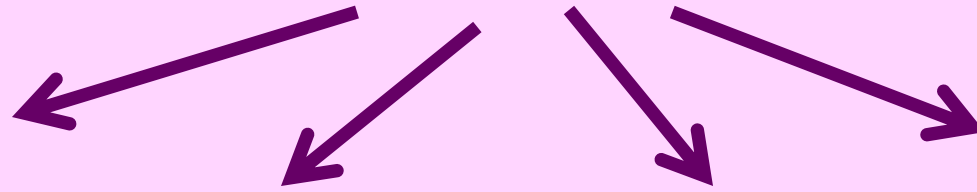


GENOMA



EVOLUZIONE

CONTENUTO

FUNZIONE

STRUTTURA

Analisi di sequenze -- Analisi di espressione -- Funzione delle proteine

Progetti genoma in centinaia di organismi

Importante la sintenia tra i genomi



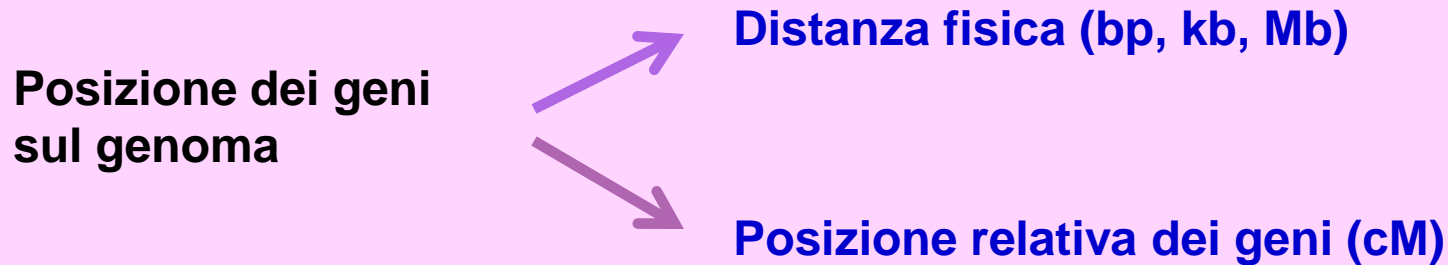
The Human genome project pubblicato il draft nel 2001

OBIETTIVI FONDAMENTALI DELLA GENOMICA

1. Stabilire un database ed un sistema di comunicazione dei dati

- **Siti web**
- **Raccolta e collegamento dei dati**
- **Presentazione**
- **Rendere le informazioni disponibili a tutti**
- **Continuo aggiornamento**
- **Software per analisi informatica**

2. Ottenere e combinare le mappe fisiche e le mappe genetiche



- Comparare i genomi di specie correlate
- Collegare i dati fenotipici con quelli genetici

3. Generare e ordinare sequenze genomiche e sequenze di geni espressi

Sequenziamento su larga scala:

