

In qualità di docenti sappiamo che l'insegnamento delle scienze è in continua evoluzione. La semplice trasmissione delle nozioni non comporta che uno studente sia scientificamente preparato. Questa, che in precedenza era solo una percezione, ora è confermata da molti studi. Gli studenti di scienze hanno bisogno di molto di più: una consapevolezza di che cosa sia la scienza e del modo in cui opera, una chiara presentazione dei concetti chiave che vada oltre la semplice ripetizione dei dettagli, una visione articolata dei principi filosofici alla base della disciplina scientifica, esercizi che richiedano l'analisi di dati reali e il riconoscimento del contributo della scienza al benessere del genere umano. In qualità di educatori scientifici siamo sollecitati da queste sfide, e al tempo stesso ci troviamo di fronte a un numero crescente di studenti e a una riduzione delle risorse. Come si può fare di più, avendo di meno?

I libri di testo hanno un ruolo importante in questo contesto. Un buon libro di testo oggi deve essere più che una semplice guida che raccoglie le informazioni relative a una disciplina. Per un insegnante un libro di testo deve organizzare le informazioni, includere strumenti di valutazione e fornire i mezzi che aiutino a rendere viva una disciplina. Per gli studenti un libro di testo deve collegare la scienza all'esperienza di tutti i giorni, evidenziare i concetti chiave e mostrare il processo che ha portato a questi importanti concetti.

Questo libro è nato dopo un incontro nella Napa Valley nel gennaio del 2006. Fin dall'inizio ci prefiggemmo obiettivi ambiziosi per dare una risposta alle sfide importanti che incontriamo come insegnanti.

**Gli studenti vedono la scienza come un insieme di fatti invece che come una continua e impegnativa attività.** I biologi molecolari hanno molte grandi storie da raccontare. Abbiamo voluto dare un'idea dell'entusiasmo che è il propellente della biologia molecolare moderna, e della vera e propria meraviglia che si prova quando vengono rivelati i meccanismi di un nuovo processo biologico. Questo tema è affrontato nel primo capitolo, per lo più dedicato a un'introduzione sul metodo scientifico. Ogni capitolo inizia con *Il momento della scoperta*, che riporta le descrizioni che i ricercatori stessi danno di un momento memorabile della loro carriera.

Ogni capitolo termina con la sezione *Come è stato scoperto* in cui si raccontano i percorsi, spesso complessi, verso nuove conoscenze. Altri aneddoti sugli scienziati all'opera sono nel testo e negli *Approfondimenti*. Quando gli studenti leggeranno queste pagine, i laboratori e le persone che stanno dietro le scoperte sembreranno più vicini.

CAPITOLO 20

## La regolazione dell'espressione genica nei batteri

**IL MOMENTO DELLA SCOPERTA**

“Scienza per me significa quei momenti di lucidità, quando dopo anni di lotta per comprendere qualcosa, finalmente, si ha un'incredibile rivelazione di come funzioni la natura. Sono affascinata da come le cellule batteriche comunichino tra loro in quel processo chiamato "quorum sensing" attraverso il quale percepiscono il proprio numero. I batteri che percepiscono il numero sintetizzano, rilasciano e rispondono a molecole segnale chimiche che aumentano di concentrazione in funzione dell'aumento del numero della popolazione cellulare. Le cellule rispondono a queste sostanze chimiche con cambiamenti sincroni nell'intera popolazione: un comportamento comunitario permette ai batteri di portare avanti funzioni che non sarebbero assolutamente possibili se ciascun batterio agisse singolarmente. Riteniamo che l'evoluzione della comunicazione cellula-cellula nei batteri sia uno dei primi passaggi nello sviluppo degli organismi multicellulari. *Vibrio harveyi* è un batterio bioluminescente marino gram-negativo che regola l'emissione di luce in risposta a due distinte "parole" chimiche, o autoinduttori. Da nuovo professore, volevo rispondere a una domanda che lasciava da anni perplessa la comunità scientifica. Perché *Vibrio harveyi* ha bisogno di due segnali chimici per comunicare, quando uno sarebbe sufficiente? La natura di un autoinduttore, AI-1 (autoinduttore-1), era nota, ma il secondo, AI-2, rimaneva sconosciuto. Il nostro laboratorio clonò il gene responsabile della sintesi di AI-2 e lo sequenziò. A quel tempo non esistevano banche dati che comprendevano le sequenze genomiche batteriche, ma solamente genomi parziali di 40 o 50 diverse specie batteriche. Ciononostante cercammo nelle banche dati incomplete se vi fossero sequenze corrispondenti alla nostra. Ricordo di essere stata seduta davanti al computer mentre scorrevano sullo schermo uno dopo l'altro i nomi dei batteri. Alla fine, ogni singolo batterio della banca dati possedeva un pezzo molto simile alla nostra sequenza di AI-2.



