



# UNIVERSITÀ DI PISA

---

## BIOLOGIA MOLECOLARE

### LUCIANA DENTE

Anno accademico	2020/21
CdS	SCIENZE BIOLOGICHE
Codice	069EE
CFU	9

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
BIOLOGIA MOLECOLARE	BIO/11	LEZIONI	84	LUCIANA DENTE

#### Obiettivi di apprendimento

##### *Conoscenze*

Vengono fornite nozioni di base sulla struttura e le funzioni delle macromolecole biologiche, in particolare: proteine, ed acidi nucleici. Vengono analizzati i meccanismi molecolari che permettono la decodificazione dell'informazione genetica da DNA a RNA a proteine e la regolazione dell'espressione genica, sia in procarioti che in eucarioti. Particolare attenzione è volta alla descrizione dei metodi di studio di base delle macromolecole biologiche informative e delle principali tecniche del DNA ricombinante. Scopo del "Laboratorio" è far acquisire la conoscenza pratica e teorica delle principali operazioni di manipolazione del DNA, tramite l'apprendimento diretto di specifiche metodologie.

##### *Modalità di verifica delle conoscenze*

Durante l'esame verrà verificato il livello di conoscenza teorica degli argomenti elencati nel programma dettagliato. Particolare importanza verrà data alle conoscenze dei meccanismi che regolano il funzionamento degli organismi a livello molecolare, con particolare riguardo ai processi di replicazione, trascrizione, traduzione e regolazione dei geni.

##### *Capacità*

Al termine del corso:

- lo studente avrà acquisito le nozioni di base sulla struttura e il funzionamento dei geni, sulla regolazione dell'espressione in cellule e tessuti diversi.
- lo studente sarà in grado di effettuare un esperimento di trasformazione in batteri e successiva analisi dei cloni ricombinanti.
- lo studente sarà in grado di effettuare un'analisi elettroforetica di DNA plasmidico, utilizzando gel di agarosio.

##### *Modalità di verifica delle capacità*

- Durante le sessioni di laboratorio lo studente dovrà essere capace di effettuare gli esperimenti previsti.
- Tramite il compito scritto verrà verificato il livello di apprendimento delle tecniche mostrate durante il laboratorio. Verranno poste specifiche domande sulle conoscenze di base di Biologia Molecolare e sulle attività pratiche eseguite in laboratorio.

##### *Comportamenti*

- Lo studente potrà acquisire la capacità di lavorare in coppia o in piccoli gruppi per eseguire gli esperimenti durante il laboratorio.

##### *Modalità di verifica dei comportamenti*

- Durante le sessioni di laboratorio saranno valutati il grado di accuratezza e precisione delle attività svolte

##### *Prerequisiti (conoscenze iniziali)*

Prerequisito cruciale è che lo studente abbia acquisito le conoscenze di base di Chimica Inorganica-Organica e di Citologia/Istologia

##### *Indicazioni metodologiche*

- si svolgono le lezioni frontali, con ausilio di slide e filmati



## UNIVERSITÀ DI PISA

- si svolgono esercitazioni in aula e laboratorio (si formano gruppi per effettuare direttamente esperimenti di Biologia Molecolare.
- vengono utilizzate apparecchiature di base dei laboratori di Biologia Molecolare
- Viene fornito aiuto da personale di supporto o da codocenti
- Il sito Moodle (<https://polo3.elearning.unipi.it>) e-learning del corso viene utilizzato per: scaricamento materiali didattici, comunicazioni docente-studenti, pubblicazione dei risultati di compiti scritti, formazione di gruppi di lavoro per i turni di laboratorio.
- Per l'interazione tra studente e docente vengono utilizzati gli orari di ricevimento e l'uso della posta elettronica.

### Programma (contenuti dell'insegnamento)

#### PRIMA PARTE

Caratteristiche generali delle macromolecole biologiche:

#### DNA

- Costituenti, struttura e proprietà chimico-fisiche del DNA
- Esperimento di Griffith. Scoperta del DNA
- Modello di Watson e Crick. Strutture a doppia elica alternative.
- Concetti di base sulla sintesi e la degradazione del DNA
- Complementarietà delle basi
- Denaturazione e rinaturazione del DNA.
- Concetto di identità tra due sequenze
- Enzimi di restrizione e modificazione.
- Digestione del DNA con enzimi di restrizione. Palindromi e tipi di taglio
- Esempi di mappe di restrizione .
- Tecniche di elettroforesi su gel. Southern transfer

#### RNA

- Decodificazione dell'informazione genetica: da DNA a RNA a proteine.
- Codice genetico: regole. Tabella e triplette.
- Concetto di gene. Esoni e introni.
- Caratteristiche degli mRNA (Capping e poliadenilazione)
- Caratteristiche strutturali dei tRNA.
- Amminoacil tRNA sintetasi.
- RNA ribosomiali e ribosomi. Differenze tra procarioti ed eucarioti.