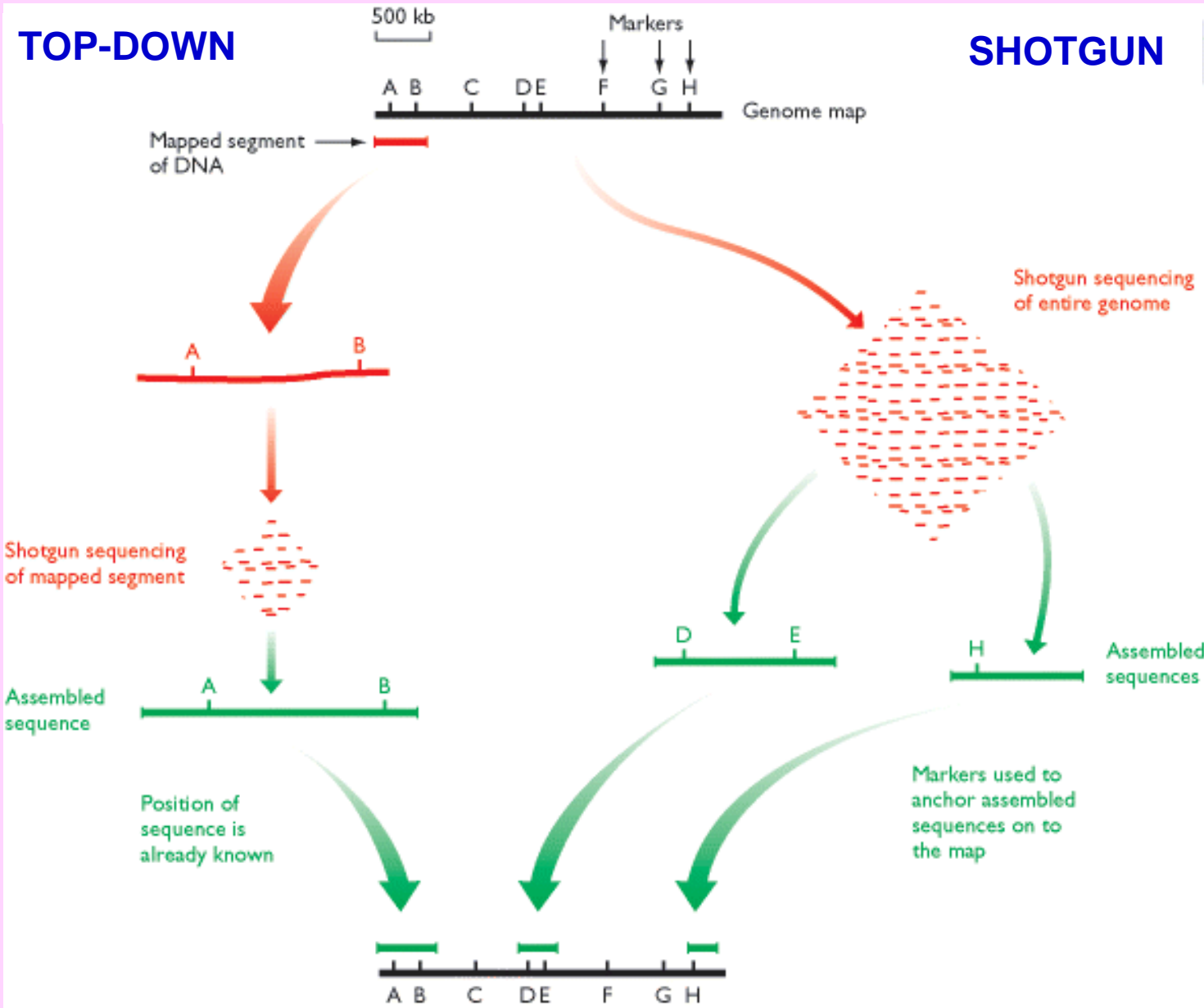
top-down suddividendo il genoma in frammenti sempre più piccoli e facilmente sequenziabili

shotgun frammentando il genoma in milioni di pezzi e sequenziando i vari pezzi su cloni

SEQUENZIAMENTO DEI GENOMI

TOP-DOWN

SHOTGUN



Dal sequenziamento si evince

la > parte del genoma è costituito
da sequenze non codificanti

mRNA → cDNA

I frammenti sequenziati costituiscono le EST

Buona indicazione di quali geni siano
espressi in un tessuto e buoni marcatori

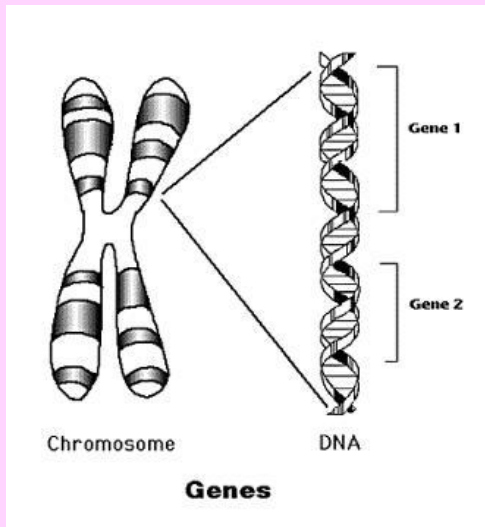
Splicing alternativo

Errore nella costruzione di cDNA

Non sempre però c'è
corrispondenza tra EST e geni

4. Identificare e annotare tutti i geni codificati da un genoma

- a. Sequenza completa del genoma
- b. Caratterizzare per il contenuto genico



- Allineamento sequenze genomiche e cDNA
- Ricerca di sequenze simili in altri genomi
- Applicazioni di software per individuare i geni (ORF)
- Regione di giunzione esone-introne
- Inizio e fine trascrizione (5'UTR, 3'UTR)

Identificazione di un gene:

1. relazione tra sequenza nucleotidica e i dati di espressione e funzione
2. fenotipi mutanti
3. confronto con proteine in altre specie

