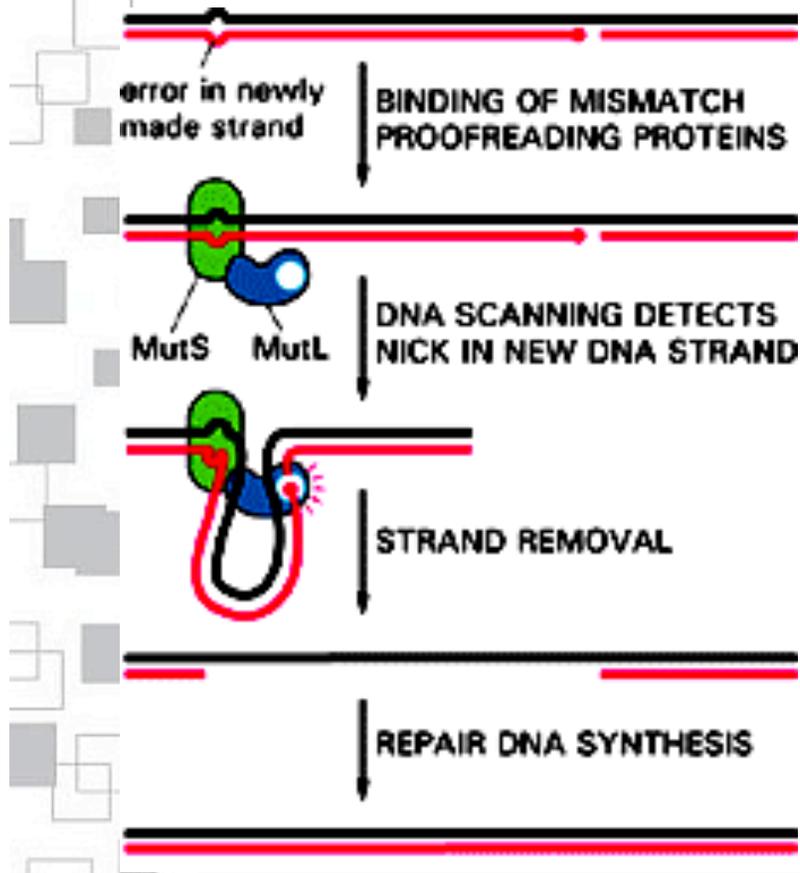
BLAST



Webb Miller

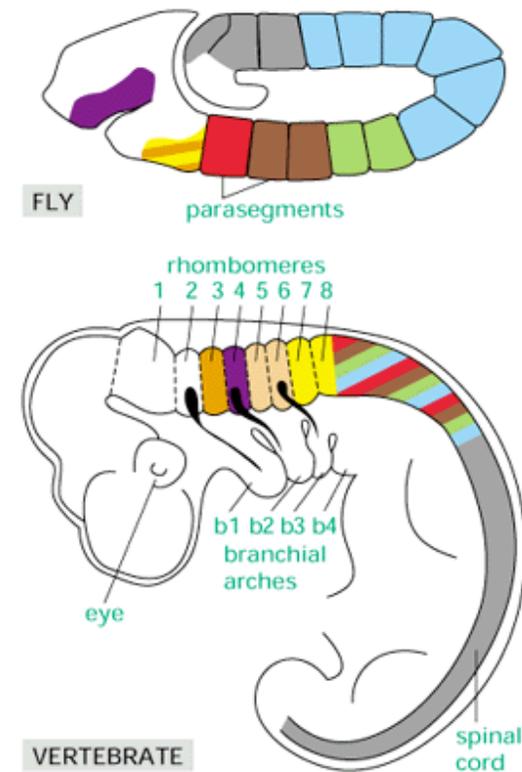
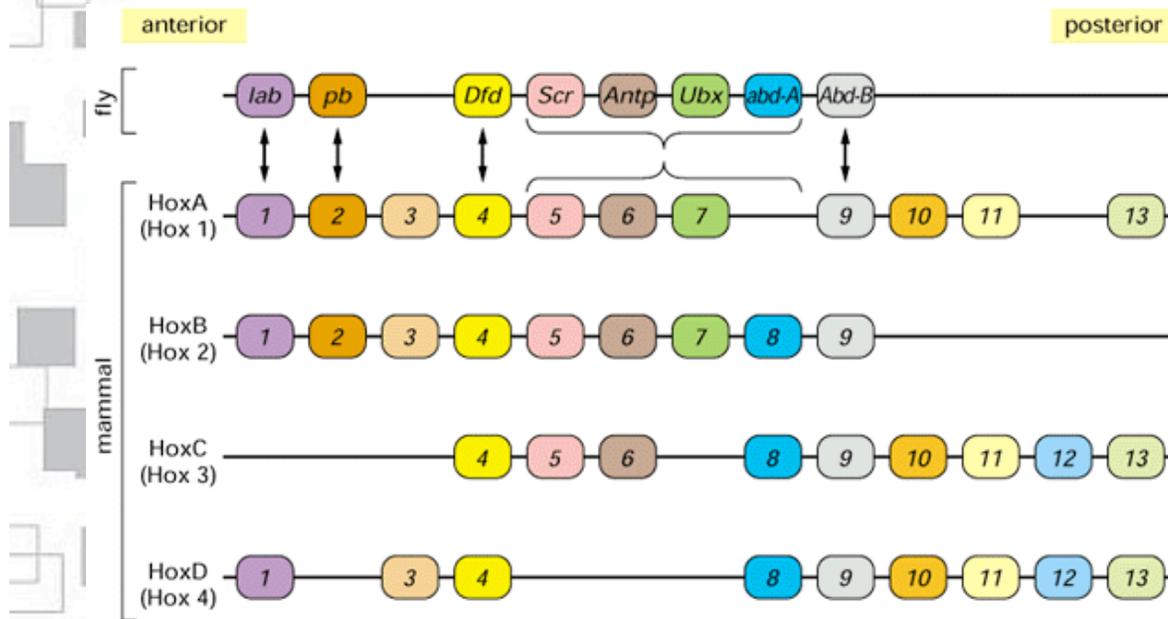


L'omologia di proteine prima sconosciute nell'uomo con proteine la cui funzione è già nota in altri organismi ci aiuta a identificarne la funzione



I meccanismi che controllano la riparazione del DNA, importantissimi per comprendere la biologia del cancro, sono conservati fino ai batteri.

I meccanismi che determinano l'impostazione del piano di sviluppo corporeo sono sorprendentemente simili negli insetti e nei mammiferi.

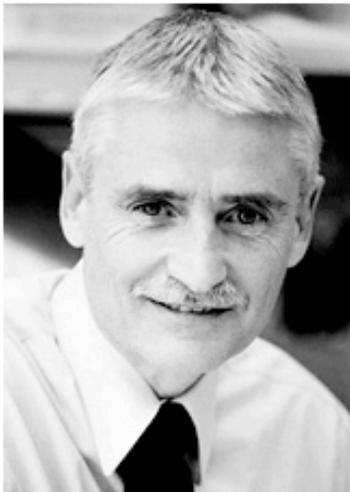


INFINITE FORME BELLISSIME, Sean Carroll – Codice Edizioni



The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2001

"for their discoveries of key regulators of the cell cycle"



Leland H. Hartwell

🕒 1/3 of the prize

USA

Fred Hutchinson Cancer
Research Center
Seattle, WA, USA



Tim Hunt

🕒 1/3 of the prize

United Kingdom

Imperial Cancer Research
Fund
London, United Kingdom



Sir Paul M. Nurse

🕒 1/3 of the prize

United Kingdom

Imperial Cancer Research
Fund
London, United Kingdom

- ... per aver definito le basi molecolari dei meccanismi di divisione cellulare partendo dallo studio dei geni di lievito coinvolti nella regolazione del ciclo cellulare

Dimensioni del genoma (Mb)

Procarioti:

<i>Mycoplasma genitalium</i>	0,58
<i>Escherichia coli</i>	4,64
<i>Bacillus megaterium</i>	30

Eucarioti:

<i>Saccaromices cerevisiae</i>	12
<i>Arabidopsis thaliana</i>	100
<i>Drosophila melanogaster</i>	140
<i>Caenorabditis elegans</i>	100
<i>Homo sapiens</i>	3000

Numero di geni di organismi modello e di *Homo sapiens*



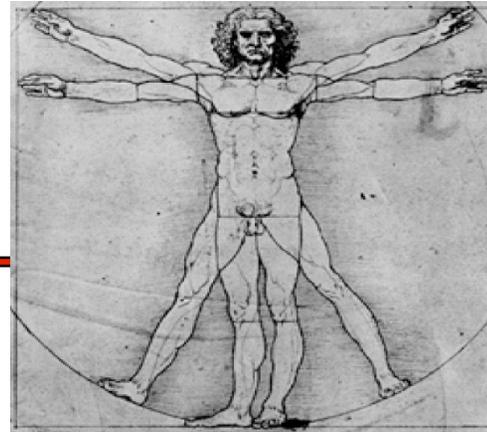
Splicing alternativi e proteomi

I genomi dell'uomo e dello scimpanzé sono ~99% uguali

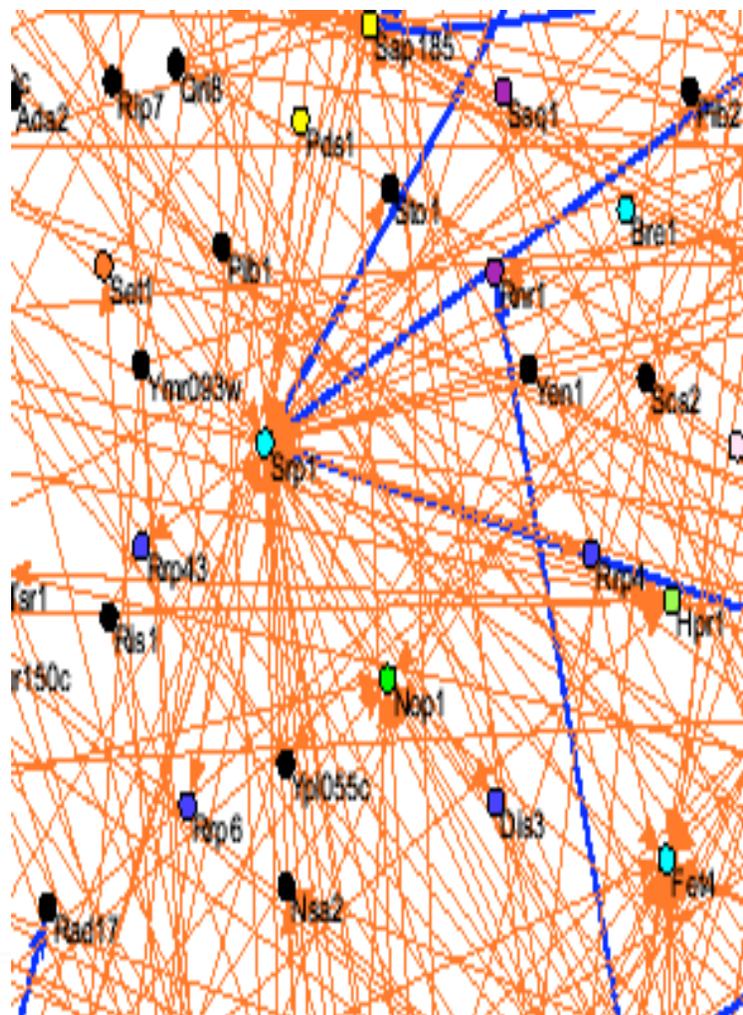


87% dei geni umani hanno un omologo nello scimpanzé
30% delle proteine omologhe sono identiche

Che cosa fa la differenza??



