

CORSO DI FONDAMENTI DI BIOLOGIA MOLECOLARE

Il corso di "Fondamenti di Biologia molecolare" (curriculum Biologia della nutrizione) è costituito da un modulo (8 CFU) di lezioni frontali e un modulo di esercitazioni in aula e ricapitolazioni (1 CFU).

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.

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 della nutrizione

PROGRAMMA

- 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-tRNAsintetasi. 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).

MATERIALE DIDATTICO UTILIZZATO E CONSIGLIATO

Il materiale didattico, consistente in tutte le diapositive mostrate al corso, e' disponibile al centro copie Testi

Biologia molecolare del gene - Watson 5° edizione Zanichelli

Analisi dei geni e genomi – Reece edises

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

Marina Piscopo (presidente), Laura Fucci, Francesco Aniello, Bruno Arcà, Maria Luisa Chiusano, Rosanna del Gaudio, Rossella Di Giaimo.