5. Costruire atlanti di espressione genica

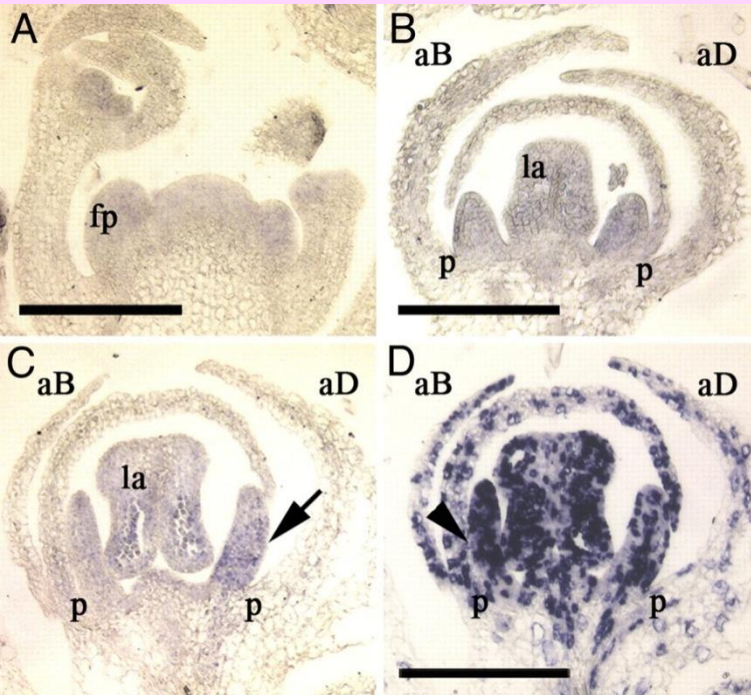
Informazioni sulla funzione del gene:

analisi del profilo di trascrizione

sintesi proteica

Costruzione di apposite librerie geniche

Tessuto specifico
Stadio di sviluppo
induzione



L'espressione genica è uno strumento efficace per studiare un processo biologico

Per svolgere una funzione in un tessuto un gene dovrebbe essere espresso proprio in quel tessuto

