



# UNIVERSITÀ DI PISA

---

## GENETICS AND MOLECULAR BIOLOGY

### COSMERI ANNA RIZZATO

Anno accademico	2023/24
CdS	BIOTECHNOLOGIES AND APPLIED ARTIFICIAL INTELLIGENCE FOR HEALTH
Codice	549EE
CFU	12

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
GENETICS AND GENOMICS	BIO/18	LEZIONI	52	COSMERI ANNA RIZZATO
MOLECULAR BIOLOGY	BIO/11	LEZIONI	52	ANDREA CERASE

#### Obiettivi di apprendimento

##### *Conoscenze*

Genetica: Lo studente alla fine della parte semestrale del corso avrà acquisito le conoscenze di base della Genetica. Lo studente che completa con successo il corso avrà la capacità di definire l'eredità dei tratti mendeliani e dell'eredità sessuale. Inoltre sarà in grado di dimostrare una solida conoscenza delle basi molecolari della variazione genetica, interazioni allele e geniche, mappatura cromosomica eucariotica, mutazioni geniche e cromosomiche e loro effetti fenotipici, genetica delle popolazioni; infine sarà a conoscenza dei metodi di base dell'analisi delle mutazioni geniche e cromosomiche.

Biologia Molecolare. Concetti fondamentali. Biologia molecolare di base. DNA, DNA replication, Chromatin. RNA, Transcription. Protein, Translation.

Molecular Biology. Main topics: Basic molecular Biology. DNA, DNA replication, Chromatin. RNA, Transcription. Protein, Translation.

Lo studente che completa con successo il corso avrà conoscenze di base di Biologia Molecolare.  
The student who successfully completes the course will have basic knowledge of Molecular Biology

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

Genetics:

Mediante esame scritto lo studente deve dimostrare la capacità di mettere in pratica ed eseguire con consapevolezza critica le attività illustrate o svolte sotto la guida del docente durante il corso.

Mediante un esame orale (opzionale) può raffinare la valutazione dello scritto.

metodi:

Prova scritta finale (che include anche ciò che è stato effettuato nelle attività di esercitazione, per modulo di Genetica)

Prova orale finale (facoltativa)

Biologia Molecolare: prova orale.

Molecular Biology: Oral examination only.

##### *Capacità*

Genetica: Lo studente acquisisce la capacità di risolvere i problemi della genetica mendeliana, i geni associati e come mappare i geni nei genomi con i metodi classici degli incroci.

Biologia Molecolare: Lo studente acquisisce conoscenze di base in Biologia Molecolare.

Molecular Biology. The student who successfully completes the course will have basic knowledge of Molecular Biology.

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

Genetica: La verifica delle capacità acquisite avviene tramite la prova di esame con esercizi e domande aperte.

Molecular Biology: The assessment of acquired skills is carried out through the oral examination and open-ended questions.



## UNIVERSITÀ DI PISA

---

### Comportamenti

Lo studente acquisirà la mentalità appropriata per analizzare alberi genealogici e progettare studi di semplice genetica mendeliana.

Biologia Molecolare: Lo studente acquisisce basic knowledge of the most important Molecular Biology concepts and basic lab skills.

### Modalità di verifica dei comportamenti

I comportamenti acquisiti si verificano tramite prova di esame.

Molecular Biology. The student knowledge will be assessed at the exam.

### Prerequisiti (conoscenze iniziali)

Conoscenze di base necessarie provenienti prevalentemente dai programmi di liceo scientifico circa la biologia, la biologia molecolare (p.es. trascrizione e traduzione) e la chimica.

Basic knowledge mainly from high school scientific programs is required regarding biology, molecular biology (e.g., transcription and translation), and chemistry.

### Indicazioni metodologiche

Il portale elearning rimanda al sito personale del docente che verrà usato per visualizzare il materiale didattico e per comunicazioni docente-studenti. Le interazioni tra studenti e docente potranno essere costanti durante le lezioni frontali, ricevimenti, tutoraggio e comunicazione con gli studenti tramite email e telefono.