Bonnie Bassler  
[Fonte: fotografia di Paul Fetscher]

### ↑ Il momento della scoperta

Le svolte scientifiche rappresentano l'eccitante culmine di un enorme lavoro. Ogni capitolo si apre con la descrizione di un'importante scoperta in biologia molecolare, raccontata dallo scienziato protagonista di quella scoperta. Gli scienziati presentati nel *Momento della scoperta* sono: Norm Arnheim, Bonnie Bassler, Steve Benner, James Berger, Carlos Bustamante, Jamie Cate, Joe DeRisi, Myron Goodman, Lin He, Tracy Johnson, Melissa Jurica, Judith Kimble, Judith Klinman, Robert Lehman, Tim Lohman, Steve Mayo, Harry Noller, Lorraine Symington, Jack Szostak, Robert Tjian, Jonathan Widom e Wei Yang.

252 **CAPITOLO 7** Lo studio dei geni

**COME È STATO SCOPERTO**

**Un viaggio notturno su una strada costiera in California ha dato origine alla reazione a catena della polimerasi**

**Brock, T.D., e H. Freeze, 1969.** *Thermus aquaticus* gen. n. et sp. n., a non sporulating extreme thermophile. *J. Bacteriol.* 98: 289-297.

**Saiki, H.K., S. Scharf, F. Faloona, K.B. Mullis, G.T. Horn, H.A. Erlich e N. Arnheim, 1985.** Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science* 230: 1350-1354.

I grandi progressi a volte sono guidati dall'ispirazione. Nella primavera del 1983, Kary Mullis era un impiegato alla Cetus Corporation nella California settentrionale. Assunto nel 1979 per sintetizzare oligonucleotidi, Mullis si rese conto che, con una sempre maggiore automatizzazione nella sintesi degli oligonucleotidi, aveva più tempo per considerare altri progetti. S'interessò quindi alle tecniche per rilevare piccole differenze di sequenza nel DNA umano, ma all'inizio non ebbe molto successo. L'idea della reazione a catena della polimerasi venne a Mullis una notte, nell'aprile del 1983, mentre guidava con un amico lungo la costa. Mullis racconta: "Fermati la macchina e iniziai a disegnare molecole di DNA che si ibridavano e si allungavano in una reazione a catena in cui i prodotti di un ciclo diventavano gli stampi di quello successivo".

Il primo esperimento venne eseguito pochi mesi dopo e il primo lavoro sulla reazione a catena della polimerasi fu pubblicato nel 1985 in un articolo su *Science* che descriveva una nuova procedura per identificare una mutazione dell'emoglobina che portava all'anemia falciforme. Il metodo fu spiegato in maggiore dettaglio nelle pubblicazioni dei due anni successivi. Nei primi tentativi la polimerasi utilizzata era un frammento attivo della DNA polimerasi di *E. coli* (vedi Capitolo 11). La fase di riscaldamento necessaria alla denaturazione del DNA dopo ciascun ciclo di PCR inattiva questa polimerasi, che quindi doveva essere aggiunta nuovamente dopo ogni ciclo.