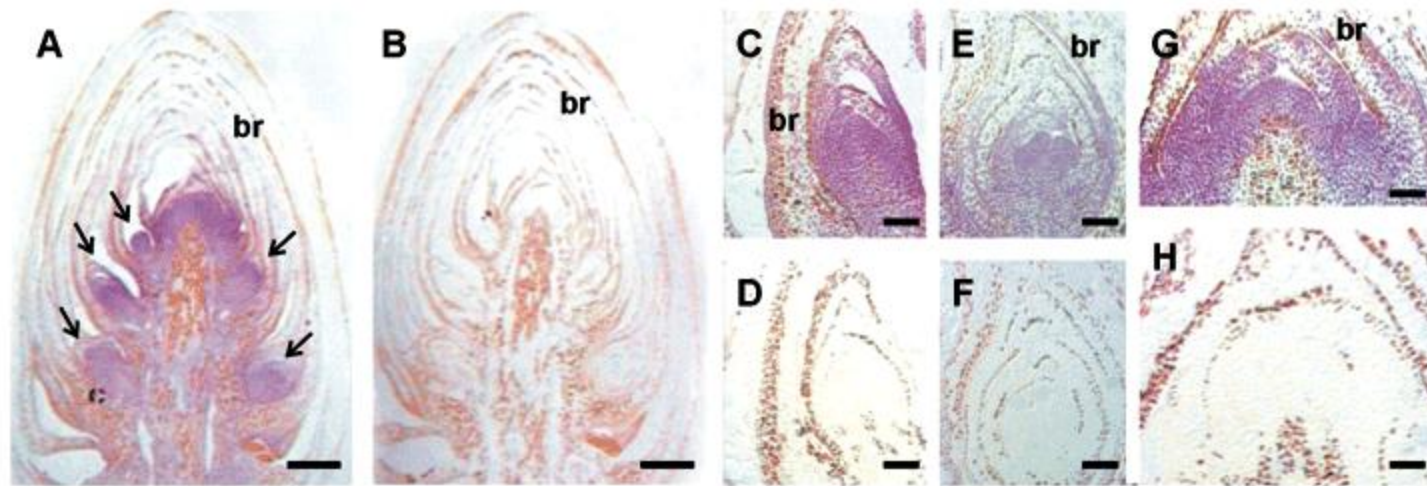
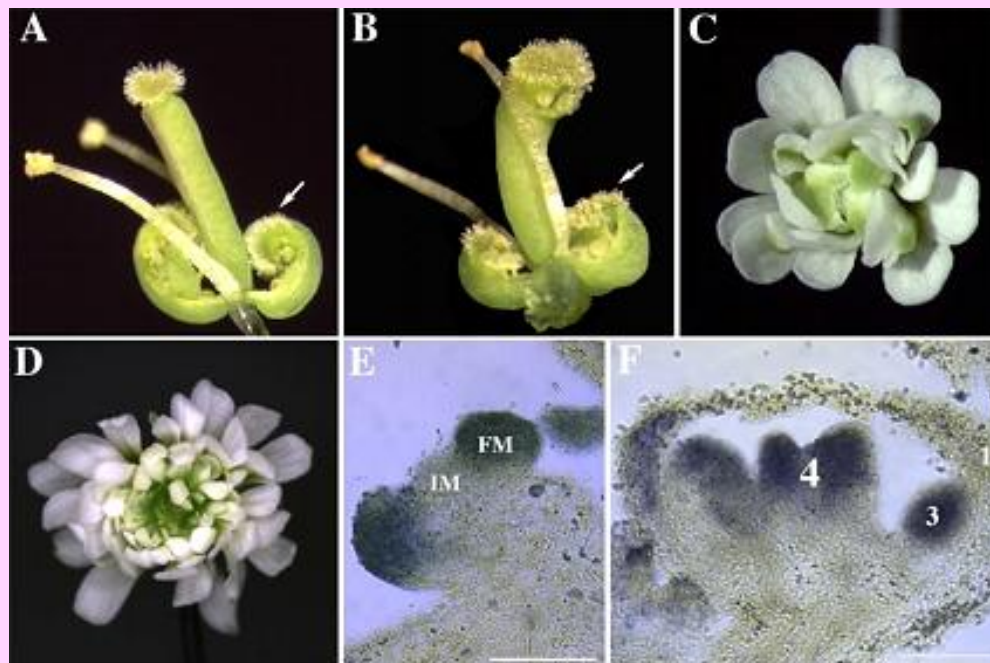
