



SCHEMA DELL'INSEGNAMENTO (SI)

BIOLOGIA MOLECOLARE AVANZATA

ADVANCED MOLECULAR BIOLOGY

SSD BIO11

DENOMINAZIONE DEL CORSO DI STUDIO: LAUREA MAGISTRALE IN BIOLOGIA

ANNO ACCADEMICO 2021-2022

INFORMAZIONI GENERALI - DOCENTE

DOCENTE: PROF. CATERINA MISSERO

TELEFONO: 081-679064

EMAIL: CATERINA.MISSERO@UNINA.IT

INFORMAZIONI GENERALI - ATTIVITÀ

ANNO DI CORSO: I

SEMESTRE (II):

CFU: 8

INSEGNAMENTI PROPEDEUTICI

Nessuno

EVENTUALI PREREQUISITI

Conoscenze della biologia molecolare di base

OBIETTIVI FORMATIVI

Il corso ha come obiettivo formativo quello di fornire conoscenze di base sulla regolazione dell'espressione genica in eucarioti. Si affronterà lo studio dei meccanismi della trascrizione e della traduzione e della regolazione post-trascrizionale e post-traduzionale e delle loro potenziali applicazioni. Il corso ha lo scopo di fornire allo studente le informazioni necessarie alla comprensione dei meccanismi molecolari alla base della regolazione dell'espressione genica. Obiettivo del corso sarà quello di permettere l'acquisizione da parte dei discenti, di conoscenze approfondite di biologia molecolare avanzata che permetteranno la comprensione articoli scientifici contemporanei. Attraverso la comprensione dei meccanismi molecolari alla base dell'espressione genica, sarà possibile guidare lo studente verso lo sviluppo di competenze specialistiche idonee alla valutazione dei principi fondanti dei meccanismi molecolari alla base dei processi cellulari negli organismi eucariotici.

The objective of the course is to provide basic knowledge on the regulation of gene expression in Eukaryotes. Mechanisms of transcription and translation, and of post-transcriptional and post-translational regulation and their potential applications will be addressed. The course aims to provide the student with the information necessary for understanding the molecular mechanisms underlying the regulation of gene expression. The aim of the course will be to allow students to acquire in-depth knowledge of advanced molecular biology in order to comprehend scientific articles. By understanding the molecular mechanisms underlying gene expression, it will be possible to guide the student towards the development of specialized skills suitable for the evaluation of the founding principles of the molecular mechanisms underlying cellular processes in eukaryotic organisms.

RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI (DESCRITTORI DI DUBLINO)

Conoscenza e capacità di comprensione

Lo studente dovrà dimostrare di comprendere e saper elaborare una discussione sulla struttura ed il dinamismo della cromatina e dei meccanismi trascrizionali e post-trascrizionali di regolazione dell'espressione genica. Lo studente dovrà inoltre 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. In addition, he/she will have to master the most common experimental approaches and modern technologies that are used in the field of molecular biology of nucleic acids

Capacità di applicare conoscenza e comprensione

Lo studente dovrà essere in grado di interpretare e valutare dati sperimentali molecolari e di letteratura nel quadro delle conoscenze attuali. Inoltre, dovrà aver capito come i risultati di biologia molecolare vengono presentati e discussi su una rivista scientifica internazionale ad alto profilo, e come si affronta un problema biologico complesso utilizzando il corretto approccio molecolare.

The student should be able to interpret and evaluate experimental and literature data within the framework of current knowledge. Furthermore, the student will have to understand how molecular biology results are presented and discussed in a high-profile scientific journal, and how a complex biological problem is addressed using the correct molecular approach.