Un'altra vicenda dimostra come la ricerca di base può contribuire ai più importanti progressi con modalità sorprendenti. Circa due decenni prima dello sviluppo della PCR, il microbiologo Thomas Brock (della University of Wisconsin-Madison) aveva avviato alcuni studi sugli organismi delle sorgenti termali del Parco Nazionale di Yellowstone (Figura 2). Nella primavera del 1966, riuscì a coltivare un batterio - ottenuto da una piscina denominata Mushroom Spring - capace di crescere a tempera-



**FIGURA 2** Le sorgenti termali del Parco Nazionale di Yellowstone, una delle quali è mostrata in questa fotografia, sono state la fonte del batterio *Thermus aquaticus*. (Fonte: Fox71/Dreamstime.)

re maggiori di quanto ritenuto possibile per gli organismi viventi. Il nuovo batterio termofilo fu quindi denominato *Thermus aquaticus*. La stabilità al calore delle proteine di *T. aquaticus* divenne molto importante per lo sviluppo della PCR. La DNA polimerasi di questo batterio (*Taq* polimerasi) è stabile a temperature molto alte e non è inattivata nei cicli di riscaldamento e raffreddamento necessari per denaturare e riappaiare il DNA durante la PCR. Incorporazione della *Taq* polimerasi nel protocollo di PCR alla fine degli anni Ottanta ha permesso l'automatizzazione dell'intera procedura.

La tecnica della PCR è stata velocemente ottimizzata e i nuovi protocolli hanno aumentato progressivamente le sue possibili applicazioni. Alla fine degli anni Ottanta la tecnica aveva completamente trasformato le scienze biologiche.

## ← Come è stato scoperto

Ciascun capitolo termina con una sezione dal titolo *Come è stato scoperto* che combina le affascinanti storie della ricerca e dei ricercatori con i dati sperimentali che gli studenti devono analizzare.

**Gli studenti spesso vedono la scienza come una storia conclusa con un copione elementare.** I risultati sperimentali possono portare i ricercatori in direzioni inaspettate. Un esperimento progettato per verificare un'ipotesi può portare ad analizzare qualcosa di molto diverso. Saper analizzare i dati reali è una capacità fondamentale che ogni studente di materie scientifiche deve affinare. Abbiamo cercato di venire incontro a questa necessità in modo sistematico. Ogni capitolo di questo libro presenta un insieme di problemi da risolvere e, tra questi, almeno uno richiede l'analisi di dati ricavati dalla letteratura scientifica. Molti problemi sono comuni alle scoperte riferite nelle sezioni *Come è stato scoperto*. Ogni capitolo termina con una sezione di *Domande in attesa di una risposta*, che forniscono esempi delle continue sfide che restano aperte.

### DOMANDE IN ATTESA DI UNA RISPOSTA

L'organizzazione del DNA nei cromosomi è ancora in gran parte un mistero. A livello dei singoli segmenti di DNA, i dettagli di come i complessi di rimodellamento della cromatina e gli enzimi che modificano gli istoni controllino l'accesso al DNA devono ancora essere definiti. La via attraverso la quale i marcatori epigenetici sono interpretati è diventata solo recentemente oggetto di studio anche il modo attraverso il quale i marcatori epigenetici sono letti e come si correlino alle funzioni normali o patologiche è solo parzialmente conosciuto. È lecito attendersi un rapido susseguirsi di scoperte in questo eccitante campo della ricerca.

#### 1. Come è impacchettato il DNA nel cromosoma?

Oggi abbiamo una dettagliatissima conoscenza di come avvenga la condensazione del DNA a livello del nucleosoma. Ma la disposizione dei nucleosomi e il loro impacchettamento nella fibra da 30 nm determina una compattazione di sole 35-40 volte, ben lontano dalla condensazione di 10 000 volte necessaria per impacchettare il genoma all'interno di una cellula.

#### 2. In che modo i nucleosomi controllano l'espressione di singoli geni?

L'espressione dei geni è controllata da molti fattori, fra i quali anche le modificazioni delle code istoniche. Le singole modificazioni producono realmente una serie di cambiamenti distinti nella cromatina, come suggerito dall'ipotesi del codice istonico? E in caso affermativo, quali sono i passaggi che determinano l'espressione dei singoli geni?