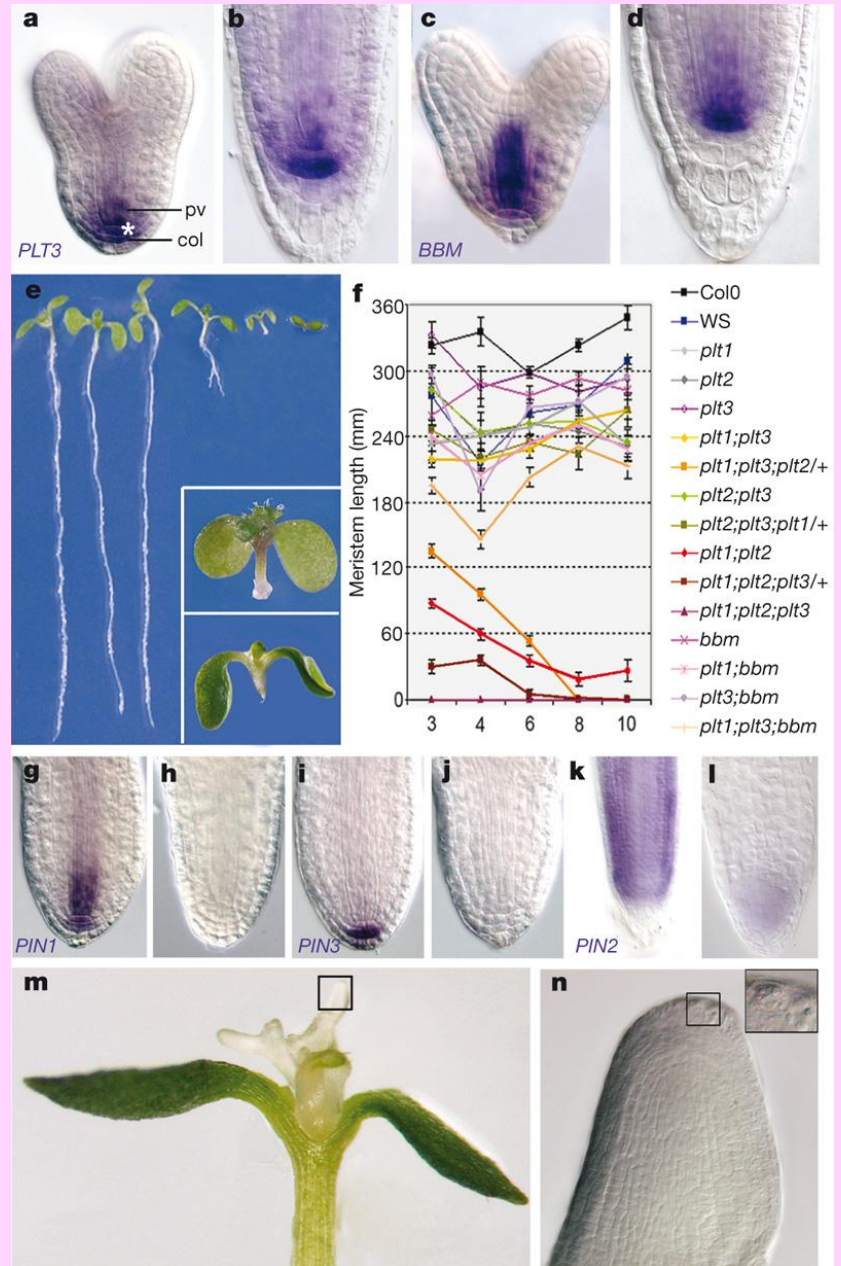
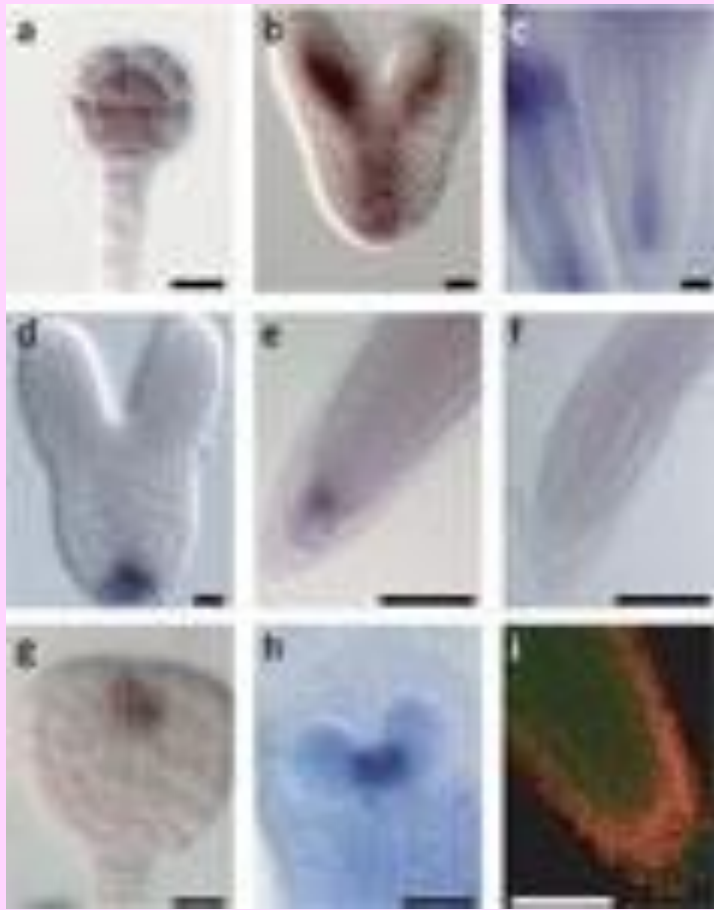