#### PROTEINE

- Caratteristiche principali degli amminoacidi
- Legami presenti nelle proteine
- Livelli di organizzazione strutturale. Domini proteici.

#### Tecnologie del DNA Ricombinante

- Metodi di Sequenziamento: chimico ed enzimatico
- Tecnica della PCR
- Vettori di clonaggio: Fagici- plasmidici- misti (fagemidi, cosmidi, Yac, BAC.)
- Metodi per creare molecole ricombinanti.
- DNA ligasi
- Trasformazione e infezione.
- Metodi di purificazione del DNA plasmidico
- Metodi per identificare molecole ricombinanti
- Progettazione di sonde
- Genoteche di DNA genomico
- Genoteche di cDNA

(Il compito scritto è relativo agli argomenti elencati nella prima parte del programma)

#### SECONDA PARTE

#### Sintesi proteica:

- Fase inizio: tRNA iniziatore e fattori accessori
- Fase di allungamento e fattori coinvolti.
- Antibiotici capaci di intervenire nelle diverse tappe della sintesi.
- Fase di terminazione della traduzione e fattori coinvolti.
- Interpretazione del codice genetico. Concetto di ORF (open reading frame)
- tRNA soppressori. Fenomeno dell'oscillazione (wobble)
- Differenze nel codice genetico nei mitocondri.

#### Replicazione .

- Repliconi e origini di replicazione (batteri, lievito, eucarioti)
- Mutanti ad arresto lento e ad arresto veloce
- Tipi e caratteristiche delle DNA polimerasi
- Meccanismi di replicazione nei batteri, nei fagi filamentosi e litici, negli eucarioti.
- Terminazione della replicazione. Proteine terminali.
- Telomeri e telomerasi

#### Trascrizione e sua regolazione nei procarioti:

- RNA polimerasi e fattori associati.
- Tappe del meccanismo di trascrizione



## UNIVERSITÀ DI PISA

---

- Concetto di promotore e sequenze consenso.
- Struttura e funzione del fattore sigma.
- Terminatori intrinseci e rho dipendenti.
- Operoni batterici. Esempi di regolazione (operoni lac e trp;)
- Strategie fagiche: ciclo litico e lisogenico.
- Metodi di analisi della trascrizione (gel shift, footprinting )
- Topoisomerasi e superavvolgimenti

### **Trascrizione e sua regolazione negli eucarioti.**

- RNA polimerasi I, II, III e fattori associati
- Promotori ed enhancers
- Struttura e funzione dei fattori trascrizionali
- "Motivi" strutturali conservati
- Metodi di analisi della trascrizione. (mutanti di delezione, geni reporter, etc...)
- Meccanismi epigenetici: effetti del rimodellamento della cromatina sulla trascrizione.
- Metilazione del DNA

### **Regolazione post-trascrizionale.**

- Metodi di studio dello splicing
- Splicing nucleare, "spliceosomi"
- Splicing di tipo I e II.
- Splicing dei tRNA
- RNA regolatori: differenze tra miRNA e siRNA
- Cenni sui vari tipi di ncRNA

### **Bibliografia e materiale didattico**

- **Amaldi** et al. *Biologia Molecolare* (ed. Ambrosiana)
- **Lewin B.**: "Il Gene VIII o X" (ed. Zanichelli)
- **Watson J**: "Biologia Molecolare del Gene" (ed. Zanichelli)
- **Dale** - von Schantz: "Dai geni ai genomi" (ed. Edises)

#### *Materiale didattico:*

articoli scientifici originali e pdf delle lezioni sul sito <https://polo3.elearning.unipi.it>

### **Indicazioni per non frequentanti**

I testi consigliati includono i vari argomenti trattati a lezione.

Le lezioni sono facoltative, ma permettono di focalizzare la preparazione su aspetti specifici dei vari argomenti.

Il laboratorio è obbligatorio. Il compito scritto è obbligatorio e deve precedere l'esame orale.

### **Modalità d'esame**

*Attualmente (2020) viene fatto tutto in remoto, mediante colloquio orale.*

*Tornando alla normalità si prevede come negli anni precedenti: compito scritto + colloquio orale. Il colloquio orale può essere sostenuto contemporaneamente, oppure in un appello successivo a quello del compito.*

Il compito scritto consiste in domande specifiche su argomenti elencati nella prima parte del programma e su argomenti trattati durante l'esperienza di laboratorio.

Il colloquio orale prevede la revisione del compito scritto e domande su tutto il programma.

*Ultimo aggiornamento 15/09/2020 11:13*