#### 3. In che modo sono determinati i differenti stati epigenetici?

Esatto tipo e la combinazione di modificazioni istoniche che determinano i vari stati epigenetici sono poco conosciuti, eppure hanno una rilevanza primaria nel determinare lo stato di salute o di malattia nell'uomo. I profili epigenetici che sono ereditati attraverso le generazioni sono influenzati dai fattori ambientali? Le patologie che derivano da un certo stato epigenetico possono essere fatte regredire attraverso un approccio terapeutico? La comprensione di come gli stati epigenetici siano determinati e mantenuti sarà in futuro una delle scoperte più interessanti della ricerca.

## ← Domande in attesa di una risposta

Una breve sezione alla fine di ogni capitolo descrive aree importanti in cui c'è ancora molto da scoprire, il che dimostra agli studenti come perfino argomenti ben studiati, come la struttura degli acidi nucleici e la replicazione del DNA, siano ancora lontani dall'essere completamente chiariti.

## Problemi alla fine di ogni capitolo →

Un'ampia serie di problemi alla fine di ogni capitolo dà agli studenti l'opportunità di ragionare e lavorare sui concetti più importanti del capitolo. La sezione termina con un *Problema di analisi dei dati* che permette agli studenti di interpretare dati di ricerca reali. Le soluzioni ai problemi si trovano nel sito collegato al libro, all'indirizzo [online.universita.zanichelli.it/cox](http://online.universita.zanichelli.it/cox).

### PROBLEMI

- Quando le proteine sono incubate con il detergente sodio dodecil solfato (SDS), incorporano il detergente e sono parzialmente denaturate, perdendo gran parte della loro struttura, e tendono ad assumere un alto rapporto massiccia (vedi *Approfondimento 4.1*). Nella che ipotesi su gel di poliacrilammide in presenza di SDS, le proteine sono quasi del tutto separate in funzione della loro massa. Gli istoni sono un'eccezione. Su questi stessi gel molti istoni migrano molto più lentamente di come dovrebbero, come se fossero molto più grandi di quanto realmente non lo siano. Suggerire una spiegazione per questo comportamento.
  - Quali delle seguenti modificazioni: acetilazione, fosforilazione e metilazione, potrebbero cambiare la carica netta sulla superficie dell'istone modificato?
  - Nei batteri, la trascrizione di una serie di geni è influenzata dalla topologia del DNA, con l'espressione che aumenta o (molto spesso) diminuisce quando il DNA è rilassato. Quando un cromosoma batterico è tagliato in un sito specifico ad opera di un enzima di restrizione (un enzima che taglia una sequenza lunga e quindi rara), solo i geni vicini (entro le 10 000 bp) mostrano un aumento o una diminuzione dei loro livelli di espressione. La trascrizione dei geni posti altrove rimane inalterata. Fornire una spiegazione.
  - In regioni differenti della cromatina, il rapporto dell'istone H1 rispetto all'istone H2A potrebbe variare, ma il rapporto dell'istone H2A rispetto all'H2B è generalmente lo stesso. Se la quantità di H1 aumenta in una regione della cromatina, la trascrizione in quella regione aumenterà o diminuirà? Giustificare la risposta.
  - Nella cromatina i nucleosomi sono organizzati in una superstruttura, la fibra da 30 nm. Sebbene i dettagli della
- che sono trascrizionalmente attive e quelle nelle quali i geni sono silenziosi.
- In che cosa differisce la trasmissione epigenetica da quella mendeliana?
  - Durante la replicazione, i nucleosomi sono parzialmente rimossi e distribuiti sui filamenti nascenti di DNA. Le nuove subunità istoniche sono aggiunte in modo da completare i nucleosomi sul DNA. I nucleosomi sul DNA neo-replicato dovrebbero avere subunità istoniche modificate, ma i nuovi istoni che compaiono dopo la replicazione ne sono privi (almeno transitoriamente). Quali delle seguenti affermazioni descrive come le subunità istoniche modificate e non sono distribuite nei nucleosomi dopo la replicazione?
    - Gli istoni modificati e non sono assemblati casualmente nei nucleosomi.
    - Le subunità istoniche modificate rimangono compilate insieme nei nucleosomi e si separano dai nucleosomi non modificati.
    - I dimeri modificati H3-H4 rimangono associati, così come i dimeri H2A-H2B, e i nucleosomi si assemblano con dimeri H3-H4 e H2A-H2B modificati e non modificati. Le varie combinazioni avvengono casualmente su ciascuno dei due filamenti di DNA.
    - I nucleosomi modificati sono segregati su un cromosoma figlio e i nucleosomi completamente non modificati sono segregati sull'altro.
  - Il genoma umano contiene circa  $3,1 \times 10^9$  bp di DNA. Assumendo che il DNA sia coperto da nucleosomi spaziali secondo quanto descritto in questo capitolo, in che modo molte molecole dell'istone H2A sono presenti in una cellula somatica umana? (Non considerare alcuna riduzione nel H2A dovuta alla sua sostituzione da parte delle varian-