PROGRAMMA-SYLLABUS

- **Struttura dei geni eucariotici:** Struttura dei geni codificanti e non codificanti nel contesto genomico dei vertebrati. Funzione degli RNA messaggeri, piccoli RNA non codificanti, long non-coding RNA, e

pseudogeni. Analisi della trascrizione e trascrittomica in cellule e tessuti umani in condizione fisiologiche e patologiche. Trascrittomica spaziale e tecnologie a singola cellula, metodi ed applicazioni. Banche dati di espressione genica a singola cellula (Tabula muris; Human Cell Atlas).(1 CFU)

- **Regolazione della trascrizione, struttura della cromatina ed epigenetica:** Sequenze regolatorie nel genoma, promotori ed enhancers prossimali e distali. Meccanismi di attivazione e repressione della trascrizione. Metilazione del DNA. Il codice istonico ed i complessi di rimodellamento della cromatina. Accessibilità della cromatina. Modifiche della cromatina in sistemi complessi. Progetto ENCODE. (1 CFU)
- **Basi molecolari del reprogramming ed organizzazione topologica del nucleo** Fattori pionieri, domini bivalenti, e superenhancer nell'identità cellulare. Meccanismi molecolari coinvolti nella generazione delle cellule indotte pluripotenti e nel loro differenziamento. Conversione diretta di cellule somatiche. Identificazione di interazioni tra regioni regolatorie, domini trascrizionali attivi (TADs), compartimenti nucleari, territori cromosomali. Matrice nucleare e domini associate con la lamina nucleare (LADs). Patologie associate ad alterazione topologiche. Tecniche di microscopia avanzata per studiare la dinamica delle interazioni e l'espressione genica.(1 CFU)
- **Regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica.** Splicing e spliceosoma. Meccanismi di splicing alternativi e funzione dei trascritti alternativi. Back-splicing e RNA circolari. RNA editing. Regolazione dell'espressione genica mediata da piccoli RNA (microRNA e siRNA), e da long non-coding RNA. Regolazione della traduzione, modifiche post-traduzionali, stabilità delle proteine, cenni di proteomica. Banche dati di espressione ed interazioni di proteine (UniProt, STRING, BioGrid, Human Protein Atlas).(1 CFU)
- **Applicazione di gene transfer e genome editing a modelli di patologie umane.** Genome editing in cellule somatiche ed in cellule germinali di mammifero. Generazione di modelli murini di patologie umane con la tecnica di CRISPR/Cas. (1 CFU)
- **Attività di approfondimento Lettura critica di lavori scientifici.** Presentazione di lavori scientifici da parte di singoli studenti e collettiva con utilizzo di approcci di didattica innovativa e di problem solving. Seminari di esperti. (2CFU)
- **Laboratorio ed esercitazioni** Disegno sperimentale per la quantizzazione di trascritti in linee cellulari di mammifero. Preparazione di mRNA, real time RT-PCR, analisi bioinformatica dei dati di real time RT-PCR. Disegno sperimentale ed interpretazione di dati di RNAseq e ChIP-seq. (1CFU)

CONTENTS

- **Structure of eukaryotic genes** Structure of coding and non-coding genes in the genomic context of vertebrates. Function of messenger RNAs, small non-coding RNAs, long non-coding RNAs, and pseudogenes. Transcription and transcriptomics analysis in human cells and tissues under physiological and pathological conditions. Spatial transcriptomics and single cell technologies, methods and applications. Single cell gene expression databases (Tabula muris; Human Cell Atlas).(1 CFU)
- **Transcription regulation, chromatin structure and epigenetics.** Regulatory sequences in the genome, promoters and proximal and distal enhancers. Mechanisms of activation and repression of transcription. DNA methylation. The histone code and chromatin remodeling complexes. Chromatin accessibility, chromatin modifications in complex systems. ENCODE project.(1 CFU)
- **Molecular basis of reprogramming and topological organization of the nucleus** Pioneer factors, bivalent domains, and superenhancer in cellular identity. Molecular mechanisms involved in the generation of induced pluripotent cells and their differentiation. Direct conversion of somatic cells. Identification of interactions between regulatory regions, active transcriptional domains (TADs), nuclear compartments, chromosomal territories. Nuclear matrix and domains associated with the nuclear lamina (LADs). Pathologies associated with topological alterations. Advanced microscopy techniques to study the dynamics of interactions and gene expression.(1 CFU)