Figure 5 - *In situ* localization of *PcFY* transcripts. All sections are longitudinal. The pink-purple color indicates the hybridization signal. Hybridizations were performed with an antisense probe in A, C, E and G. In B, D, F and H a sense probe was used. In this case, no hybridization signal was observed above background level. A and B: Long-branch apex during the initiation of axillary meristems (arrows) on the side of apical meristem; C and D: developing short-branch female cone with initiating bract primordia (br). E and F: developing short-branch male cone with initiating bract primordia (br). G and H: Detail of an apical meristem of an adult (15 years-old) plant. Bars: A and B: 600 μ m; C-F: 250 μ m; G and H: 100 μ m.





6. Accumulare dati funzionali



Genomica funzionale

Tutti i metodi per individuare le caratteristiche (cellulari, biochimiche ecc.) dei prodotti genici. (es. mutagenesi a saturazione)

Genomica funzionale

proteomica



Proteine espresse e interazioni proteiche

genomica strutturale



Struttura tridimensionale di tutte le proteine di un organismo

farmacogenetica



variazioni inter-individuali nella sequenza del DNA in relazione alla risposta ai farmaci

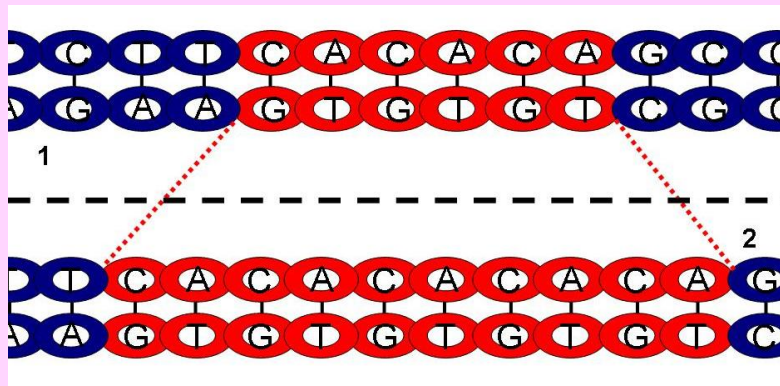
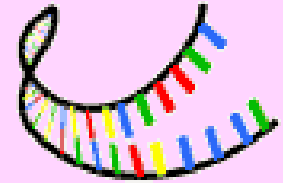
7. Caratterizzare la diversità di sequenze del DNA

I genomi sono ricchi di polimorfismi

SNP (single nucleotide polymorphism)

Variazioni più frequenti del genoma

Si cercano le associazioni tra variazioni degli SNP e variazioni fenotipiche



Variazioni di sequenze ripetitive

Dedurre le relazioni tra individui
Studi evolutivi delle specie

8. Fornire le risorse per eseguire comparazioni tra i genomi

I dati comparativi hanno un'importanza fondamentale

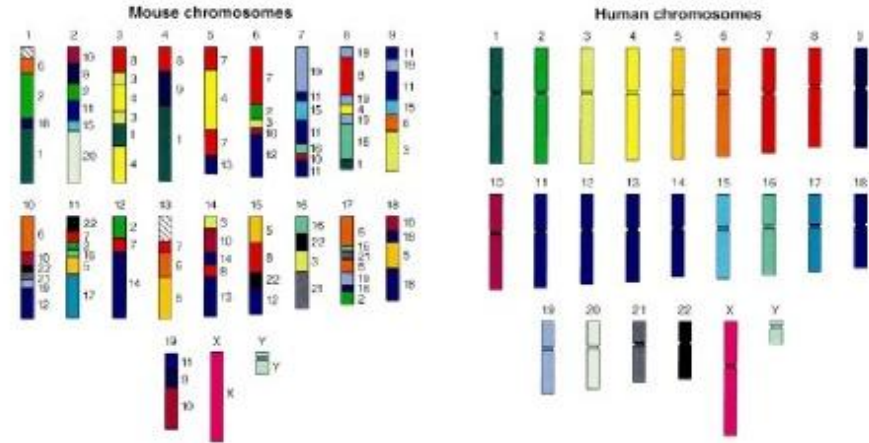


Studio dei genomi

SINTENIA

L'ordine dei loci genici su un cromosoma tende a conservarsi per milioni di anni

Mouse and Human Genetic Similarities



Il grado di sintenia è inversamente proporzionale al tempo trascorso dall'evento di divergenza di un locus ancestrale comune (sono necessari eventi di ricombinazione per separare geni associati)

In assenza di sintenia

La conservazione della funzione genica è molto elevata

Un processo di sviluppo in drosophila ci rivela dettagli sul processo in un primate