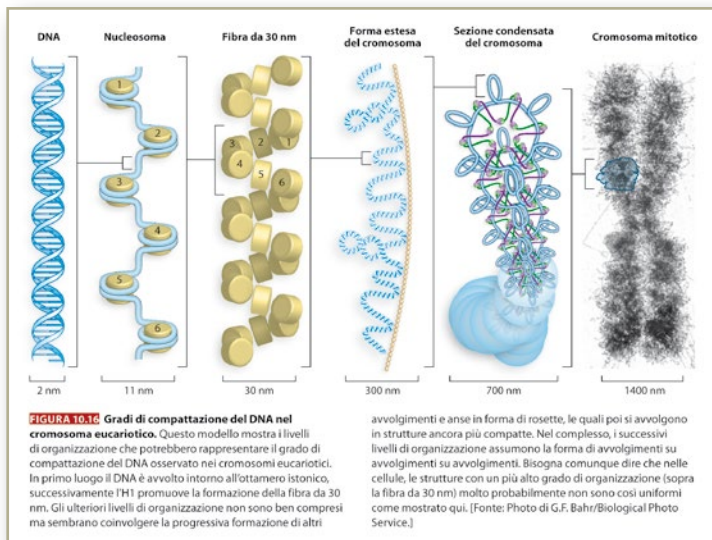
**Gli studenti si perdono nei dettagli.** Presentare i concetti principali in modo chiaro, nel testo così come nelle figure, è altrettanto importante dell'insegnamento dei procedimenti scientifici. Abbiamo cercato di utilizzare, per rendere agli studenti chiara la materia, un linguaggio diretto e uno stile semplice. Abbiamo lavorato fianco a fianco all'illustratore, Adam Steinberg, per avere figure chiare e pertinenti. Le sezioni *Per convenzione* esplicitano convenzioni in uso, ma spesso non dichiarate, usate quando vengono mostrate delle sequenze e strutture, o nella nomenclatura delle molecole biologiche.

#### ➔ PER CONVENZIONE

La rotazione attorno a due atomi legati da un doppio legame è limitata e impone che gli altri atomi attigui giacciono sullo stesso piano. Due atomi o gruppi di atomi adiacenti ad atomi legati da un doppio legame possono trovarsi sia in *cis* (dal latino "dallo stesso lato") che in *trans* ("dall'altro

#### ↑ Per convenzione

I brevi paragrafi *Per convenzione* spiegano in modo chiaro agli studenti alcuni principi fondamentali su cui spesso si sorvola.



#### ← Illustrazioni

Le illustrazioni dovrebbero parlare da sole. Abbiamo lavorato per renderle semplici e con legende più brevi possibile. Le illustrazioni nel testo sono il frutto di una stretta collaborazione con il nostro collega Adam Steinberg. Insieme ai bravissimi grafici della Dragonfly Media Group, Adam ci ha aiutato a perfezionare e migliorare il nostro progetto.

**Gli studenti vedono l'evoluzione come una teoria astratta.** Ogni volta che un biologo molecolare studia un processo di sviluppo nei nematodi, identifica porzioni importanti del sito attivo di un enzima determinando quali parti sono conservate tra le specie o cerca il gene responsabile di una malattia genetica umana, si basa sulla teoria evolutiva. *Evoluzione è un concetto fondamentale, su cui si basa qualunque disciplina delle scienze biologiche.* In questo testo l'evoluzione è un tema che si ripresenta in ogni capitolo, a cominciare da un'importante sezione nel Capitolo 1, per continuare come argomento di molti *Approfondimenti* e paragrafi nel testo.