The e-learning portal redirects to the personal website of the instructor, which will be used for accessing teaching materials and facilitating communication between the instructor and students. Interaction between students and the instructor will be continuous during face-to-face lectures, office hours, tutoring sessions, and communication through email and phone

Genetica e Biologia Molecolare:

Attività didattiche:

lezioni frontali (lectures)

preparazione di una relazione orale / scritta (Written essay - Genetics only)

studio individuale (Personal study)

### Programma (contenuti dell'insegnamento)

#### Argomenti

##### Genetica:

Introduzione al corso.

Basi, deossinucleosidi, nucleotidi

La chimica del DNA. La regola di Chargaff.

La replicazione del DNA.

Le DNA polimerasi: tipi, processività, attività' esonucleasica. Appaiamenti non corretti ad opera di forme tautomeriche. L'attività' proof-reading.

Organizzazione del DNA eucariotico in nucleosomi, fibra cromatinica, cromosomi.

Telomeri e telomerasi

Uno sguardo di insieme al genoma umano. Differenze tra genoma nucleare e mitocondriale. Mitosi. Fasi G1, S, G2, M. Interfase. Cromosomici interfascici e metafascici. Divisione cellulare (video).

Le fasi della mitosi. Le fasi della meiosi.

Profase della Meiosi I. Il complesso sinaptonemale. La struttura di Holliday. Il DNA eteroduplex.

Rappresentazione molecolare della meiosi. Dare un nome ad ognuno degli elementi dei cromosomi omologhi.

La prima legge di Mendel (Dominanza/recessività e legge della segregazione). Definizione di: gene, locus, allele, cromosoma omologo, linea pura, parentali, ibridi, monoibridi, incrocio monoibrido, allele, allele dominante, "allele wild-type", "allele mutante", allele recessivo, eterozigoti, omozigoti, omozigoti dominanti, omozigote recessivo, zigote, genotipo, fenotipo, locus genico, aploinsufficienza, aplosufficienza.

Rappresentazione molecolare della meiosi.

Una complicazione alle leggi di Mendel: eredita' legata al sesso. Determinazione del sesso nei mammiferi e negli insetti. Incrocio maschio affetto x femmina wild-type; incrocio femmina affetta x maschio wild-type, stato alla F1 e alla F2. Analisi degli alberi genealogici. Esempi di analisi di alberi genealogici per caratteri autosomici recessivi. Caratteri autosomici recessivi: fenilchetonuria, albinismo, fibrosi cistica.

Alberi genealogici per caratteri autosomici dominanti. Nanismo acondroplastico, Sindrome di Marfan.

Corea di Huntington, Esadattilia, Brachidattilia, Piebaldismo. Analisi molecolare per identificazione di mutazioni (Southern Blot, Northern Blot, Western Blot).

Caratteri recessivi legati all'X. Esempi relativi al daltonismo, distrofia muscolare di Duchenne e Emofilia (fattore VIII). Altri esempi: sindrome della femminilizzazione testicolare. Caratteri dominanti legati all'X. Esempi possibili: X-linked vitamin-D resistant hypo-phosphatemia, Sindrome di Rett, Sindrome AICARDI. L'inattivazione del cromosoma X (Lyonizzazione del cromosoma X). Esempi di inattivazione dell'X: gatte caliche, gatte tartarugate, displasia ectodermica anidrotica.



## UNIVERSITÀ DI PISA

Calcolo delle probabilità semplice. Frequenze osservate, frequenze attese e test del Chi-Quadrato.

Esercizi.

La seconda legge di Mendel. Utilizzo del Quadrato di Punnett o del calcolo delle probabilità per prevedere la progenie in F2 di incroci di di-ibridi. Segregazione fenotipica 9:3:3:1.

Esercizi dimostrativi

Le basi cromosomiche dell'assortimento indipendente. Sintesi di linee pure e la virescenza degli ibridi. Eredità extranucleare. Eteroplasmia. Patologie legate al DNA mitocondriale. Caratteri a penetranza e/o espressività variabile. Esercizi di genetica mendeliana semplice (eredità a singolo gene)

Interazioni tra alleli di un singolo locus (serie alleliche). Meccanismi della dominanza completa (aplosufficienza, aploinsufficienza, dominanza negativa, guadagno di funzione). Esempio della osteogenesi imperfetta. Dominanza incompleta. Codominanza. Esempio del sistema di gruppi sanguigni ABO.

Serie alleliche. Alleli letali e relativa segregazione del carattere. Esempio di carattere quantitativo specificato da più loci (Quantitative trait loci). Caratteri distribuiti "a campana" per serie alleliche o per interazione tra loci (esempio di modello additivo dell'altezza).

