

**SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI BIOLOGIA
MOLECOLARE E BIOINFORMATICA
MOLECULAR BIOLOGY AND BIOINFORMATICS
Modulo Biologia Molecolare Avanzata
Advanced Molecular Biology**

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2019/2020

Docente: Prof. Caterina Missero

☎ 081-679064

email: caterina.missero@unina.it

SSD

CFU

Anno di corso

Semestre

Insegnamenti propedeutici previsti: NESSUNO

RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI

Conoscenza e capacità di comprensione (max 4 righe, Arial 9)

Lo studente deve dimostrare di comprendere e saper elaborare una discussione sulla struttura e dinamismo della cromatina e dei meccanismi trascrizionali di regolazione dell'espressione genica. Lo studente deve conoscere i più comuni approcci sperimentali e le tecnologie moderne che si utilizzano nel settore della biologia molecolare degli acidi nucleici.

The student should be able to elaborate a discussion on the structure and dynamism of chromatin and the transcriptional mechanisms of regulation of gene expression, and to master the most common experimental approaches and modern technologies that are used in the field of molecular biology of nucleic acids.

Conoscenza e capacità di comprensione applicate (max 4 righe, Arial 9)

Lo studente dovrà essere in grado di discriminare autonomamente fra le tecnologie apprese quali applicare e con quale criterio per risolvere un problema biologico complesso a livello molecolare. Dovrà inoltre essere in grado di valutare ed interpretare dati sperimentali e di letteratura.

The student must be able to discriminate independently between the technologies learned which to apply and with what criterion to solve a complex biological problem at the molecular level. He/she must also be able to evaluate and interpret experimental and literature data.

Eventuali ulteriori risultati di apprendimento attesi, relativamente a:

- **Autonomia di giudizio:** Saranno forniti gli strumenti necessari per consentire agli studenti di analizzare in autonomia e di giudicare i dati di letteratura. Lo studente dovrà essere in grado di collegare ed integrare i vari argomenti del corso sviluppando la propria capacità critica.
- **Independent thinking and critical assessment:** *The necessary tools will be provided to allow students to independently analyze and judge literature data. He/she must be able to connect and integrate the various topics of the course by developing his critical capacity.*
- **Abilità comunicative:** Lo studente deve saper spiegare a persone non esperte le nozioni apprese. Deve saper presentare o riassumere in maniera completa ma concisa i risultati raggiunti utilizzando correttamente il linguaggio tecnico. Lo studente è stimolato a familiarizzare con i termini propri della disciplina, e a trasmettere a non esperti i principi, i contenuti e le possibilità applicative con correttezza e semplicità.
- **Communication abilities:** *The student must be able to explain the concepts learned to non-experts. He must know how to present or summarize in a complete but concise way the results achieved by using the technical language correctly. The student is encouraged to become familiar with the proper terms of the discipline, and to pass on to non-experts the principles, contents and application possibilities in a simple way.*

**SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI BIOLOGIA
MOLECOLARE E BIOINFORMATICA
MOLECULAR BIOLOGY AND BIOINFORMATICS
Modulo Biologia Molecolare Avanzata
Advanced Molecular Biology**

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2019/2020

- **Capacità di apprendimento:** Lo studente dovrà essere in grado di aggiornarsi ed ampliare progressivamente le proprie conoscenze attingendo in maniera autonoma da testi ed articoli in lingua inglese. Dovrà essere in grado di seguire in maniera consapevole conferenze e seminari specialistici sugli argomenti del corso.
- **Learning abilities:** *The students must be able to keep up to date and progressively expand their knowledge by drawing independently from texts and articles in English. Students must be able to understand conferences and specialized seminars on the topics of the course.*

PROGRAMMA

Struttura di geni codificanti nel contesto genomico. Struttura del gene e dei suoi trascritti, promotore, enhancer, insulator
Regolazione della trascrizione. Meccanismi di attivazione e repressione della trascrizione. Elementi regolatori in cis. Funzione del Mediatore. (1 CFU)

Struttura del nucleosoma. Regolazione dell'accessibilità del DNA e posizionamento dei nucleosomi.