E' evidente che le funzioni e le interazioni fra gruppi di geni simili possono generare "programmi" molto diversi.



Quali sono i requisiti minimi??

Il genoma più piccolo conosciuto è quello di *Mycoplasma genitalium*, un batterio che vive con 477 geni.



Una serie di >200 geni è comune a tutti gli organismi viventi

Minimal Genome Project: Craig Venter nel 2007 costruisce un *Mycoplasma laboratorium* sintetico



<http://www.eugenes.org/all/hgsummary.html>

Numeri e percentuali di geni omologhi nei diversi organismi

ORGANISMI MODELLO PER LO STUDIO DI MALATTIE UMANE

Geni associati a malattie umane e omologhi in *Drosophila*

<http://superfly.ucsd.edu/homophila/>

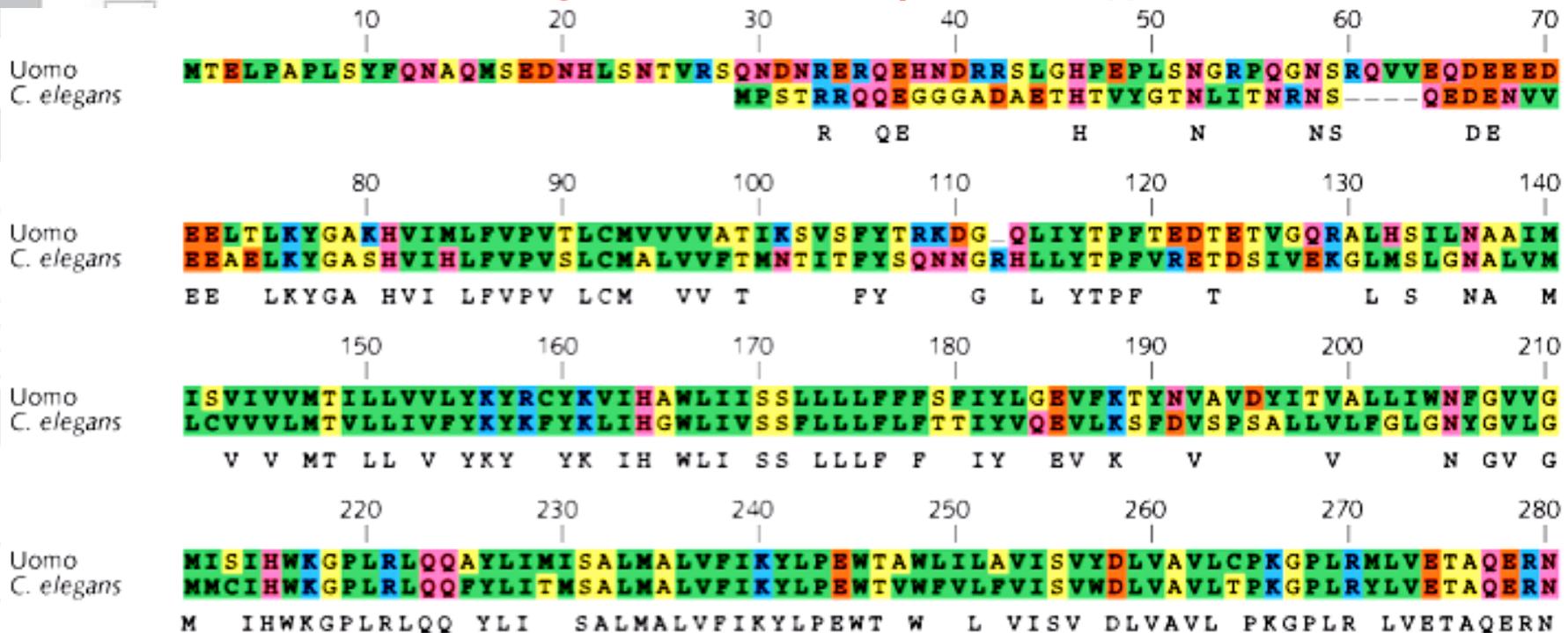
Parkinson

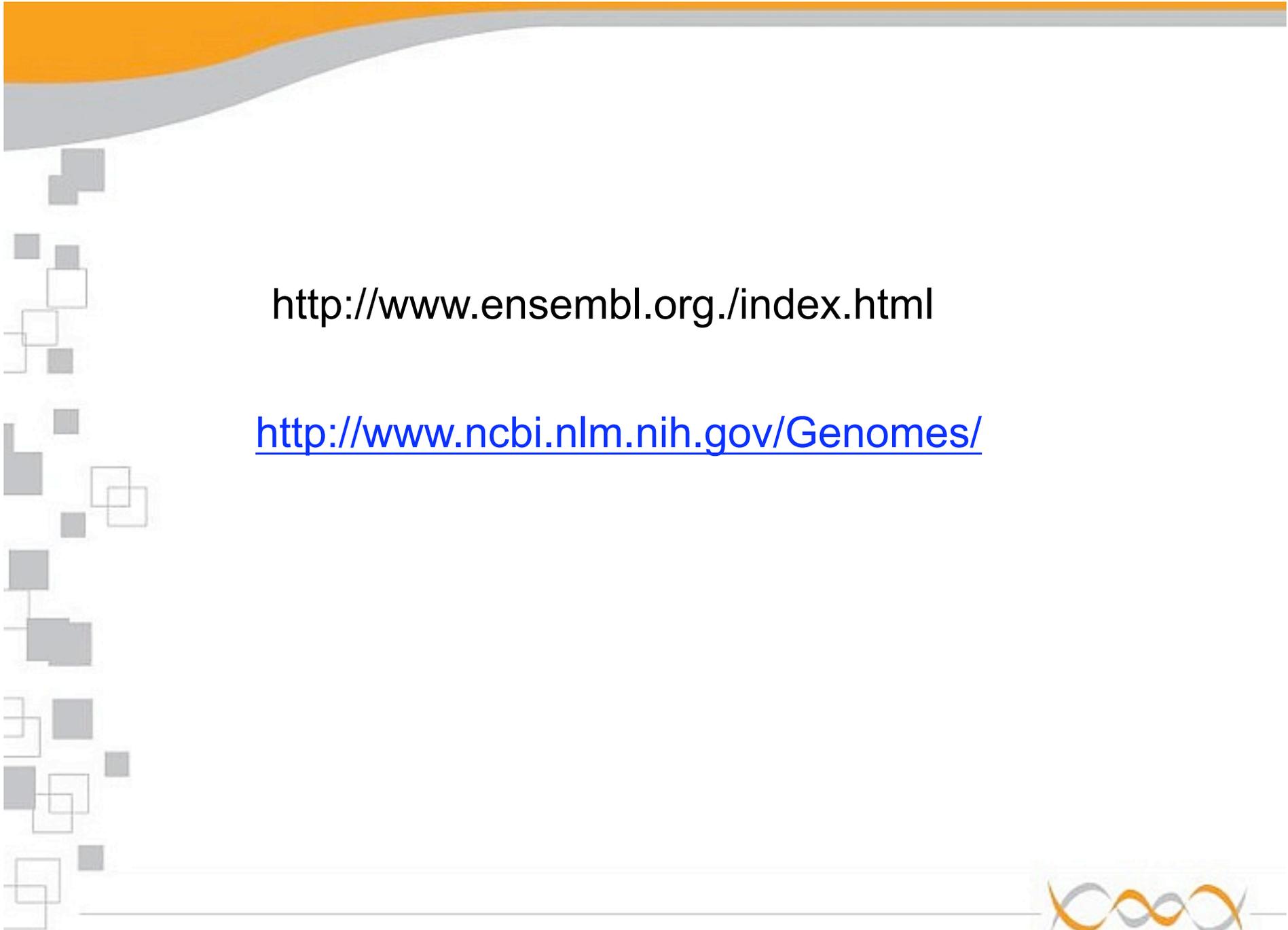
Ataxia spinocerebellare

C.elegans come modello di malattie umane

Presenilina 1 umana e l'omologo SEL12 di *C.elegans*

Difetti neurologici e nella ovodeposizione (!)





