UNIVERSITÀ DI PISA

BIOLOGIA MOLECOLARE

CHIARA GABELLINI

Academic year	2023/24
Course	SCIENZE BIOLOGICHE
Code	069EE
Credits	9

Modules	Area	Type	Hours	Teacher(s)
BIOLOGIA MOLECOLARE	BIO/11	LEZIONI	84	SARA DE VINCENTIIS CHIARA GABELLINI SOULTANA KONSTANTINIDOU

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 informazionali e delle principali tecniche del DNA ricombinante. Scopo del "Laboratorio" e' 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 genomi.

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.
Durante l'esame orale 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 di 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.
Lo studente è invitato a verificare l'esistenza di eventuali propedeuticità consultando il Regolamento del Corso di studi relativo al proprio anno di immatricolazione. Un esame sostenuto in violazione delle regole di propedeuticità è nullo (Regolamento didattico d'Ateneo, art. 24, comma 3).

Indicazioni metodologiche
Si svolgono le lezioni frontali, con ausilio di slide e filmati.

Si svolgono esercitazioni in aula e laboratorio (si formano gruppi per effettuare direttamente esperimenti di Biologia Molecolare.
Vengono date indicazioni di utilizzo delle apparecchiature di base dei laboratori di Biologia Molecolare.
Personale di supporto e codocenti supporteranno la titolare del corso, specialmente per quanto riguarda le attività di laboratorio sperimentale e le esercitazioni, ovvero lezioni con connotazione pratica.
Il sito Moodle (https://polo3.elearning.unipi.it) e-learning del corso viene utililzzato 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 viene utilizzata la posta elettronica per organizzare sessioni di ricevimento, sia in presenza sia utilizzando la piattaforma Teams.

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

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
- 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

Cenni all'editing genico: tecnica CRISPR/Cas9

Bibliografia e materiale didattico

Libri di testo:

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

Altro 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, da integrarsi con le diapositive mostrate dal docente, caricate in formato PDF su piattaforma Moodle.
Le lezioni sono facoltative, ma permettono di focalizzare la preparazione su aspetti specifici dei vari argomenti.
Il laboratorio ha frequenza obbligatoria. Contattando la docente verrà fatto il possibile per venire incontro agli studenti, in particolare per conciliare gli orari di laboratorio con gli impegni lavorativi.
Esame orale.

Modalità d'esame

Esame orale con domande su tutto il programma e sui laboratori

Note

Commissione di esame
Presidente: Chiara Gabellini
Due membri: Sara De Vincentiis, Soultana Konstantinidou

Presidente supplente: Vittoria Raffa
Due membri supplenti: Alice Usai, Erica Lucia Crapanzano

UNIVERSITÀ DI PISA

Ultimo aggiornamento 01/09/2023 12:29