

Programma del corso di Biologia molecolare 2013-2014

corso di laurea in Scienze Biologiche – III anno I gruppo – PROF.
ROSSELLA DI GIAIMO digiaimo@unina.it

COMPONENTI DEL GENOMA: LORO CARATTERISTICHE E ORGANIZZAZIONE

- Che cos'è un genoma. Definizione di genoma, trascrittoma e proteoma. Struttura chimica del DNA. Differenze tra DNA e RNA. Modello di Watson e Crick del DNA. Strutture generali e locali (tipo A, B, Z) e loro condizioni di esistenza. Organizzazione del materiale genetico in eucarioti ed in procarioti; relazione tra composizione di un DNA e sua densità e temperatura di fusione. Coefficiente di estinzione molare degli acidi nucleici e effetto ipercromico. Confronto tra genomi eucariotici. Tipi di geni di un genoma: dalle sequenze uniche alle sequenze ripetute. Organizzazione strutturale e funzionale della cromatina; dal nucleosoma cromosomi. Lo scaffold e gli istoni.

REPLICAZIONE DEL GENOMA

- Replicazione del DNA e sue caratteristiche fondamentali. DNA polimerasi. Meccanismo di inizio, allungamento e termine. Semiconservatività, semidiscontinuità e bidirezionalità nella sintesi del DNA. Telomeri e telomerasi. Topoisomerasi.

DAL GENOMA AL PROTEOMA

- La trascrizione. Vari tipi di RNA. RNA polimerasi e loro meccanismo di funzionamento. Confronto tra sistema procariotico ed eucariotico. Struttura dei promotori. Fattori trascrizionali generali e specifici. Maturazione dei trascritti. Dal gene all'mRNA.
- La traduzione. L'attivazione degli amminoacidi e amminoacil-tRNA sintetasi. Codice genetico.
- La sintesi proteica. Inizio, allungamento e termine della sintesi proteica. Differenze tra procari ed eucarioti. Cenni sulla stabilità e traducibilità di un mRNA.

MECCANISMI DI REGOLAZIONE DELL'ESPRESSIONE GENICA

- Accessibilità della cromatina. Modificazioni del DNA e degli istoni. Codice istonico. RNA interference e long non coding RNA nel controllo dell'espressione genica. Ruolo di enhancer e silencer.
- Cenni al Progetto ENCODE

I METODI BIOMOLECOLARI PER LA CARATTERIZZAZIONE DEL GENOMA

- Tecniche generali utilizzate in Biologia Molecolare (tipi di elettroforesi, tipi di centrifugazione). Metodi di estrazione e purificazione di acidi nucleici. Enzimi di restrizione e loro uso. Southern blot. Preparazione e uso di sonde per l'identificazione di acidi nucleici e proteine, tipi di marcatura di sonde e condizioni di ibridazione. Tipi di DNA polimerasi usate in laboratorio: Nick translation, random primer, PCR.
- Progetti di sequenziamento di genomi. Metodi di sequenziamento del DNA, dal metodo di Sanger ai metodi per next-generation sequencing.
- Problematiche collegate al clonaggio del DNA nei diversi tipi di vettori (plasmidi, virus), costruzione di genoteche e cDNateche analisi di sequenze specifiche mediante ibridazione con sonde radioattive e non-radioattive.
- Cenni sull'uso in biologia di virus come vettori di espressione.
- Microarrays.

I METODI BIOMOLECOLARI PER LA CARATTERIZZAZIONE DEL TRASCRITTOMA

- Analisi qualitative e quantitative degli RNA, RT-PCR e RACE. Real Time-PCR. Microarray, Northern blot, ibridazione in situ. Ruolo delle RNA polimerasi e loro uso in laboratorio, produzione di RNA sintetici (riboprobe).
- Metodi per lo studio della regolazione dell'espressione genica attraverso interazione DNA/proteine : Chromatin ImmunoPrecipitation assay (ChIP), EMSA e footprinting.
- Metodi di trasferimento di geni in cellule eucariotiche e problematiche dell'espressione in cellule animali. Vettori di espressione procariotici ed eucariotici. Esempi di produzione di molecole ricombinanti.
- Cenni sulla produzione di animali transgenici e KO.