

ANNO ACCADEMICO 2014-2015

Programma del corso di Biologia molecolare

Matricole **N88** del corso di laurea in Scienze Biologiche –**Il gruppo-**

Prof. **Rosanna del Gaudio** (rdelgaud@unina.it)

Le molecole informative. Struttura chimica degli acidi nucleici DNA e RNA e dei loro precursori nella rappresentazione di Haworth. Correlazioni tra composizione e finalità informative.

Dinamismo della struttura del DNA. Struttura A, B, Z. Superavvolgimento della doppia elica e strutture locali (forcina, H, slipped). Isomeri topologici. Ruolo delle topoisomerasi.

Duplicazione del DNA. Meccanismi di inizio, allungamento e termine. Le proteine e le attività enzimatiche coinvolte nella sintesi duplicativa. DNA polimerasi di *E.coli* e loro caratteristiche. DNA polimerasi di eucarioti. Semiconservatività. Discontinuità, semidiscontinuità, Bidirezionalità. Telomerasi, telomeri e loro mantenimento.

I nucleosomi nella duplicazione della cromatina di eucarioti.

I meccanismi per la sintesi di **riparazione** del DNA.

La metilazione del DNA. Funzione in procarioti ed eucarioti e suo **ruolo** nella regolazione dell'espressione genica.

Tipi di RNA nelle cellule: abbondanza, caratteristiche, localizzazioni e funzioni.

La Trascrizione in procarioti. RNA polimerasi e suo meccanismo. Concetto di trascritto primario. Funzioni regolate nell'espressione.

La Trascrizione in eucarioti: RNA pol. I, I e III. Motivi e domini di fattori trascrizionali per la RNA pol II. Passi di **maturazione** di trascritti primari per mRNA, tRNA e rRNA modifiche di basi. Capping, poliadenilazione. **Splicing** e sue varianti. **Editing** di RNA. Organizzazione di mRNA maturi e controlli post trascrizionali (stabilità, interferenza dell'RNA). Complesso dei meccanismi di regolazione dell'espressione genica in eucarioti.

Il codice genetico.

La traduzione: attivazione degli aminoacidi e le aminoacil-tRNA sintetasi.

I ribosomi procariotici ed eucariotici

Meccanismi di **sintesi proteica** in procarioti e in eucarioti. Inizio, allungamento e termine e relativi fattori coinvolti in procarioti e in eucarioti.

Maturazione post-traduzionale delle proteine e segnali di localizzazione

Sistemi di **espressione eterologa** in procarioti e in eucarioti

Retrovirus. Ciclo vitale e trascrittasi inversa. Geni v-onc e c-onc.

Tecniche di base di Biologia Molecolare e del DNA ricombinante.

● **Preparazione di DNA (genomico e plasmidico) e di RNA. Southern, Northern e Western blotting.** Sonde e loro marcatura.

● **Le nucleasi di restrizione. Mappe di restrizione.**

- Il clonaggio: vettori e ospiti. Genoteche genomiche e di cDNA.
- Metodi per la determinazione della sequenza del DNA.
- I metodi per lo studio dell'interazione DNA-proteine (EMSA, *Footprinting*, Interferenza della metilazione, CHIP)
- La PCR, RT-PCR, RFLP e derivati.

Esercitazioni pratiche su:

- Mappe di restrizione
- Lettura di sequenze di DNA direttamente da lastra autoradiografica o elettroferogramma
- Allestimento di esperimenti di idrolisi con enzimi di restrizione di DNA genomico e plasmidico.
- Elettroforesi in gel di agarosio.
- Bioinformatica :Interrogazione di banche dati. Confronto fra sequenze nucleotidiche e amminoacidiche. Allineamento globale e locale significato biologico dell'allineamento
- Allineamento multiplo di sequenze con Clustal W.