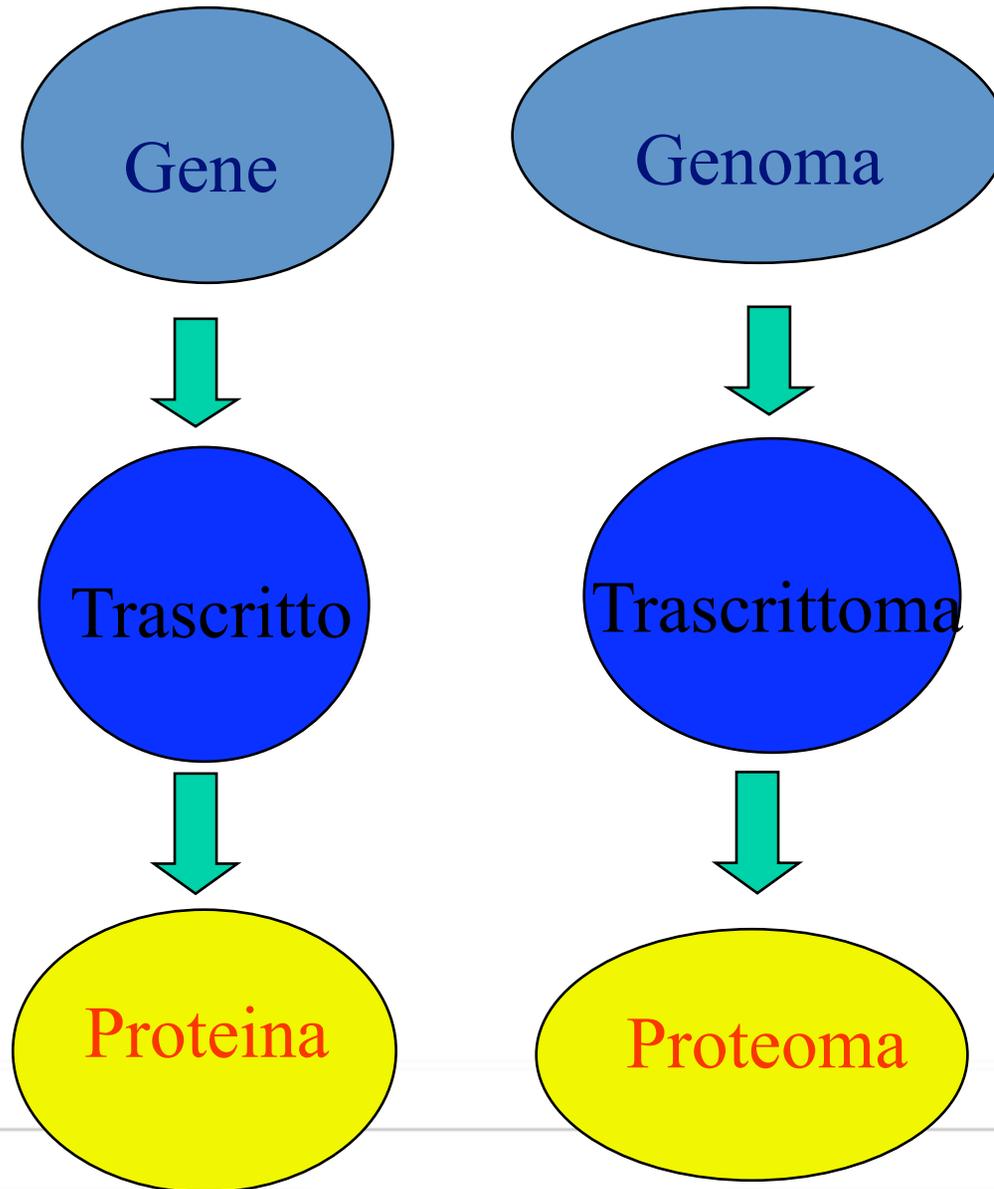
<http://www.ensembl.org./index.html>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genomes/>

E una volta che il genoma è sequenziato? E' iniziata l'era post-genomica

- **genomica e post-genomica funzionale**: cioè la comprensione su vasta scala del **trascrittoma**, dei network biologici e delle interazioni funzionali tra prodotti genici
 - **proteomica**
 - **farmacogenomica**

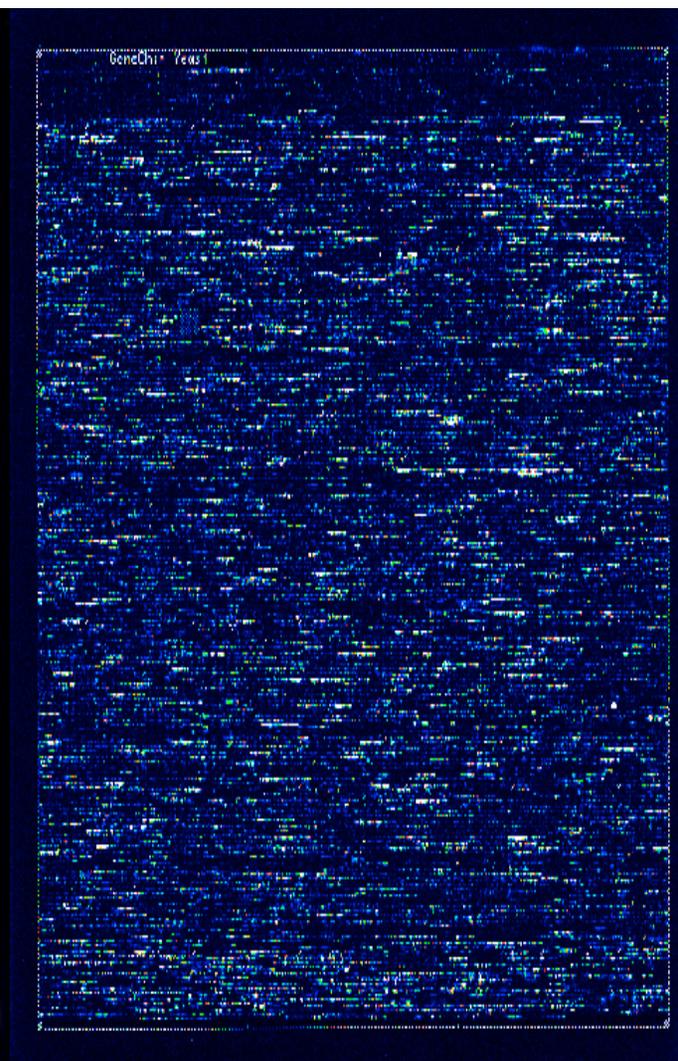
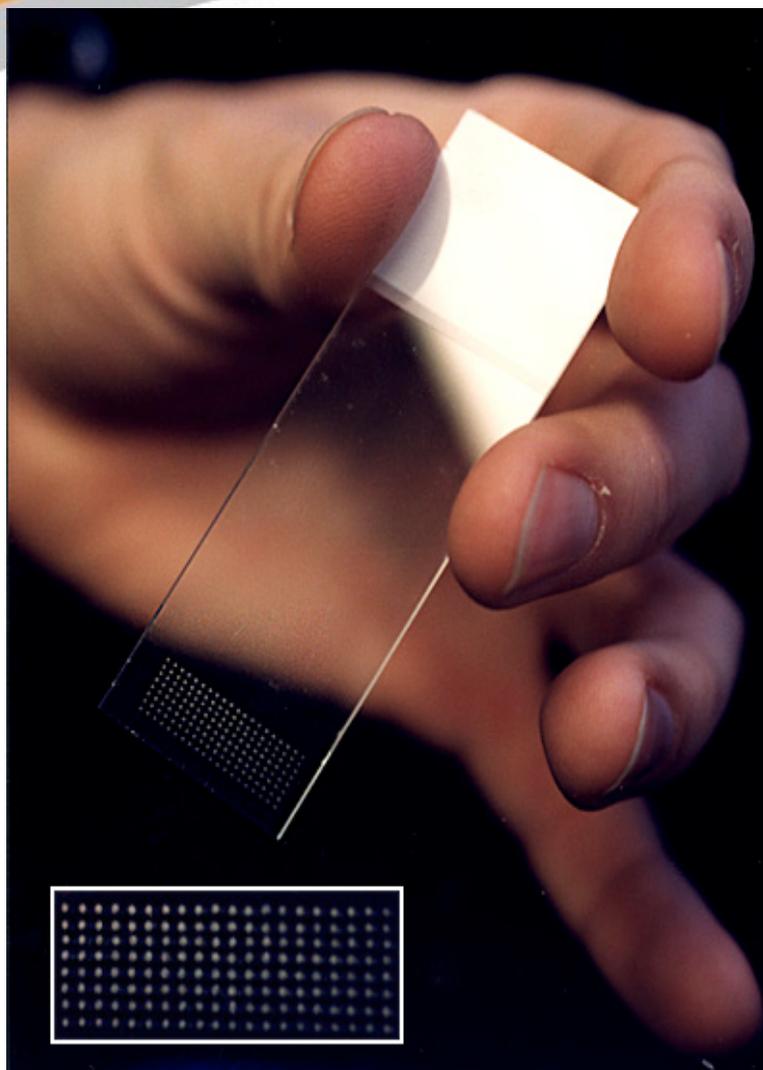
E' iniziata l'era post-genomica



La tecnologia dell'era post-genomica: misurare la espressione genica differenziale

- **Analisi del trascrittoma: DNA microarray**
 - Monitoraggio della espressione di migliaia di geni contemporaneamente
- **Analisi del proteoma: gel elettroforesi bidimensionale (2D)**
 - Analisi delle diverse proteine che sono espresse nei diversi tipi cellulari

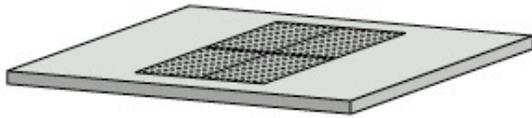
- Dove ?
- Quando ?
- Quanto ?
- Mutazioni



collection of gene-specific DNA molecules

↓
PCR amplification

↓
robotic 'printing' onto glass slide



mRNA from
sample 1 labeled
with red
fluorochrome



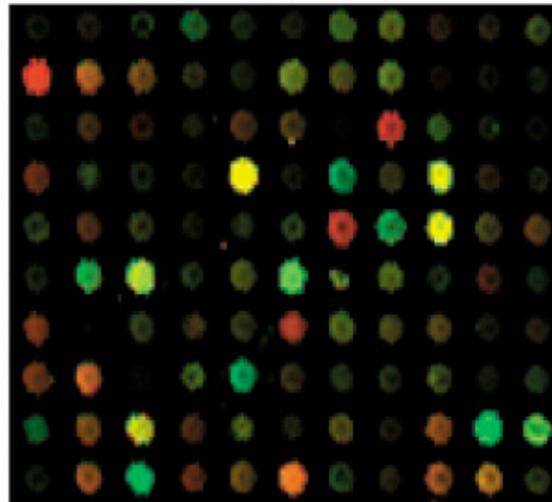
mRNA from
sample 2 labeled
with green
fluorochrome