Interazione di più loci appartenenti ad una medesima catena metabolica. Il lavoro di Beadle e Tatum. Ipotesi un gene=un enzima. Schema sperimentale dei mutanti di *Neurospora crassa* (da Beadle e Tatum).

La complementazione genica. Tra linee pure e studio dei gruppi di complementazione in vitro. Complementazione nelle famiglie e nelle linee cellulari.

Gruppi di complementazione.

Altre modalità di interazione tra loci distinti.

Prevedere la progenie sapendo il meccanismo di azione.

Esempio del serpente corallo (pattern di colorazione a due pigmenti). Esempio di fiore a petalo blu/petalo bianco.

L'epistasi recessiva (esempio di fiore a petalo bianco, magenta, blu).

Ancora esempi di epistasi recessiva. Pigmentazione del manto del Labrador.

L'epistasi dominante. Esempio della *Digitalis purpurea*. Colorazione degli occhi nell'uomo:

Divertitevi con questo link:

<http://www.athro.com/evo/gen/genefr2.html>

Nella stessa via metabolica della Fenilchetonuria blocchi selettivi possono provocare fenotipi specifici. Quadro metabolico dell'fenilchetonuria, albinismo, cretinismo, tirosinosi e alcaptonuria. In onore di Archibald Garrod che studiò "gli errori congeniti del metabolismo".

La soppressione. Prevedere il tipo di segregazione quando un mutante soppressore produce un fenotipo o quando non lo produce.

Principi di genetica batterica. La trasformazione. La coniugazione batterica. Il fattore F di fertilità. I ceppi Hfr.

Esperimenti di coniugazione interrotta per definire l'ordine (in minuti) dei geni sul cromosoma di *E. coli*.

Ceppi Hfr differenti e ordinamento dei geni sul cromosoma batterico. Utilizzo della coniugazione per misurare le frequenze di ricombinazione tra geni contigui sul cromosoma procariota. I plasmidi F'. Diploidi parziali batterici. Meccanismi di formazione dei plasmidi F'.

Ricombinazione tra ceppi fagici differenti.

La trasduzione generalizzata e specializzata. Induzione zigotica. Formazione del genoma fagico lambda-delta.

Differenza nella segregazione (alla F2) di due loci quando sono indipendenti o quando sono "in linkage" (associati). Test del chi-quadro per indicare associazione o indipendenza. Uso del test-cross per svelare gli individui originati da gameti con combinazioni "parentali" o "ricombinanti". Fase gametica, aplotipo, alleli in "cis" e alleli in "trans" (o in "repulsione").

Chiasmi e crossing-over. Definizione di unità di mappa genetica. Unità di mappa genetica: centiMorgan, o percentuale di ricombinazione.

Relazione tra distanza genetica e distanza fisica nel genoma umano. Calcolo della distanza di mappa genetica tra due loci. Mappatura dei cromosomici eucarioti tramite la ricombinazione: mappatura a due loci concatenati. Esercizi sulla mappatura a due loci. Predire la progenie attesa incrociando due diibridi con loci a distanza di mappa 30cM.

L'incrocio a tre punti (tre loci concatenati). Stabilire l'ordine e la distanza di mappa genetica di loci in linkage. Esercizi sull'incrocio a tre punti.

Calcolo del coefficiente di coincidenza e interferenza.

Uno sguardo ravvicinato alla ricombinazione meiotica: il DNA eteroduplex e la struttura di Holliday.

Principi di Genetica di Popolazione: La legge di Hardy-Weinberg.

La legge di Hardy-Weinberg. Esercizi.

La deriva genetica.

La regolazione genica procariota.

- L'operone lac (lattosio).

Esercizi sui diploidi parziali.

Esercizi sui diploidi parziali.

- L'operone arabinosio.

L'attenuazione nell'operone triptofano.

La regolazione genica eucariota:

- Il regolone galattosio, le sequenze UAS,

le proteine Gal4, Gal80, TBP.

-l'effetto combinatorio dei fattori di trascrizione. Mating type in *S.cerevisiae*. Histone acetyl transferases (HAT). Histone deacetylases (HDAC).

Histone methyl transferases (HMT), histone demethylases (LSD1).