Il codice istonico: acetilazione, metilazioni, ed altre modificazioni degli istoni. Identificazioni di promotori ed enhancer mediante il codice istonico Famiglie delle acetilasi, deacetilasi e complessi trascrizionali. Modifiche post-trasduzionali di fattori di trascrizione. (1 CFU)

Metilazione degli istoni, eterocromatina costitutiva e facoltativa. Epigenetica, geni omeotici ed il complesso Titorax e del repressore Polycomb PRC1 e PRC2.

Esempi di modificazioni della cromatina in sistemi complessi. Identificazione di enhancer attivi nello sviluppo embrionale ed esempi di tali enhancer. Modificazione istoniche nel differenziamento delle cellule staminali: enhancer attivi, inattivi e domini bivalenti (1 CFU).

Identificazione di regioni non-codificanti regolatorie. Tramite il codice istonico, ATAC-seq e la conservazione durante l'evoluzione. Studio di regioni regolatorie in modelli animali. Esempi di regolazioni di enhancer distali (1 CFU)

Sequenziamento massivo parallelo di DNA ed RNA. Metodica Illumina per il sequenziamento di seconda generazione, e sequenziamento di terza generazione.

Progetto Encode. Identificazione di elementi funzionali nel genoma umano. Pervasità della trascrizione. Immunoprecipitazione della cromatina (ChIP), FAIRE. Identificazione di siti ipersensibili alla DNAsi. Identificazione di promotori target per enhancer distali (3C,5C e ChIA-PET). (1CFU)

Complessi di rimodellamento della cromatina ATP-dipendenti, Brg1 e Brm. Rimozione e spostamento dei nucleosomi.

Territori nucleari. Localizzazione nel nucleo dei cromosomi, domini associati con la lamina nucleare, disposizione delle sequenze Alu nel nucleo. Territori cromosomiali. Domini topologici, coesina, e CTCF. Transcription factories. (1 CFU)

RNA non codificanti. Cenni sui microRNA e altre categorie di piccoli RNA. Pseudogeni (Pten e BRaf), ceRNA ed altri RNA spugna. RNA circolari: generazione e funzione. Long non coding RNA: identificazione e localizzazione. Funzioni nella trascrizione, nel processamento del RNA, nel controllo della traduzione. Esempi. Xist e l'inattivazione del cromosoma X e Hotair. (1 CFU)

Modelli murini. Modelli murini transgenici, knock-out e knock-in. Ricombinazione omologa in cellule staminali.

Genome editing. Nucleasi Zinc-Finger e Talen. Sistema CRISPR/Cas9. Funzione naturale del sistema CRISPR nei batteri. Utilizzo nel genome editing in cellule eucariotiche, strategia e validazione. Formazione di indel e ricombinazione omologa, applicazioni per knock-out, knock-in, per modificare la trascrizione, e per tecniche di imaging. Utilizzo di CRISPR/CAS9 in modelli animali. (1 CFU)

Laboratorio. Estrazione di RNA, quantizzazione e retrotrascrizione. Real time RT-PCR e analisi (1CFU)

CONTENTS

**SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI BIOLOGIA
MOLECOLARE E BIOINFORMATICA
MOLECULAR BIOLOGY AND BIOINFORMATICS
Modulo Biologia Molecolare Avanzata
Advanced Molecular Biology**