mRNA convertito in cDNA

↓
HYBRIDIZE

↓
WASH

↓
SCAN RED AND GREEN
SIGNALS AND COMBINE
IMAGES

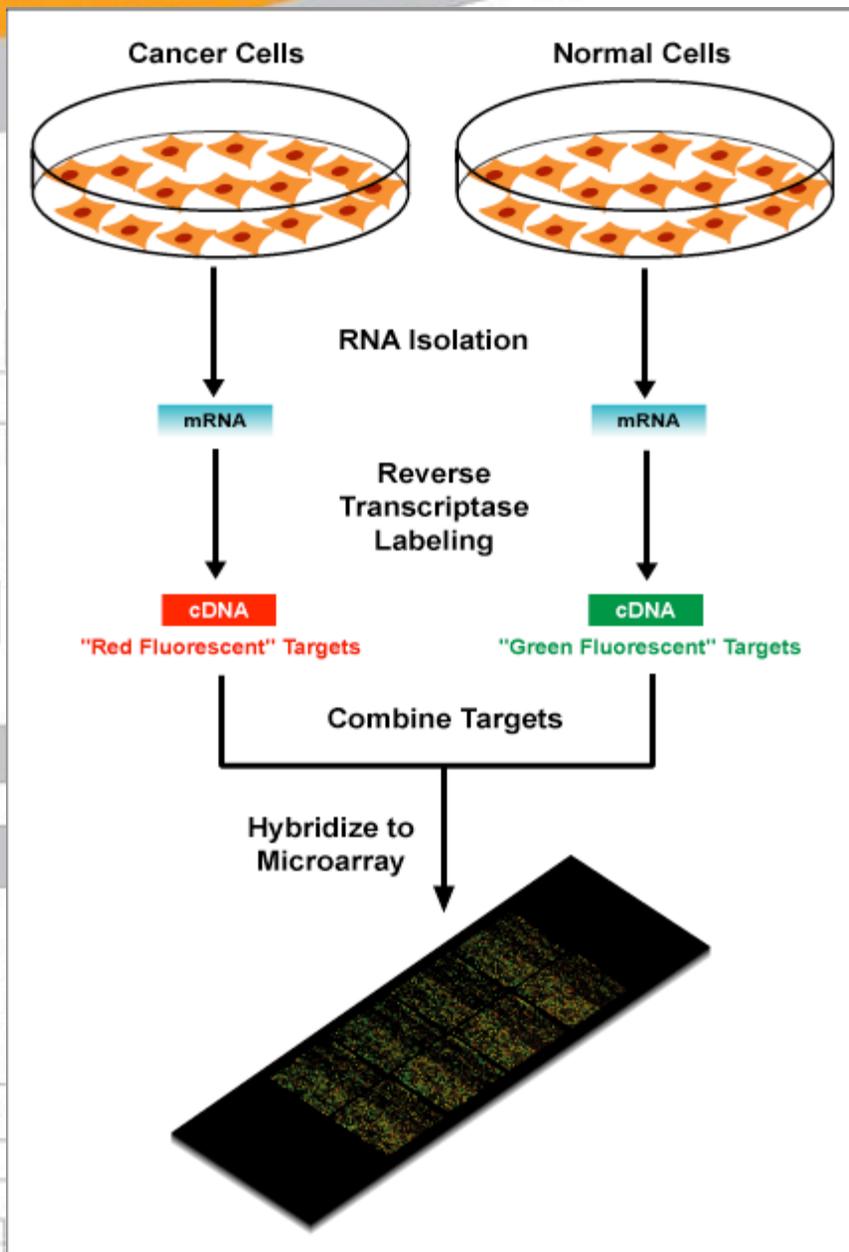


small region of microarray representing
expression of 110 genes from yeast

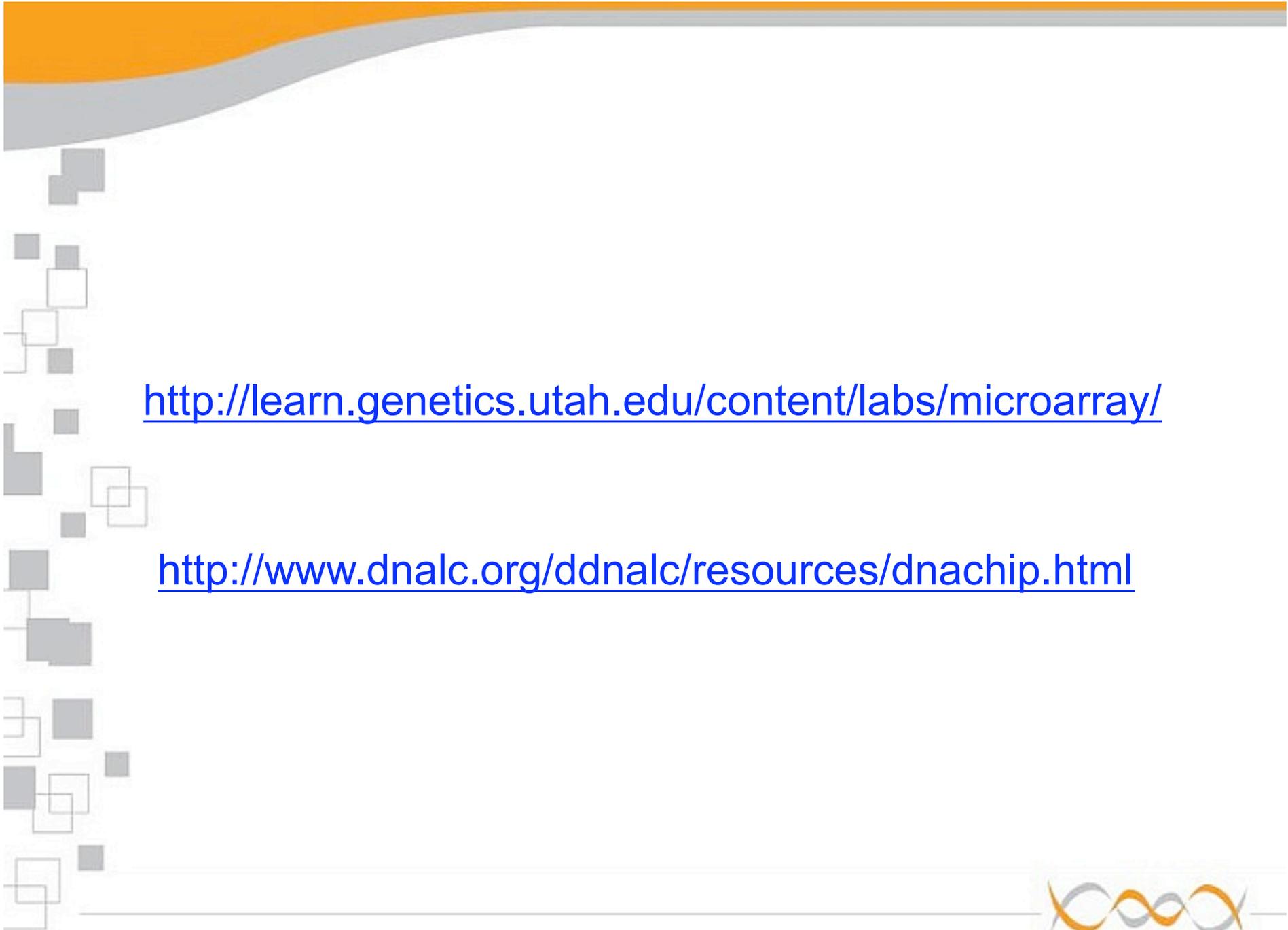
Analisi del TRASCRITTOMA

DNA microarrays

Figure 8-62. Molecular Biology of the Cell, 4th Edition.



- Spot rosso : include solo i cDNA relativi alle cellule tumorali, dopo ibridazione al DNA target
- Spot verde: include solo i cDNA relativi alle cellule normali, dopo ibridazione al DNA target
- Spot giallo : rosso + verde = giallo a diversa intensità. Significa che entrambi i cDNA hanno ibridato in modo equivalente al DNA target.
- Spot nero : il gene non è espresso né nelle cellule normali né nelle cellule tumorali



<http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/microarray/>

<http://www.dnalc.org/ddnalc/resources/dnachip.html>

Analisi del PROTEOMA

2-D gel elettroforesi

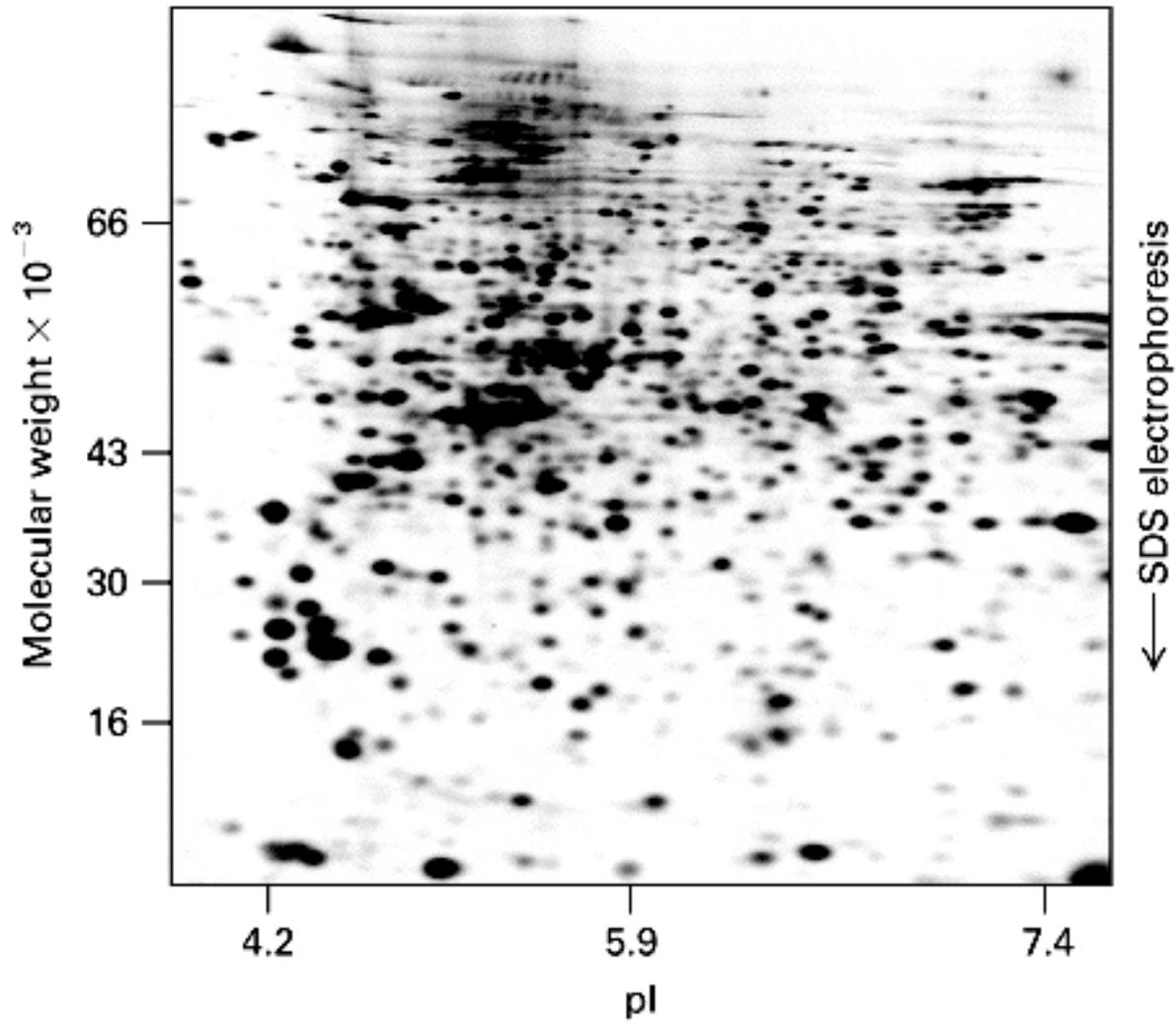
La strategia generale per caratterizzare il proteoma di una cellula consiste nel separare tutte le proteine tra di loro, determinarne l'identità e possibilmente i livelli

Si usa elettroforesi bidimensionale: si separano le proteine in una dimensione in base alla loro carica e nell'altra in base al loro P.M.