- **Post-transcriptional regulation of gene expression.** Splicing and spliceosome. Alternative splicing mechanisms and function of alternative transcripts. Back-splicing and circular RNA. RNA editing. Regulation of gene expression mediated by small RNAs (microRNA and siRNA), and by long non-coding RNA. Translation regulation, post-translational modifications, protein stability, proteomics outline. Protein expression and interaction databases (UniProt, STRING, BioGrid, Human Protein Atlas). **(1 CFU)**
- **Application of gene transfer and genome editing to human disease models.** Genome editing in mammalian somatic and germ cells. Generation of mouse models with the CRISPR /Cas technique to mimic human diseases. **(1 CFU)**
- **Other activities Critical reading of scientific activities.** Presentation of scientific articles collectively by single students with a problem-solving methodology. Lectures of experts on specific topics. **(2CFU)**
- **Laboratory.** Experimental design for transcript quantification in mammalian cells. mRNA preparation, real time RT-PCR, and bioinformatics analysis. Design and interpretation of RNAseq and ChIP-seq experiments. **(1CFU)**

MATERIALE DIDATTICO

1. Testo: Biologia molecolare, Amaldi et al, Zanichelli, 2018
2. Articoli scientifici e reviews messi a disposizione dal docente
3. Note del corso

MODALITÀ DI SVOLGIMENTO DELL'INSEGNAMENTO

Il docente utilizzerà lezioni frontali, seminari di altri esperti del settore, e didattica interattiva anche con presentazioni degli studenti, esercitazioni e laboratori.

The course will include lectures, seminars by other experts in the field, student presentations, and practical sessions including laboratories.

VERIFICA DI APPRENDIMENTO E CRITERI DI VALUTAZIONE

a) Modalità di esame:

L'esame si articola in prova	
scritta e orale	x
solo scritta	
solo orale	
discussione di elaborato progettuale	x
altro	

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

b) Modalità di valutazione:

L'esame di fine corso mira a verificare e valutare il raggiungimento degli obiettivi didattici relativi agli argomenti riportati in grassetto nel programma. Durante la prova finale lo studente verrà interrogato sugli argomenti indicati nella sezione "domande di esame più frequenti". Sarà oggetto di valutazione il grado di completezza della risposta, il livello di integrazione tra i vari contenuti del corso e l'appropriatezza scientifica del linguaggio. Il raggiungimento da parte dello studente di una visione organica dei temi affrontati a lezione, congiunta alla loro utilizzazione critica, la capacità di fare collegamenti, la dimostrazione del possesso di una padronanza espressiva e di linguaggio specifico saranno valutati con voti di eccellenza. La frequenza assidua e la partecipazione alle

attività in aula saranno considerati elementi positivi di valutazione.

Evaluation

The final exam aims at verifying the achievement of educational targets related to the subjects highlighted in bold under contents. During the final examination, the student will be asked about the subjects indicated in the section “frequently asked questions during exam”. The degree of completeness of the answer, the level of integration between the different topics of the course and the scientific suitability of the speech will be assessed. The achievement of a comprehensive view of themes presented during lessons, together with their critical presentation, the ability to make connections, technical language skills, will be evaluated with excellent scores. The score will be given also taking into account the attendance to the course and the participation in the classroom activities.

DOMANDE D'ESAME FREQUENTI

Le domande frequenti sono i titoli di ciascuna sessione del programma:

Struttura dei geni eucariotici

Regolazione della trascrizione

Regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica.

Struttura della cromatina ed epigenetica.

Organizzazione topologica del nucleo.

Basi molecolari del reprogramming

Applicazione di gene transfer e genome editing a modelli di patologie umane.

FREQUENTLY ASKED QUESTIONS

Frequently asked questions are the titles of each session of the program:

Structure of eukaryotic genes

Transcription regulation

Post-transcriptional regulation of gene expression.

Chromatin structure and epigenetics.

Topological organization of the nucleus.

Molecular basis of reprogramming

Application of gene transfer and genome editing to human disease models

