

CORSO DI BIOLOGIA MOLECOLARE E LABORATORIO DI APPLICAZIONI BIOINFORMATICHE

Il corso di “Biologia molecolare e laboratorio di applicazioni bioinformatiche” (curriculum Biologia Molecolare e cellulare) è costituito da un modulo (8 CFU) di lezioni frontali, un modulo di esercitazioni in aula e ricapitolazioni (1 CFU) e da un modulo di Applicazioni bioinformatiche (3 CFU) di laboratorio/lezioni frontali.

CONOSCENZE:

Competenze teoriche ed operative dei meccanismi molecolari dei principali processi biologici che sono alla base del mantenimento dell'informazione genetica e della sua espressione in microrganismi, organismi animali e vegetali.

Conoscenza teorico/ pratica di metodologie biomolecolari e delle tecniche bioinformatiche di base di supporto all'analisi sperimentale.

CAPACITA'

Competenze applicative delle metodologie biomolecolari rivolte all'analisi del DNA.

Competenze applicative da impiegare nel campo delle discipline biomolecolari.

Analisi biologiche e biomediche

COMPORAMENTI

Valutazione, interpretazione di dati sperimentali di laboratorio, sicurezza in laboratorio, valutazione della didattica

PROPEDEUTICITA'

Si consiglia sia preceduto da Chimica Biologica e biochimica cellulare

PROGRAMMA

Modulo di Biologia molecolare

- Basi, nucleosidi, nucleotidi. Struttura primaria e secondaria degli acidi nucleici. Struttura tridimensionale del DNA a doppia elica: DNA B, DNA A e DNA Z. Strutture alternative alla doppia elica del DNA: DNA H, DNA cruciforme. Movimenti nel DNA. Strutture di RNA. Superstrutture del DNA. Parametri della superelica. Topoisomerasi.
- Processo di denaturazione del DNA. Temperatura media di fusione e %CG. Complessità del genoma. Cinetica di rinaturazione del DNA e determinazione del Cot. Analisi delle sequenze uniche e ripetute. Trasposoni. Dimensione dei genomi. Organizzazione del materiale genetico in virus e procarioti. Organizzazione del materiale genetico in eucarioti: cromatina, nucleosomi, istoni, cromosomi. Modifiche chimiche degli istoni (codice istonico) ed espressione genica. Geni e varianti istoniche.
- Duplicazione del DNA. Inizio, allungamento e termine. Esempi di meccanismi molecolari della duplicazione in virus, procarioti ed eucarioti. Proteine coinvolte nella sintesi duplicativa. DNA polimerasi di *E. coli* e loro caratteristiche. DNA polimerasi di eucarioti. Telomerasi.
- Tipi di RNA e loro abbondanza. Confronto della trascrizione in procarioti ed eucarioti. Trascrizione in procarioti: RNA polimerasi. Unità trascrizionale. Maturazione di trascritti di rRNA e tRNA. Cenni sulla regolazione della trascrizione in procarioti (operoni ed attenuazione). Trascrizione in eucarioti: RNA polimerasi I, II, III. Promotori specifici. Maturazione dei trascritti primari di mRNA, rRNA e tRNA. Fenomeni di editing. Concetto di introni. Meccanismi di cis-splicing in pre-mRNA, pre-tRNA e pre-rRNA. Splicing alternativi. Trans-splicing. Regolazione dell'espressione genica: struttura cromatinica e metilazione del DNA. Regolazione trascrizionale e fattori trascrizionali. Enhancer e silencer. Insulator. Regolazioni post-trascrizionali. Silenziamento genico (siRNA, microRNA). Stabilità e degradazione degli RNA in procarioti ed eucarioti.
- Utilizzo del codice genetico nella traduzione. Sintesi proteica in procarioti ed eucarioti. Attivazione degli aminoacidi ed aminoacil-tRNA sintetasi. Ribosomi. Inizio, allungamento e termine. Fattori coinvolti. Regolazione dell'espressione genica a livello traduzionale (da emina, ferro, da prodotto sul proprio mRNA). Maturazione post-traduzionale delle proteine. SRP.

- Virus a DNA. Virus ad RNA e replicasi. Retrovirus e trascrittasi inversa. Cenni su oncogeni.
- Famiglie geniche e meccanismi che ne regolano l'espressione (globine ed immunoglobuline). Strategie per la diversità anticorpale.
- Tecniche di base di Biologia molecolare e del DNA ricombinante. Analisi della sequenza del DNA manuale ed automatica. Nucleasi di restrizione e mappe di restrizione. Analisi di sequenze specifiche mediante blotting ed ibridazione con sonde specifiche (Southern, Northern e Western blotting). Preparazione delle sonde marcate con radioisotopi. Radioattività. Problematiche collegate al clonaggio del DNA. Tipi di vettori diversi. Preparazione di library genomiche e di cDNA. PCR, RT-PCR, real-time PCR. Metodi di studio dell'interazione DNA-proteine. Immunoprecipitazione della cromatina (ChIP).

Modulo di Applicazioni bioinformatiche

- Concetti introduttivi di informatica e bioinformatica. Ricerche in internet. Sequenze di acidi nucleici e proteine.
- Manipolazione di sequenze e analisi di base: editing; sequenza complementare; traduzione; analisi composizionali su sequenze nucleotidiche e amminoacidiche.
- Caratteristiche dei dati, approfondimenti sulle sequenze biologiche e loro contenuto informativo. I data base molecolari: Banche generali e banche specializzate; formati, interrogazione e deposito dati.
- Confronto di sequenze. Il dotplot. Algoritmi per l'allineamento di due sequenze. Allineamenti globali e allineamenti locali. Ricerca di informazioni mediante confronti di due sequenze.
- Confronti con banche dati. Allineamenti multipli. Creazioni di sequenze consenso.

MATERIALE DIDATTICO UTILIZZATO E CONSIGLIATO

- Watson J. D. et al. **Biologia molecolare del gene-** (2005) Editore Zanichelli, V Edizione
- Lewin B. **Il gene-** (2006) Editore Zanichelli, Edizione compatta
- Reece R.J. **Analisi dei geni e genomi**, (2006), EdiSES s.r.l.
- Appunti delle lezioni

MODALITA' VERIFICA E VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO

Esame orale.

La commissione d'esame, nominata dal CCS accerterà e valuterà collegialmente la preparazione dello studente attribuendo il voto finale sulla base di un adeguato numero di prove e di verifiche. La frequenza assidua e la partecipazione alle attività in aula e laboratorio sono considerati elementi positivi di valutazione.

COMPOSIZIONE DELLA COMMISSIONE PER LA VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO

2° e 3° gruppo: Laura Fucci (presidente), Francesco Aniello, Marina Piscopo, Maria Luisa Chiusano, Bruno Arcà, Rosanna del Gaudio, Rossella Di Giaimo.