Si possono separare migliaia di proteine

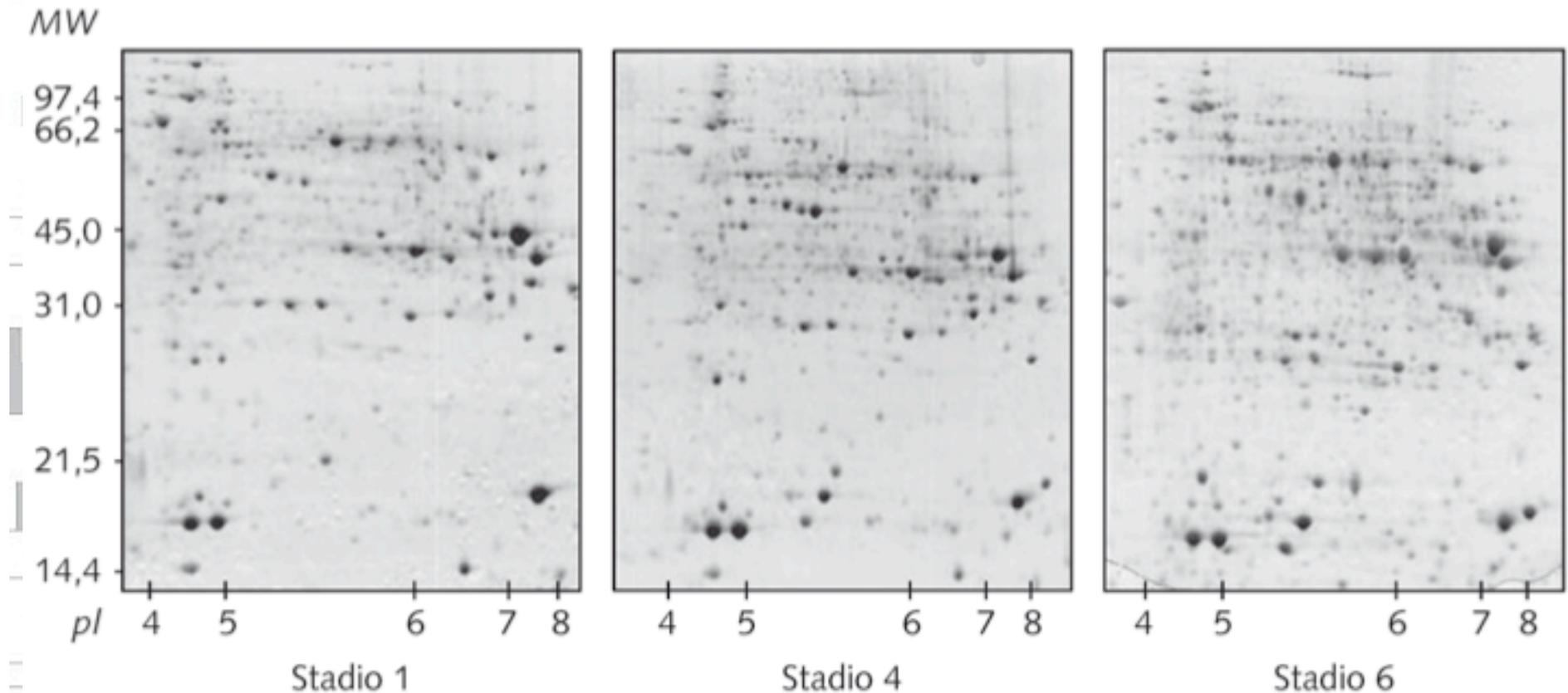
Si individuano le diverse proteine mediante colorazione o l'uso di precursori (ammino acidi) radioattivi

(b) IEF →

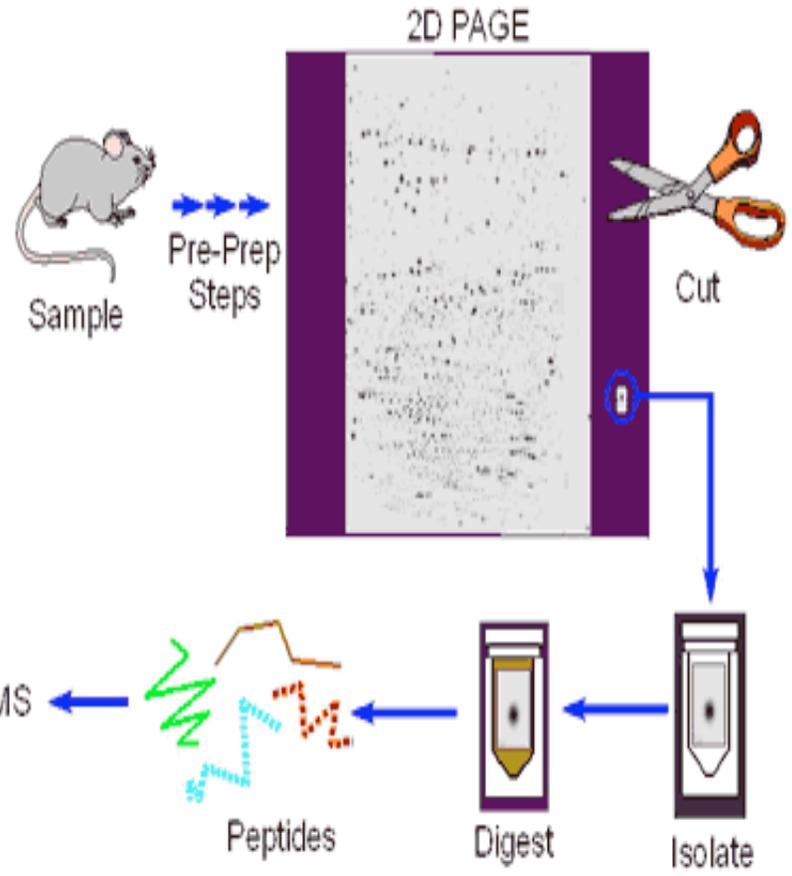
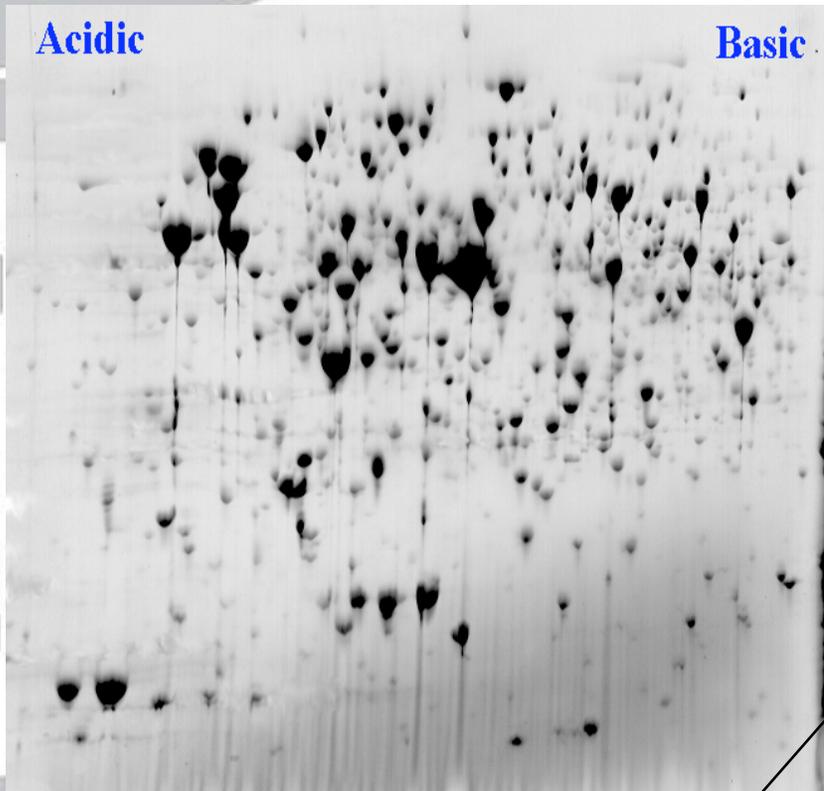


L' Elettroforesi bidimensionale consente la separazione simultanea di più di 1000 proteine

Analisi del PROTEOMA 2-D gel elettroforesi



Proteine di petali di rosa in 3 stadi di sviluppo: ogni gel contiene circa 600 proteine
421 comuni a tutti gli stadi, 12% delle proteine sono stadio specifiche