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2019/2020

Structure of coding genes in the genomic context. Structure of the gene and its transcripts, promoters, enhancers, insulators
Regulation of transcription. Mechanisms of activation and repression of transcription. Cis-regulatory elements. Function of the Mediator complex. (1 CFU)
Structure of the nucleosome. Regulation of DNA accessibility and positioning of nucleosomes.
The histone code: acetylation, methylation, and other histone modifications. Identification of promoters and enhancer using the histone code. Families of acetylase and deacetylase. Sin3 complex, CtBP / CoREST, SIRT1 / LSD1, and Nurd / Mbd3. Acetylation of transcription factors: e.g. acetylation, phosphorylation and ubiquitination of the transcription factor p53. (1 CFU)
Histone methylation, constitutive and facultative heterochromatin. Epigenetics, Tritorax and Polycomb complexes.
Examples of chromatin modifications in complex systems. Identification of active enhancer in embryonic development and examples of such enhancer. Histone modification in the differentiation of stem cells: active and inactive enhancer, and bivalent domains. (1 CFU).
Identification of regulatory non-coding regions using the histone code, the 'hypersensitivity' to DNase and conservation during evolution. Study of regulatory regions in animal models. Examples of regulation of distal enhancer. (1 CFU)
Massively parallel sequencing of DNA and RNA. Pyrosequencing, Illumina system, and third-generation sequencing.
Encode project. Identification of functional elements in the human genome. Pervasita transcription. Chromatin immunoprecipitation (ChIP), FAIRE. Identification of DNase hypersensitive sites. Identification of target promoters for distal enhancer (3C, 5C and Chia-PET). (1 CFU)
Chromatin remodeling complexes ATP-dependent, e.g. BRG1 and BRM. Removal and displacement of nucleosomes.
Nuclear territories. Intra-nuclear localization of chromosomes, domains associated with the nuclear lamina, arrangement of Alu sequences in the nucleus. Chromosomal territories. Topological domains, cohesin and CTCF. Transcription factories. (1 CFU)
Non-coding RNAs. Outline of microRNAs and other categories of small RNAs. Pseudogenes (Pten and B-Raf), ceRNA and other sponge RNA. circular RNA: generation and function. Long non-coding RNA: identification and location. Role in transcription, in RNA processing, in translation control. E.g. Xist and the inactivation of the X chromosome, and Hotair. (1 CFU)
Murine models. Transgenic, knock-out and knock-in mouse models. Homologous recombination in stem cells.
Genome editing. Zinc-finger nucleases and Talen. CRISPR / Cas9 system. Natural function of CRISPR system in bacteria. Using genome editing in eukaryotic cells, strategy and validation. Formation of indels and homologous recombination, Applications for knock-out, knock-in, to modify the transcription, and for imaging techniques. Using CRISPR/ CAS9 in animal models. (1 CFU)
Practical course. RNA extraction, quantification, retrotranscription and real time RT-PCR with analysis

MATERIALE DIDATTICO

1. Course notes
2. Texts: Watson JD, Baker TA, Bell SP, Gann A, B Levine, R. Losick Molecular Biology of the Gene. Zanichelli
3. Articles and reviews given by the teacher.

FINALITA' E MODALITA' PER LA VERIFICA DI APPRENDIMENTO

- A)** L'esame di fine corso mira a verificare e valutare il raggiungimento degli obiettivi didattici elencati in grassetto nella sezione contenuti del programma.
- B)** Lo studente verrà interrogato sugli argomenti del corso utilizzando i quesiti elencati nella sezione domande frequenti per valutare il grado di completezza della sua risposta, il livello di integrazione tra i vari contenuti del corso, il raggiungimento da parte dello studente di una visione organica dei temi affrontati, la padronanza espressive e la proprietà nel linguaggio scientifico. La frequenza assidua ed il grado di partecipazione attiva in aula saranno elementi di valutazione positiva.

PURPOSES AND MODALITIES OF LEARNING VERIFICATION

- A)** The final examination is aimed to verify and evaluate the achievement of the educational learning targets listed in bold in the program contents section.
- B)** The student will be asked to answer to questions listed as " frequently asked questions" in order to evaluate the degree of completeness of the answers, the level of integration between the different topics of the course and the appropriateness of the scientific language used.
Regular attendance to the lessons and active participation during the classroom activities will be positively considered.

**SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI BIOLOGIA
MOLECOLARE E BIOINFORMATICA
MOLECULAR BIOLOGY AND BIOINFORMATICS
Modulo Biologia Molecolare Avanzata
Advanced Molecular Biology**

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2019/2020

Modalità di esame:

L'esame si articola in prova	Scritta e orale	X	Solo scritta		Solo orale	
The exam will be:	Written and oral	X	Written		oral	

In caso di prova scritta i quesiti sono (*)	A risposta multipla	X	Risposta libera		Esercizi numerici	
Written exam will be based on:	Multiple choice test		Free answer		Numerical exercises	

DOMANDE D'ESAME PIU' FREQUENTI

- Struttura del gene e dei suoi trascritti
- Regolazione della trascrizione
- Genome editing
- RNA non codificanti
- Identificazione di elementi regolatori
- Sequenziamento massivo parallelo
- Progetto ENCODE

FREQUENTLY ASKED QUESTIONS DURING EXAM

- Gene transcripts and structure
- Regulation of transcription
- Genome editing
- Non-coding RNAs
- Identification of regulatory elements.