-gli enhancer, il controllo dell'espressione genica, il rimodellamento della cromatina. La proteina Tup1. Il complesso SWI/SNF.

-memoria epigenetica (Isole CpG, imprinting),

-l'effetto di posizione (con particolare riferimento agli studi di Muller sui cromosomi politenici in *Drosophila*)

Gli effetti delle mutazioni geniche.

Anatomia di un gene eucariotico.



## UNIVERSITÀ DI PISA

Le sequenze rilevanti per i geni codificanti per proteine. Lo splicing. Mutazioni nelle regioni critiche dello splicing. Mutazioni nelle regioni regolatrici di enhancer, promotore, 5'UTR, CDS (coding sequence), 3'UTR. Esempi di mutazioni nelle regioni regolatorie.

Biologia Molecolare/Molecular Biology.

1. An introduction to the Molecular Biology Module of this course. Cells, Genomes, and the Diversity of Life. Main differences between prokaryotes vs eukaryotes. Main animal models.
2. Membraneless compartments. Principles of protein structures. Disordered regions/domains and disordered proteins. Membraneless organelles Principles of Liquid-liquid phase separation (LLPS). Basic chemistry and thermodynamics principles of the cell. Phase separation in X chromosome inactivation (XCI). DNA, Chromosomes, and Genomes. The Structure and Function of DNA. Chromosomal DNA and Its Packaging in the Chromatin Fiber. Main differences between prokaryotes vs eukaryotes.
3. The Effect of Chromatin Structure on DNA Function. Heterochromatin. Position effect Variegation (PEV). Histone modifications. Writers and readers. Centromeres. Inheritance of the epigenetic state. Perturbation of chromatin structure in cancer.
4. Global Structure of Chromosomes. Polytene Chromosomes. Chromosome Loops. Principles of nuclear organization. How Genomes Evolve. Transposable DNA Elements. Phylogenetic Trees. Difference in size and complexity across genomes.
5. Maintenance of DNA Sequences. Mutation Rates Are Extremely Low. Low Mutation Rates Are Necessary for Life as We Know It. DNA Replication Mechanisms. Principles of DNA replication. Differences between prokaryotes vs eukaryotes. Topoisomerases role in DNA replication.
6. The Initiation and Completion of DNA Replication in Chromosomes. DNA replication in prokaryotes vs eukaryotes. Main differences between prokaryotes vs eukaryotes DNA replication. Telomeres and telomerase. DNA repair. Nucleotide Excision Repair.
7. DNA Methylation. Epigenetics crosstalk. Genetic disease with an epigenetics base. Bivalency. Principles of regulatory elements. Transposable elements.
8. Translesion DNA Polymerases. DNA repair across the cell cycle. Homologous Recombination: main principles. Transposition and Conservative Site-specific Recombination. Retrotransposons and transposable elements. Tools from bacteria for genetic engineering.
9. Gene editing: Zinc Fingers, TALENS, CRISPR/Cas9. CRISPR/Cas9: from the discovery to the clinic. Cas13 in brief. Guide to design RNA guides for CRISPR/Cas9. Genome editing in eukaryotes.
10. How Cells Read the Genome: From DNA to Protein. RNA molecules. Transcription. Main differences between prokaryotes vs eukaryotes. Co-transcriptional processing of RNA transcription.
11. RNA Splicing. The Spliceosome. Nuclear Export. The nucleolus. Phase separation in the nucleolus. Translation (part I). The genetic code. tRNA. tRNA syntheses. Initiation of translation.
12. X chromosome inactivation (XCI). History and background of X chromosome inactivation. Stages of X chromosome inactivation. Molecular mechanisms of XCI. Role of XCI in health and disease.
13. Translation (part II). Editing by tRNA Synthetases. Elongation. Accuracy and energy usage. The Ribosome Is a Ribozyme. Stop codons. Minor Variation in the genetic code usage. Inhibitors of Prokaryotic Protein Synthesis Are Useful as Antibiotics.
14. Translation (part III). Ribosome. Stalled ribosomes. Coordination of the Folding, Enzymatic Modification, and Assembly of Newly-synthesized Proteins. Molecular chaperones. Polyubiquitination and protein degradation. RNA quality control. RNA modifications. Epitranscriptomics. The RNA world (the origin of Life). An Overview of Gene Control. The Different Cell Types of a Multicellular Organism Contain the Same DNA. External Signals Can Cause a Cell to Change the Expression of Its Genes. Control of Transcription by Sequence-specific DNA-binding Proteins. Transcription Regulators Contain Structural Motifs That Can Read DNA Sequences. Cooperative binding of transcription factors. Transcription Regulators Switch Genes On and Off. The tryptophan and LacZ operons. Eukaryotic control of gene expression.
15. Transcription activators. Condensate Formation Likely Increases the Efficiency of Transcription Initiation. Insulators. Molecular Genetic Mechanisms That Create and Maintain Specialized Cell Types. The Drosophila Eve Gene. Combinatorial Gene Control of gene expression. Maintenance of Differentiated Cells identity. Specialized Cell Types Can Be Experimentally Reprogrammed to Become Pluripotent Stem Cells. Mechanisms That Reinforce Cell Memory in Plants and Animals. CpG islands and DNA methylation.
16. Genomic Imprinting and XCI. Post-transcriptional Controls. Stable Patterns of Gene Expression Can Be Transmitted to Daughter Cells. Termination and Riboswitches. Modification of gene definition due to alternative splicing. Back splicing. HIV control of endogenous cell apparatuses. Specific RNA localization. IRES. Changes in mRNA Stability Can Control Gene Expression. P- and stress granules. (
17. Regulation of Gene Expression by Noncoding RNAs. RNA Interference . microRNA. piRNA. CRISPR/Cas9. Long Noncoding RNAs Have Diverse Functions in the Cell. Principles of Next-Generation sequencing and its applications to Biology. Illumina Sequencing Examples such as RNA-seq, ChIP-seq, ATAC-seq.
18. Influenza A and B viral genomes. Transcription by cap-snatching. Receptor-mediated cell entry of IAVs. Virus trafficking and assembly. Infection of new cells. ASSESSMENT AND QAs. Comparison between Prokaryotic and Eukaryotic DNA replication. DNA polymerases in eukaryotes vs prokaryotes. Control of Gene Regulation: From DNA to Protein to Function. Transcriptional control. RNA processing and Quality Control. RNA Transport and Localization control. RNA degradation control. Translational control. Regulation of protein stability. Regulation of protein activity. Course closure and final questions. (
19. Practical: Morning -Set up DNA extraction from pellet (ON Prot. K digestion) -PCR for two genes with available DNA -Analysis of restriction digestions on a plasmid Afternoon -Principles of cloning, blunt vs sticky end digestions -Run PCR from the morning on agarose gel -Set-up ON digestion with a selected REs.
20. Practical: Morning -Run Digestions from Day 1 -Complete DNA extraction (long-fibres method) -Analysis of the PCR result -Set-up qPCR for a gene on cDNA Afternoon - Analysis of qPCR results - (optional) bacteria transformation.