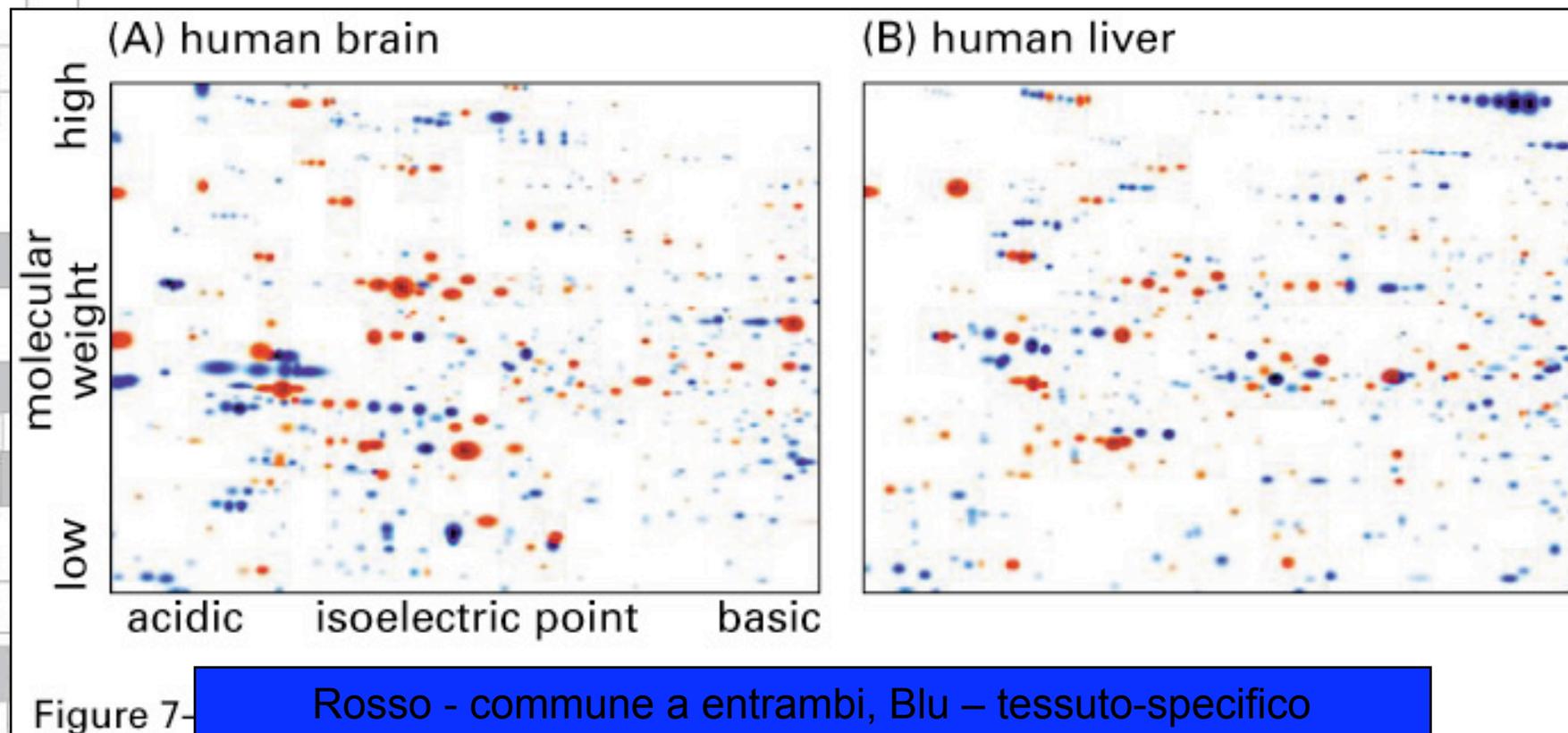


La MS dei peptidi consente di dedurre la sequenza

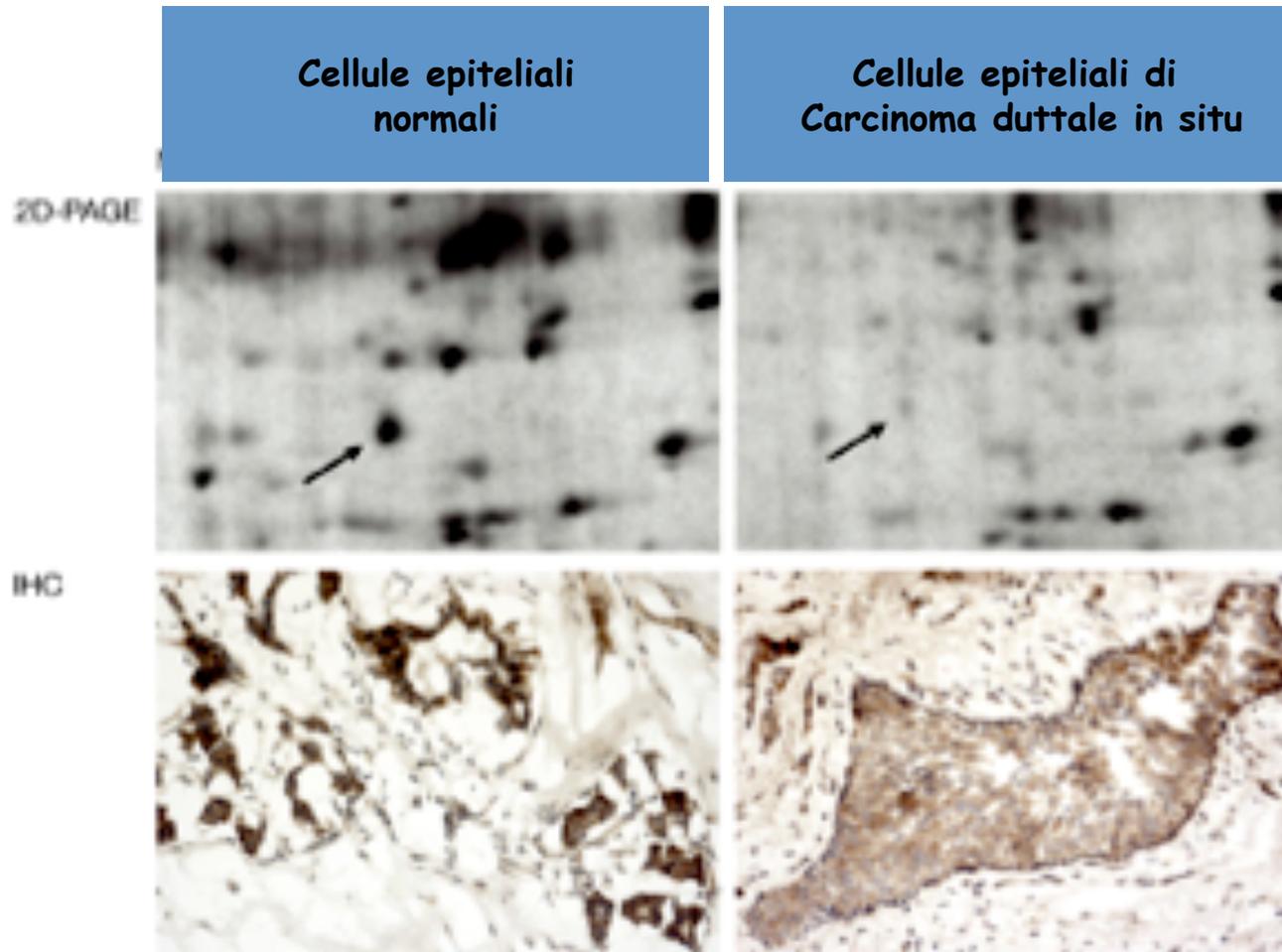
Banche dati → Identificazione della proteina

Analisi del PROTEOMA

2-D gel elettroforesi



Espressione della transgelina in tessuti normali e tumorali



Polimorfismi del DNA

- SNP
- VNTR

Nella popolazione umana, ogni 500-1000 bp si trova una variazione di 1 posizione nucleotidica (SNP, single nucleotide polymorphism)



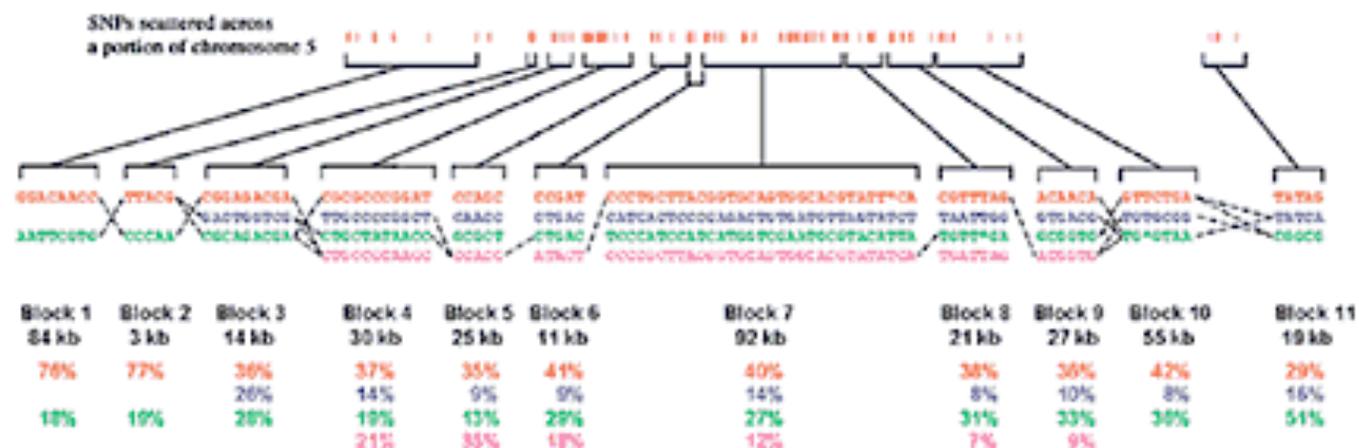
Identificati 1 milione di SNP

InternationalHapMapProject

- Nella specie umana molte regioni di 100kb tendono a rimanere in blocco (SNP in numero previsto, ma le combinazioni osservate sono relativamente poche, rispetto alle possibili ($2-4^{100}$))
- ALOTIPO: un particolare blocco di SNP sequenziali ereditati in blocco, solo alcuni di essi (4-7) presenti nella popolazione
- Gli aplotipi permettono di caratterizzare i genomi in modo rapido ed economico
- IHMP : identificare SNP di frequenza significativa e definire gli aplotipi più frequenti nelle diverse popolazioni
- Pochi aplotipi comuni raccolgono la grande maggioranza della variabilità genetica
- Gli aplotipi possono essere dei preziosi marcatori di geni malattia



Haplotype Map (Chromosome 5) Gene Involved in Crohn's Disease



- 11 blocks with 2 to 4 "flavors" (unique combinations of SNPs)
- Blocks range from 3000-92,000 bases
- The dashed lines show common relationships between the blocks
- The percentages indicate the occurrence of each common flavor in the patients studied

Daly M.J. *Nat Genet.* 2001.