Mappaggio dei genomi

Mappe fisiche

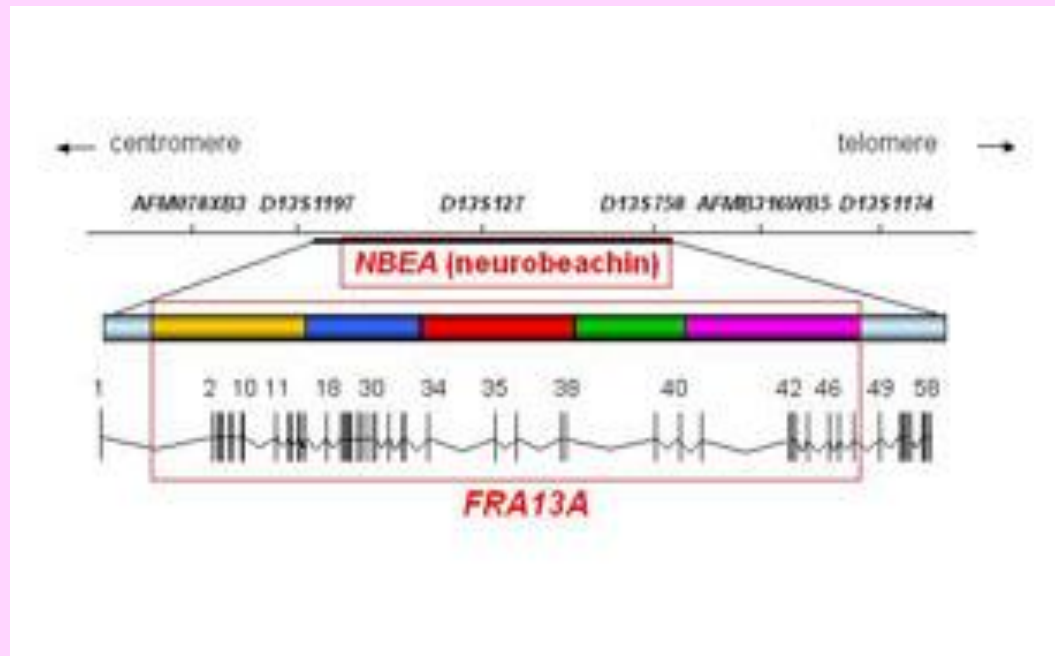
Mappe genetiche

Mappe citologiche

Mappe fisiche



- localizza la precisa posizione dei geni sul cromosoma e ne determina le distanze degli uni dagli altri.
- Insieme di tratti contigui di DNA cromosomico
- La distanza si esprime in KB



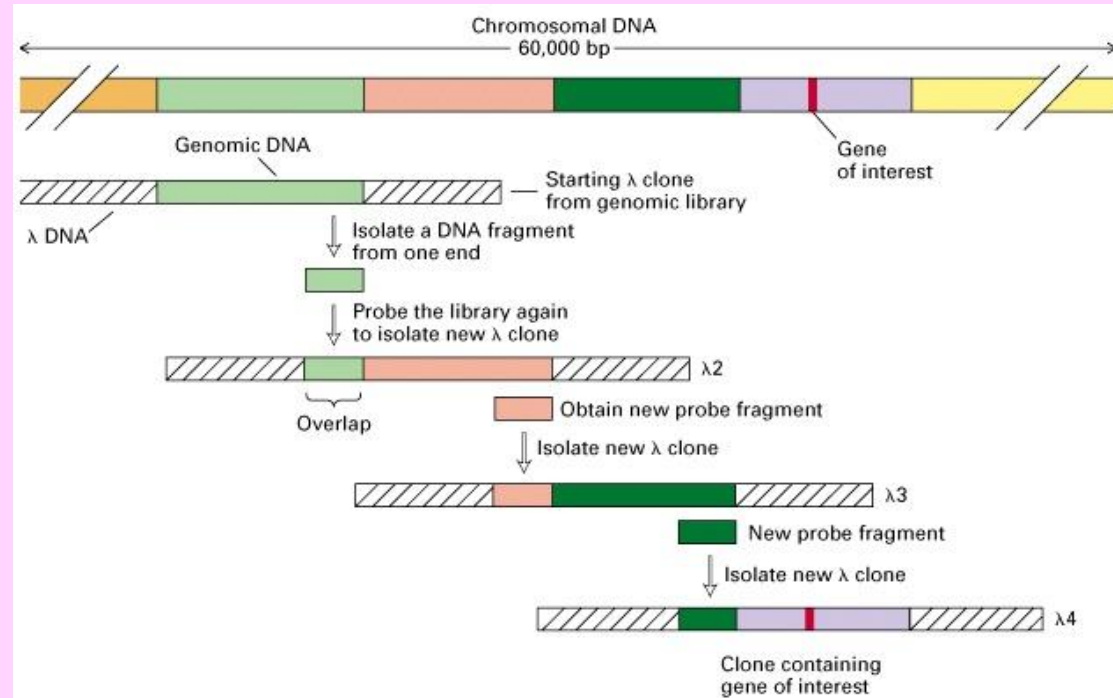
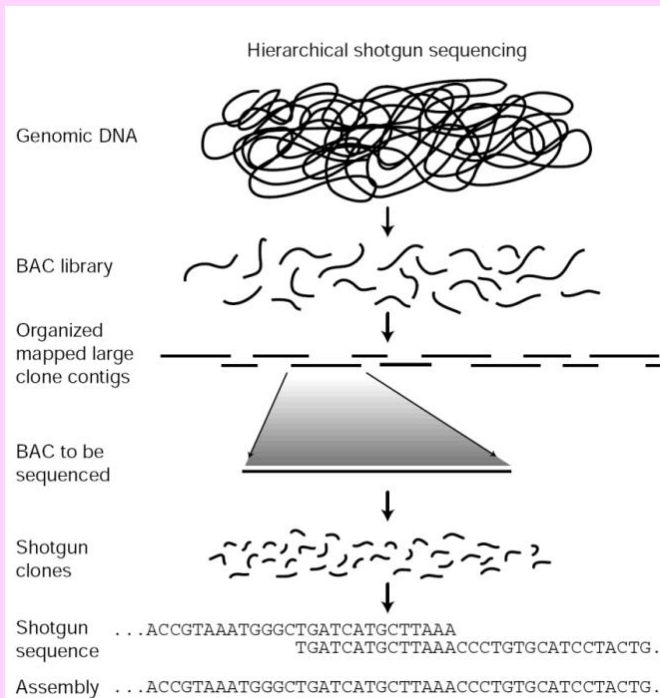
Mappe fisiche