#### Approfondimenti →

Queste discussioni hanno lo scopo di migliorare la comprensione dello studente e di aiutarlo a riconoscere l'importanza della materia trattata in ciascun capitolo. Ci sono quattro tipi di *Approfondimenti*:

- In *Medicina* sono analizzate le malattie che insorgono a causa di difetti in processi biochimici e si spiega come le scoperte della biologia molecolare abbiano contribuito a trattamenti farmacologici o di altro tipo.
- In *Tecnologia* l'attenzione è rivolta ad approcci di biologia molecolare all'avanguardia.
- In *Evoluzione* viene mostrato il ruolo della ricerca in biologia molecolare per la comprensione di processi chiave e delle connessioni tra organismi diversi.
- In *Uno sguardo da vicino* sono analizzati molti altri argomenti affascinanti.

#### APPROFONDIMENTO 6.2 TECNOLOGIA

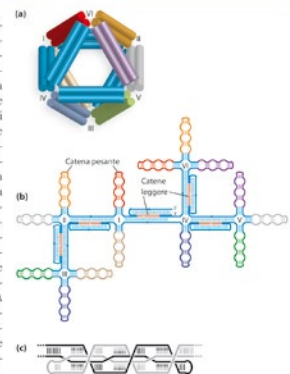
##### Progettazione di un DNA ottaedrico

La capacità di un DNA a singolo filamento di apparirsi specificamente con la sua sequenza complementare è essenziale per una replicazione accurata dell'informazione codificata. Gli scienziati si sono anche resi conto del fatto che l'appaiamento delle basi è una proprietà estremamente utile per assemblare diverse strutture tridimensionali del DNA, con scopi diversi che possono andare dal rinchiudere in una capsula e trasportare fino alla destinazione sostanze farmaceutiche fino all'informatica basata sul DNA. Il trucco consiste nel controllare le interazioni di appaiamento tra le basi per favorire la formazione delle conformazioni desiderate. Una sfida particolare consiste nel progettare sequenze che possano essere clonate e copiate dalle DNA polimerasi nelle cellule e che possano anche da sole assumere specifiche conformazioni tridimensionali.



Gerald Joyce [Fonte: per gentile concessione di Gerald F. Joyce, MD, PhD/The Scripps Research Institute.]

Nel 2004, Gerald Joyce e i suoi collaboratori allo Scripps Research Institute riuscirono a progettare una sequenza di DNA capace di formare un ottaedro in presenza di corti oligonucleotidi complementari. Il gruppo di ricerca sintetizzò una molecola di DNA a singolo filamento di 1669 nucleotidi contenente costanti sequenze autocomplementari da permettere un appaiamento specifico tra i segmenti (Figura 1). Per indurre una struttura tridimensionale, furono aggiunti cinque oligonucleotidi di 40 basi che, appaiandosi in punti diversi del DNA a 1699 nucleotidi, costituivano i montanti dell'ottaedro. Le miscelate di DNA furono scal-



**FIGURA 1** (a) La struttura di DNA ottaedrica tridimensionale progettata ha 12 montanti, le estremità dell'ottaedro (cilindri doppi), uniti da sei giunzioni flessibili (indicate con FV). Le unioni sono giunzioni a quattro vie che connettono le doppie eliche dello strato centrale di ciascun montante. I colori corrispondono ai segmenti colorati usati in (b), dove viene mostrata la struttura secondaria dell'intermedio di conformazione ramificata. Questo è costituito da una sola catena di DNA di 1669 nucleotidi (catena pesante) e cinque catene singole leggere di 40 nucleotidi. (c) Visione ravvicinata dello schema di appaiamento di ciascun montante. I colori nero e grigio indicano due parti separate del filamento di DNA che interagiscono per formare un montante. L'incrocio degli appaiamenti fornisce al montante la struttura e la forza. [Adattato da W.M. Shih, J. D. Quispe, e G.F. Joyce, *Nature* 427: 618-621, 2004, Fig. 1.]