IHMP

- Una lente di ingrandimento per identificare geni malattia
- Correlare fenotipo con **aplotipo**



E' nata una nuova "omica": La farmacogenomica

SNP

Ogni individuo è un "unicum"

Differenze genetiche nella risposta
ai farmaci

SNP microarray

In un unico microarray si possono
analizzare >100,000 SNPs nel
genoma di un paziente in poche ore

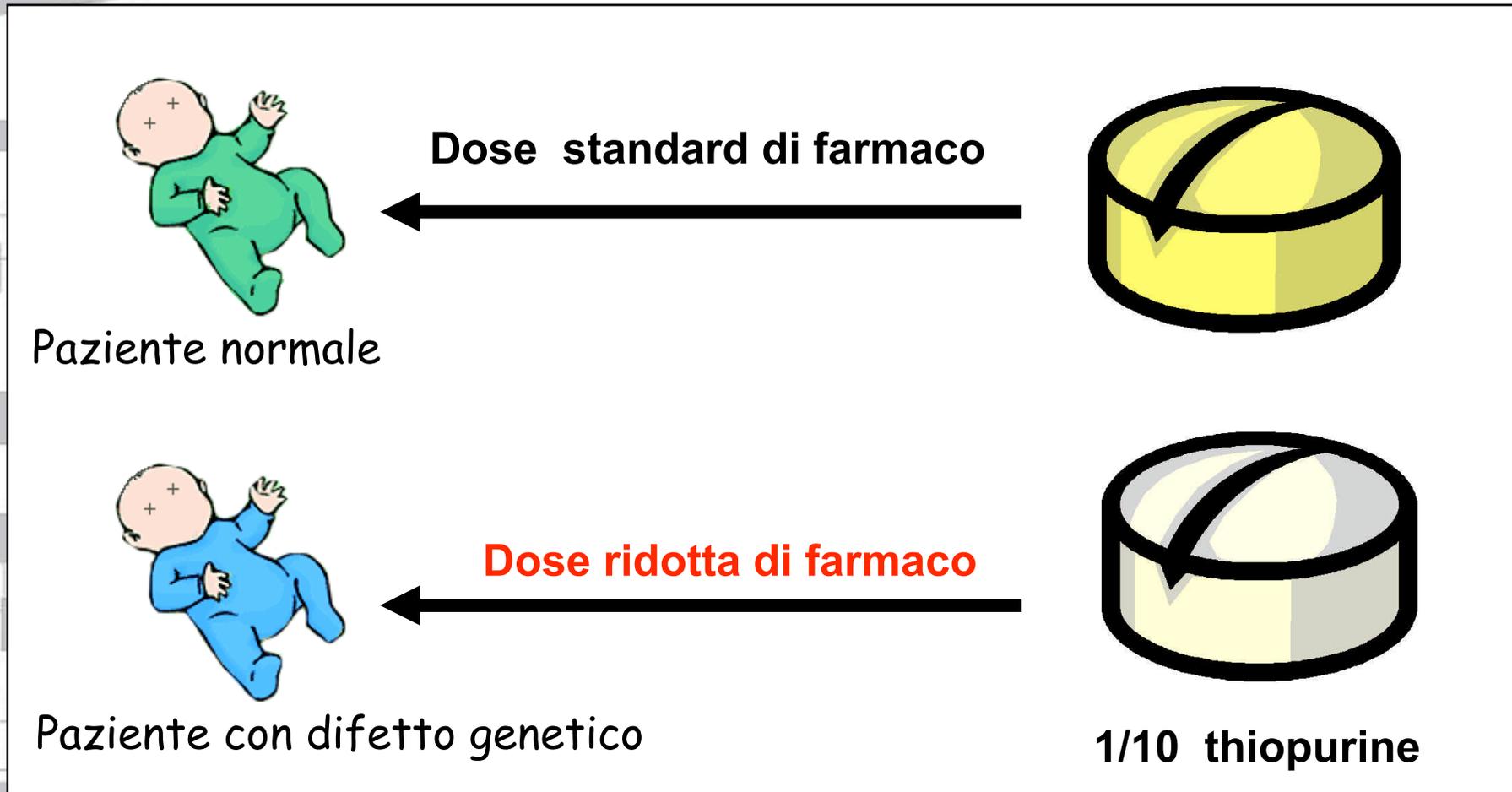
Avremo Farmaci
ad personam?



- <http://learn.genetics.utah.edu/content/health/pharma/snips/>

Applying SNP Profiles to drug choices

A cosa serve la farmacogenomica?



<http://learn.genetics.utah.edu/>

Quali saranno i vantaggi introdotti dalla farmacogenomica?

- Farmaci più efficaci
- Sistemi più accurati per stabilire le corrette dosi di farmaci
 - Sviluppo delle ricerche di nuovi farmaci
 - Riduzione della spesa sanitaria

Fattori ambientali, la dieta, l'età, lo stile di vita e le condizioni generali di salute di un individuo ne influenzano la risposta ai farmaci.

Il **fattore genetico** sta assumendo una grossa rilevanza e potrebbe diventare un fattore determinante per la identificazione di farmaci più sicuri ed efficaci.

Quali sono i principali ostacoli allo sviluppo della farmacogenomica?

- Elevato numero dei SNP rende difficile identificare quelli rilevanti per la risposta ai farmaci
- Ridotta disponibilità di farmaci efficaci in una determinata patologia
- Disincentivazione della ricerca di farmaci da parte delle ditte farmaceutiche che preferiscono il farmaco "taglia unica"
- Addestramento dei medici di base

Polimorfismi del DNA

- SNP

- VNTR

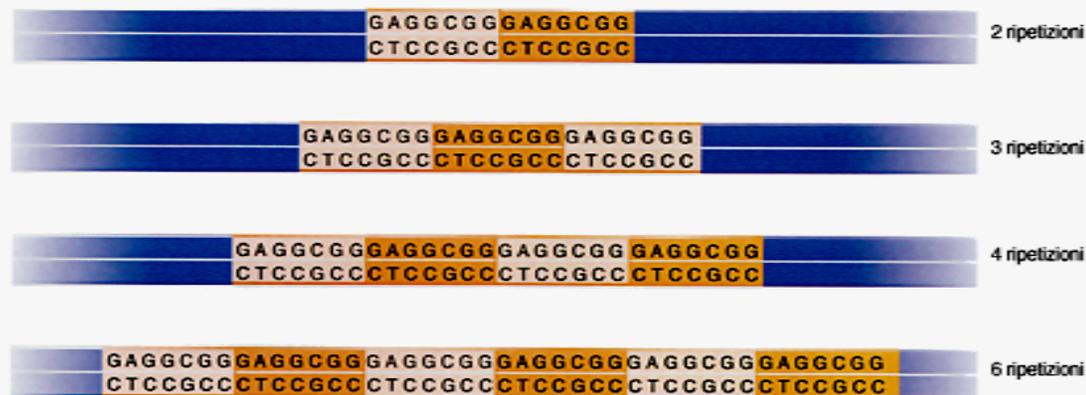
•VNTR

•Variable Number of Tandem Repeats

•corte sequenze di 10-100 nucleotidi ripetute in tandem 20-50 volte, non codificanti, a funzione ignota, localizzate in 10^2 - 10^4 posizioni diverse (e fisse) nel genoma

Figura 9.1

Un esempio di numero variabile di ripetizioni in tandem (VNTR), note anche come sequenze minisatellite. Esempi di alleli per un'ipotetica ripetizione VNTR di 7 bp. In realtà ci sono decine di migliaia di copie in tandem in un determinato allele.

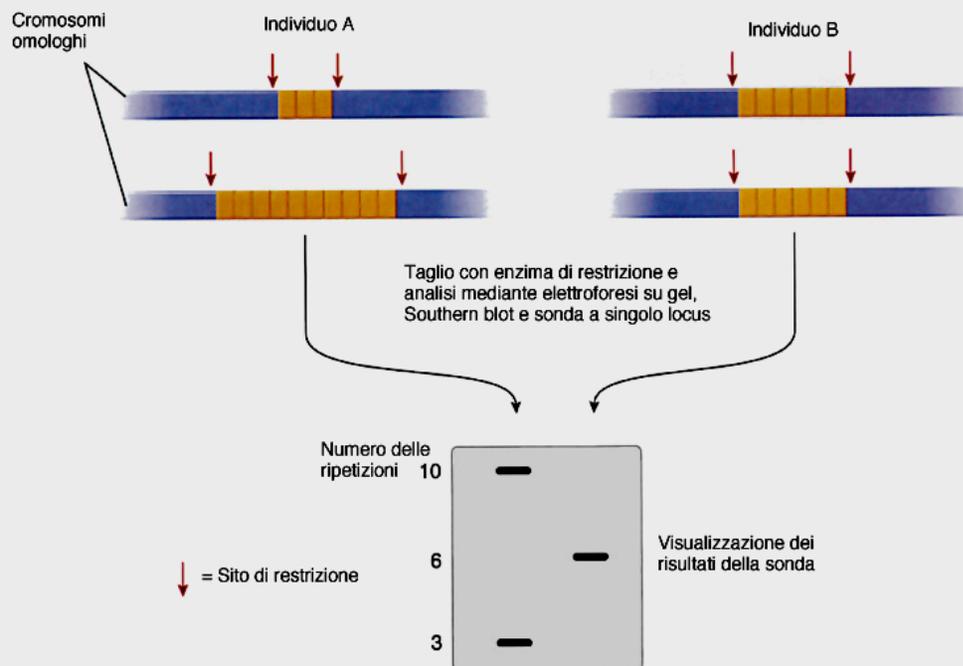


L'organizzazione in tandem dei VNTR è sfruttata per determinare la **impronta genetica del DNA (DNA fingerprinting)**

Amplificando con la PCR sequenze a ripetizione variabile (VNTR), utilizzando primers fiancheggianti, si può ottenere una mappa individuale (fingerprinting).