## UNIVERSITÀ DI PISA

---

### Bibliografia e materiale didattico

#### Libri di testo consigliati:

##### Genetica:

"Genetica. Principi di analisi formale", by Anthony Griffiths (Zanichelli)  
"Eserciziario di Genetica con guida alla soluzione" PICCIN. Ghisotti-Ferrari

##### Molecular Biology:

Molecular Biology of the Cell, seventh edition (Norton)

### Indicazioni per non frequentanti

#### Genetics:

All slides will be shared through a shared folder.

#### Molecular Biology:

All slides will be shared through a shared folder.

### Modalità d'esame

#### Biologia cellulare/genetica:

E' prevista una prova scritta congiunta durata di tre ore. E' data facoltà di sostenere anche una prova orale.

Questa puo' essere sostenuta in qualsiasi momento dopo la correzione della prova scritta. Per accedere alla prova orale basta prendere un appuntamento inviando una [posta elettronica](#).

Biologia Molecolare: esame orale.

Molecular Biology: Oral Examination.

### Stage e tirocini

Molecular Biology: 1 laboratory

### Altri riferimenti web

[www.ceraselab.org](http://www.ceraselab.org)

### Note

Presidente: Andrea Cerase

Membri docenti: Prof. Cosmeri Rizzato/Vittoria Raffa/Irene Perotti

Supplenti: prof. Marco Onorati/Chiara Gabellini

Ultimo aggiornamento 08/11/2023 14:59