## • Tecniche sperimentali

In qualità di ricercatori sappiamo che è di cruciale importanza comprendere i vantaggi e i limiti delle tecniche sperimentali. Ci sforziamo di comunicare agli studenti la logica con cui un esperimento è stato

progettato e che cosa rende appropriata una particolare tecnica, o conveniente un particolare organismo modello. Le tecniche analizzate in questo libro sono:

- Analisi del doppio ibrido nel lievito p. 246
- Analisi del triplo ibrido nel lievito p. 246
- Analisi dell'aplotipo p. 271
- Analisi di linkage p. 275
- Analisi filogenetica p. 272
- Chip di proteine p. 282
- ChIP-Chip p. 346
- ChIP-Seq p. 346
- Clonaggio del DNA mediante cromosomi artificiali (BAC, YAC) pp. 222-223
- Clonaggio del DNA p. 217
- Cristallografia a raggi X p. 122
- Cromatografia
  - Cromatografia a scambio ionico p. 101
  - Cromatografia di affinità p. 101
  - - Uso dei tag per la purificazione per affinità in tandem (TAP) p. 246
  - Uso di tag terminali p. 240
  - Cromatografia di esclusione p. 101
  - Cromatografia su colonna p. 100
  - Cromatografia su strato sottile p. 580
- DNA microarray p. 248
- Elettroforesi
  - Elettroforesi con sodio dodecil-solfato poliacrilammide (SDS-PAGE) p. 101
  - Elettroforesi su campo pulsato p. 224
  - Elettroforesi su gel bidimensionale p. 280
  - Elettroforesi su gel di agarosio p. 203
  - Isoelettrofocusing p. 280
- Elettroporazione p. 221
- Epitopo tag p. 242
- Espressione di una proteina ricombinante p. 233
- Footprinting del DNA p. 367
- Footprinting per protezione chimica p. 701
- Fotolitografia p. 248
- Genotipizzazione del DNA (impronta del DNA, profilo del DNA, analisi delle STR) p. 229
- Ibridazione su colonia p. 202
- Immunofluorescenza indiretta p. 242
- Immunoprecipitazione p. 245
- Individuazione delle proteine fuse al GFP p. 242
- Interferenza dell'RNA (RNAi) p. 781
- Interferenza della modificazione chimica p. 702
- Mutagenesi sito diretta p. 239
- Northern blotting p. 203
- PCR con la trascrittasi inversa (RT-PCR) p. 228
- Produzione di librerie di DNA (di cDNA, genomiche) pp. 224-225
- Profilo filogenetico p. 281
- Reazione a catena della polimerasi (PCR) p. 226
  - Pcr in tempo reale (o real-time PCR o PCR quantitativa, qPCR) p. 228
- Rilevazione dei segmenti del DNA ricchi di A=T mediante analisi di denaturazione p. 201
- Risonanza magnetica nucleare (NMR) p. 125
- RNA-Seq p. 278
- Saggio di cambiamento della mobilità elettroforetica (EMSA) p. 701
- Selezione e screening p. 221
- Sequenziamento del DNA
  - Pirosequenziamento p. 235
  - Sequenziamento di Sanger p. 231
  - Sequenziamento di Sanger automatizzato p. 232
  - Sequenziamento di seconda generazione p. 235
  - Sequenziamento di terminazione reversibile p. 236
- Tecniche di sequenziamento del genoma pp. 261-263
- Sintesi chimica degli acidi nucleici p. 206
- Southern blotting p. 203
- Spettrometria di massa p. 280
- Test di Ames p. 420
- Trappola ottica p. 344
- Trasferimento nucleare da cellule somatiche (SCNT) p. 533
- Trasformazione p. 221
- Western blotting p. 244

## • Il sito web

All'indirizzo [online.universita.zanichelli.it/cox](http://online.universita.zanichelli.it/cox) sono disponibili i test interattivi, il glossario, un'appendice sugli organismi modello, le soluzioni dei problemi, la

sitografia ragionata (in lingua inglese), i grafici animati (in lingua inglese).