Si riuniscono i tratti contigui

Allineamento di cloni isolati a caso tramite profili di lunghezza di frammenti di restrizione

Metodi basati sull'ibridazione si usano sonde per identificare i cloni contigui chromosome walking o positional cloning

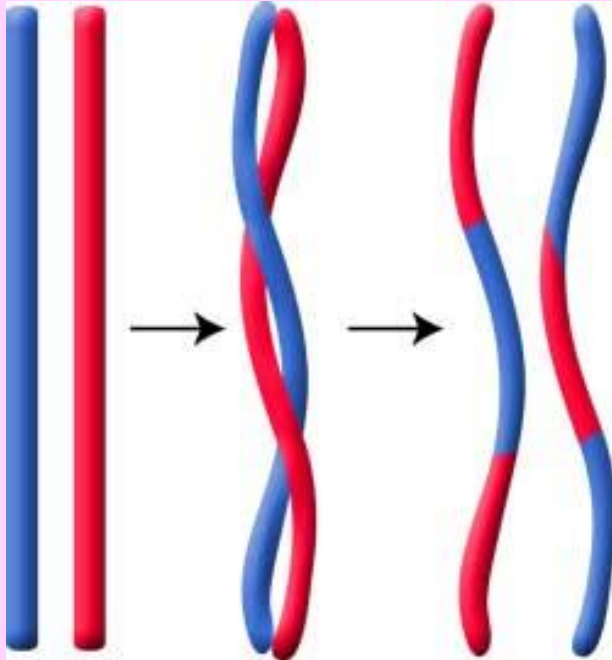
YAC, BAC, lambda, plasmidi



Mappe genetiche



Mappe di associazione descrivono l'ordine dei geni (o marcatori) sui cromosomi e le distanze relative tra questi geni (o marcatori)



Crossing over

La distanza tra i geni (o marcatori) di riferimento è espressa come unità di ricombinazione (cM)

Marcatore genetico: attributi fisici del DNA



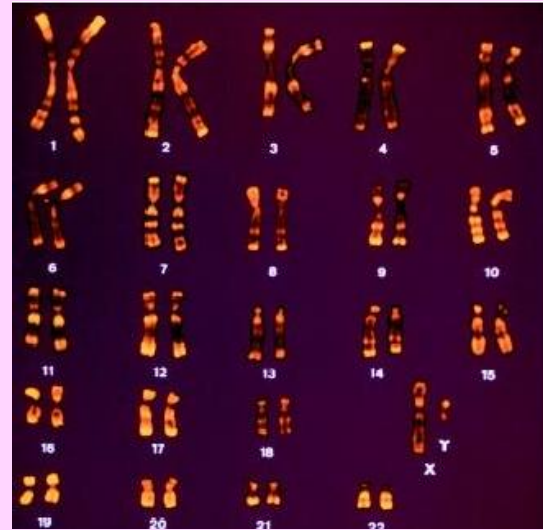
Specifiche sequenze
Tratti nucleotidici noti
Loci mendeliani

cM: % della progene in cui è avvenuto un evento di ricombinazione tra 2 marcatori

Mappe citologiche



Profili di bandeggio cromosomico
Osservabile su piastre metafasiche



Il fenotipo mutante può essere correlato
con delezioni o riarrangiamenti cromosomici