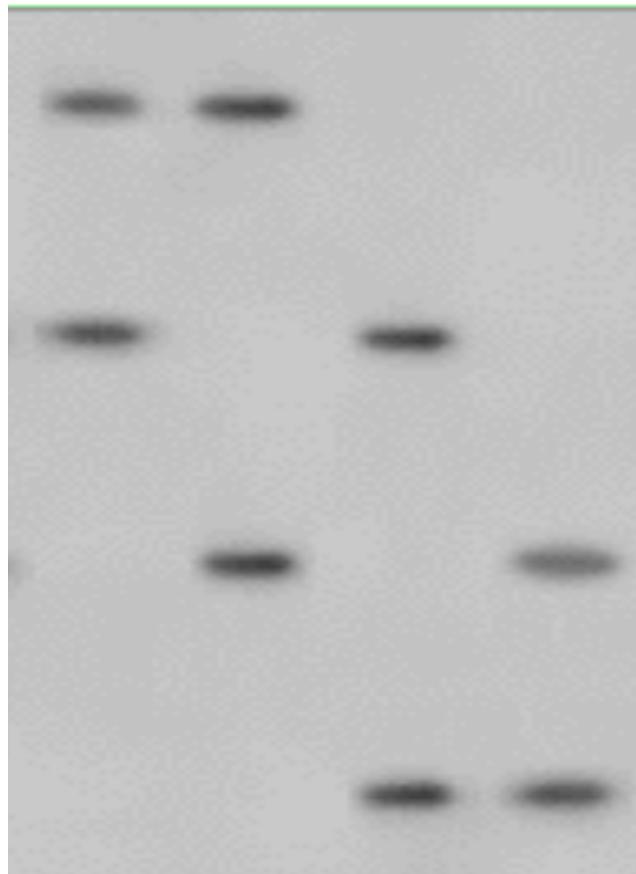
Figura 8.9

Il concetto dell'uso di STR (microsatelliti) o di VNTR (minisatelliti) come marcatori del DNA.



DNA Fingerprinting:

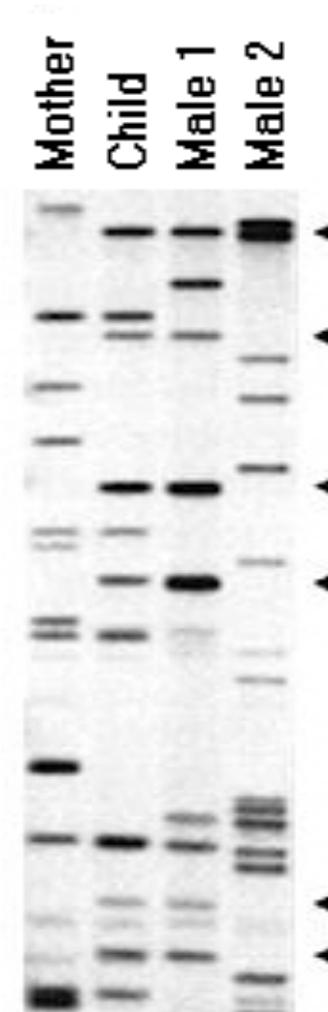
Analisi di paternità



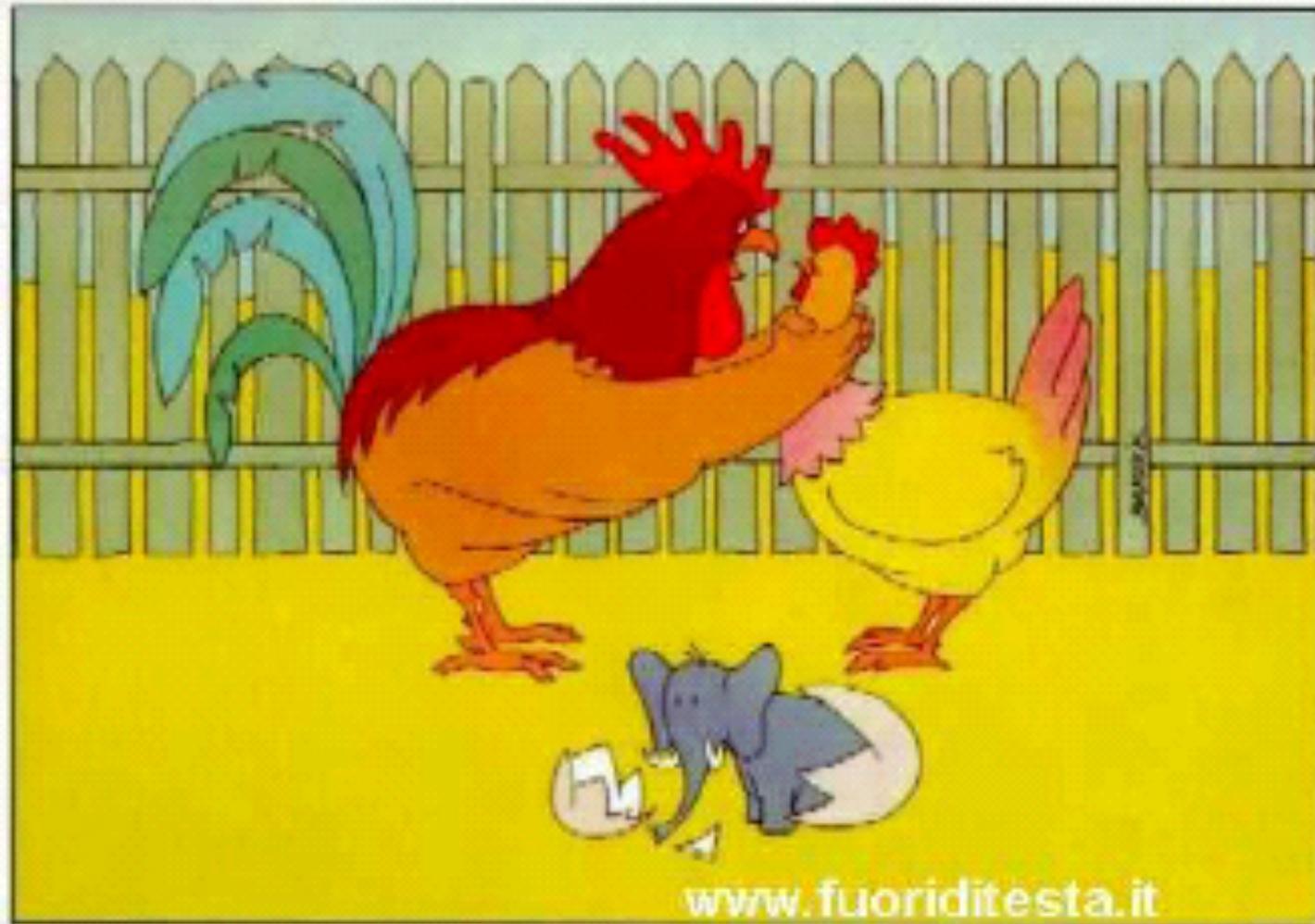
Un tipico esempio in cui il DNA fingerprinting permette di risolvere facilmente un caso di paternità dubbia (è analizzato 1 solo VNTR)

madre figlio padre 1 padre 2

Un tipico esempio in cui il DNA fingerprinting permette di risolvere facilmente un caso di paternità dubbia (sono analizzati più siti VNTR).

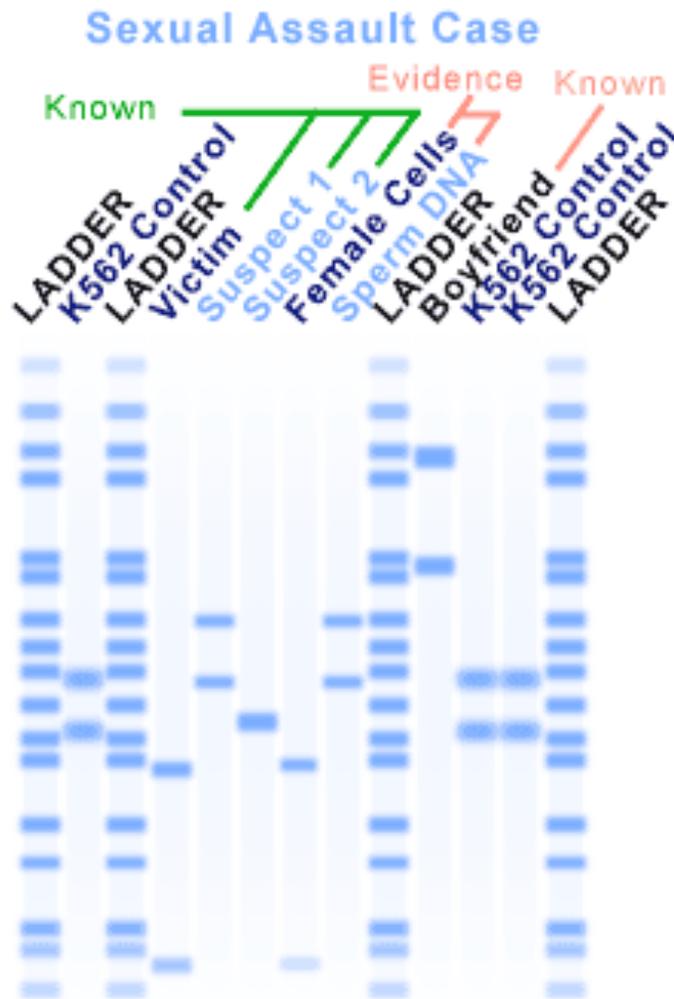


Risultato degli esami di paternità



Ancora il DNA Fingerprinting:

L'analisi dei VNTR con la PCR è molto utile nelle **cause giudiziarie**, perché permette di comparare velocemente campioni di DNA anche a partire da tracce di materiale biologico



Esempio di Fingerprinting di DNA
in un caso di stupro
(1 solo sito VNTR)



<http://www.dnai.org/d/index.html>

http://www.tryscience.org/it/experiments/experiments_dna_online.html

I test genetici



- Identificazione personale
 - Esame di paternità
- Identificazione di portatori di una malattia genetica
 - Diagnosi preimpianto di embrioni
 - Diagnosi prenatale
 - Farmacogenomica
- Analisi presintomatiche per rischio di tumore o per patologie a insorgenza tardiva

Aspetti etici legali e sociali



- Chi può avere accesso ai dati
 - Quale uso viene fatto dei dati genetici
 - (Le compagnie di assicurazione, i datori di lavoro
 - le adozioni, i tribunali)
- La privacy (di chi è la proprietà dei dati genetici)
- Aspetti psicologici (in che modo la conoscenza di dati genetici può influenzare la percezione di sé e la percezione dell'individuo da parte della società)
- Aspetti legati alla riproduzione (consultorio genetico, diritto alla procreazione...)
- Chi controlla lo standard di accuratezza dei test

http://www.ornl.gov/sci/techresources/Human_Genome/home.shtml



THE END