

Scheda dell'insegnamento di Biologia molecolare e laboratorio

Corso di studio: Biologia

Laurea

A.A. 2019/2020

Docente: _____



☐☐ email: _____

SSD

CFU

Anno di corso

Semestre

Insegnamenti propedeutici suggeriti: Chimica organica e laboratorio, Biochimica e laboratorio

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

Lo studente deve dimostrare di comprendere e conoscere a livello di base le problematiche relative ai meccanismi molecolari dei principali processi biologici implicati nel mantenimento dell'informazione genetica e della sua espressione in microrganismi, organismi animali e vegetali e le problematiche relative alle tecniche più comuni in campo molecolare. Deve dimostrare di sapere presentare e discutere in modo chiaro, semplice e sintetico gli argomenti trattati nel corso ed elaborare discussioni su tali argomenti anche con capacità critica.

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

Lo studente deve dimostrare di essere in grado di progettare e risolvere problemi concernenti le problematiche molecolari acquisite nel corso e di realizzare in sicurezza esperimenti che utilizzino le metodologie di base molecolari rivolte all'analisi del DNA, del RNA e delle proteine, applicando il sapere anche in ambito diagnostico, alimentare, ambientale e industriale.

Eventuali ulteriori risultati di apprendimento attesi, relativamente a:

Autonomia nel giudizio

Lo studente deve essere in grado di sapere elaborare in maniera autonoma le informazioni acquisite durante il corso in modo da indicare anche i principali approcci metodologici pertinenti a progettare esperimenti riguardanti la visione molecolare della biologia e di valutare in autonomia i risultati sperimentali.

Abilità comunicative

Lo studente deve saper spiegare a persone non esperte, in modo corretto e semplice, le nozioni di base relative ai principali processi molecolari alla base del mantenimento dell'informazione genetica e della sua espressione. Deve saper presentare un elaborato (ad esempio in sede di esame o durante il corso) o riassumere in maniera completa e sintetica i risultati raggiunti utilizzando correttamente il linguaggio tecnico.

Capacità di apprendimento:

Lo studente deve essere in grado di aggiornarsi o ampliare le proprie conoscenze attingendo in maniera autonoma a testi e articoli scientifici propri del settore molecolare, e deve poter acquisire in maniera graduale la capacità di seguire seminari specialistici, conferenze, master ecc. nei settori di Biologia molecolare.

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. Dinamismo della struttura del DNA. Strutture di RNA. Superstrutture del DNA. Parametri della superelica. **Topoisomerasi.** (1CFU)

Rinaturazione del DNA. Denaturazione del DNA. 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. (1,5CFU)

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.** (1CFU)

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 (iRNA, microRNA). lncRNA. *Stabilità e degradazione degli RNA in procarioti ed eucarioti.* (2,5 CFU)

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.* Maturazione post-traduzionale delle proteine. SRP. (1CFU)

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*). (0,5CFU)

Tecniche di base di Biologia molecolare e del DNA ricombinante. Determinazione 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 e Northern blotting).** *Preparazione di sonde. Radioattività.* **Problematiche collegate al clonaggio del DNA.** *Tipi di vettori diversi.* Preparazione di library genomiche e di cDNA. **PCR e sue applicazioni, real-time PCR. Metodi di studio dell'interazione DNA-proteine.** Immunoprecipitazione della cromatina (ChIP). Microarray. CRISPR-cas9. (1,5CFU)

Esercitazione: Minipreparazione di DNA plasmidico su cui effettuare una mappa di restrizione, dopo aver eseguito digestione con enzimi di restrizione e relativa separazione dei frammenti mediante elettroforesi su gel d'agarosio. (1CFU)

CONTENTS

Bases, nucleosides, nucleotides. Primary and secondary structure of the nucleic acids. Three-dimensional structure of double helix: B-DNA, A-DNA and Z-DNA. Alternative structure of the DNA double helix: H-DNA, Cruciform structure. Dynamics of DNA structure. RNA structures. Supercoiled DNA structures. Superhelix parameters. Topoisomerases. (1CFU)

DNA renaturation process. DNA denaturation process. Melting temperature and %CG content. Genome complexity. DNA kinetic reannealing e Cot study. Repetitive and unique sequences. Transposons. Genome sizes. Genome organization in viruses and prokaryotes. Genome organization in eukaryotes: chromatin, nucleosomes, histones, chromosomes. Chemical modifications of histones (histone code) ed regulation of gene expression. Genes and histone variants. (1.5CFU)

DNA replication. Initiation, elongation and termination stages. Examples of replication mechanisms in viruses, prokaryotes and eukaryotes. Proteins involved in prokaryotes and eukaryotes. DNA replication. Telomerase. (1CFU)

Types and amounts of transcripts. Transcription in prokaryotes and eukaryotes. Transcription in prokaryotes: RNA polymerases. Transcription unit. Processing of pre-rRNA and pre-tRNA. Transcriptional regulation in prokaryotes (operons and attenuators). Transcription in eukaryotes: RNA polymerase I, II, III. Promoters. Processing of pre-mRNA, pre-rRNA and pre-tRNA. Editing. Introns. Mechanisms of pre-mRNA, pre-tRNA e pre-rRNA cis-splicing. Alternative splicing. Regulation of gene expression: chromatin structure and DNA methylation. Transcriptional regulation and transcriptional factors. Enhancer e silencer. Insulator. Post-transcriptional regulation. Gene silencing (iRNA, microRNA). lncRNA. RNA stability and degradation in prokaryotes and eukaryotes. (2.5CFU)

Genetic code. Protein synthesis in prokaryotes and eukaryotes. Aminoacid activation and aminoacyl-tRNA synthetases. Ribosomes. Initiation, elongation and termination stages and involved factors. Gene expression regulation at level of translation. Post-translational processing of proteins. SRP. (1CFU)

DNA viruses and replicase. Retroviruses and inverse transcriptase. Oncogenes. Gene families and mechanisms of regulation of gene expression (*globins*). (0.5CFU)

Molecular Biology and recombinant DNA technology. DNA sequencing. Restriction endonucleases and restriction maps. Southern e Northern blotting. Probes preparations. Radioactivity. DNA cloning technology. Various types of cloning vectors. Genomic and cDNA libraries. PCR and applications, real-time PCR. Methods for the study of protein-DNA interactions. Chromatin immunoprecipitation (ChIP). Microarray. CRISPR-cas9. (1,5CFU)

Laboratory: Miniprep of plasmid DNA, Construction of restriction map after DNA digestion with restriction endonucleases and electrophoresis on agarose gel. (1CFU)

Materiale didattico

LIBRI DI TESTO: Biologia molecolare, Amaldi et al, Zanichelli, 2018- Biologia molecolare, Capranico et al., EdiSES 2016- Biologia molecolare del gene, Watson et al., Zanichelli, 2015- Il gene, edizione compatta, Lewin B., Zanichelli, 2011- Dai geni ai genomi, Dale J.DW., EdiSES, 2013- Genomi 4, Brown T.A., EdiSES , 2018- Appunti

a) Modalità di esame:

L'esame si articola in prova	Scritta e orale	
Discussione di elaborato progettuale		
Altro, specificare		
In caso di prova scritta i quesiti sono (*)	A risposta multipla	

Solo scritta	
A risposta libera	

Solo orale	X
Esercizi numerici	

(*) E' possibile rispondere a più opzioni