UNIVERSITÀ DI PISA

BIOLOGIA MOLECOLARE E MICROBIOLOGIA

LUCIANA DENTE

Anno accademico	2017/18
CdS	BIOTECNOLOGIE
Codice	004FE
CFU	12

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
BIOLOGIA MOLECOLARE	BIO/11	LEZIONI	56	LUCIANA DENTE MARTINA GIANNACCINI
MICROBIOLOGIA GENERALE E ANALITICA	AGR/16	LEZIONI	52	ALESSANDRA TURRINI

Obiettivi di apprendimento

Conoscenze

Il corso è organizzato in due moduli.
Il Modulo di Biologia Molecolare fornisce agli studenti metodi di studio e basi operative per comprendere il funzionamento degli organismi a livello molecolare, con particolare riguardo ai meccanismi di replicazione, trascrizione e traduzione dei genomi.
Il Modulo di Microbiologia generale ed analitica fornisce conoscenze sulle proprietà morfo-funzionali, strutturali e genetiche di Eubatteri, Archea e funghi per un loro possibile utilizzo in campo biotecnologico.

Modalità di verifica delle conoscenze

Durante l'esame verrà verificato il livello di conoscenza degli argomenti elencati nel programma dettagliato. Particolare importanza verrà data alle conoscenze dei meccanismi che regolano il funzionamento degli organismi e delle cellule a livello molecolare e ai meccanismi legati alla struttura della cellula batterica, al suo metabolismo e alla sua crescita.

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.
- lo studente avrà appreso le nozioni di base sulla struttura della cellula microbica e i criteri classificativi dei batteri
- lo studente avrà acquisito esperienza diretta delle tecniche microbiologiche classiche e rapide per l'analisi di materie prime, di prodotti e di ambienti per l'identificazione dei microrganismi.

Modalità di verifica delle capacità

- Durante le sessioni di laboratorio di Biologia Molecolare 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 inoltre poste specifiche domande sulle conoscenze di base di Microbiologia.

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 conoscenza di base di Chimica Inorganica-Organica e di Citologia/Istologia

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 e Microbiologia.

- vengono utilizzate apparecchiature di base dei laboratori di Biologia Molecolare e di Microbiologia

- Viene fornito aiuto da personale di supporto o da codocenti
- 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 vengono utilizzati gli orari di ricevimento e l'uso della posta elettronica.

Programma (contenuti dell'insegnamento)

**Modulo di Biologia Molecolare**
Caratteristiche generali delle macromolecole biologiche:

- - proteine, lipidi, carboidrati e acidi nucleici.
  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.

- - 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 (e Northern) transfer
  Tecnologia del DNA Ricombinante

- - Vettori di clonaggio: Fagici- plasmidici- misti

- - Metodi per creare molecole ricombinanti.

- - Tecnica della PCR

- - DNA ligasi

- - Trasformazione e infezione fagica

- - Metodi per identificare molecole ricombinanti

- - Progettazione di sonde

- - Genoteche di DNA genomico

- - Genoteche di cDNA

- - Metodi di Sequenziamento: chimico ed enzimatico
  RNA

- - Principali tipi di RNA
- - RNA ribosomiali e ribosomi. Differenze tra procarioti ed eucarioti.
- - Decodificazione dell'informazione genetica: da DNA a RNA a proteine.
- - Codice genetico: regole. Tabella e triplette.
- - Caratteristiche degli mRNA eucariotici (Capping e poliadenilazione)
- - Concetto di gene. Esoni e introni.
- - Caratteristiche strutturali dei tRNA.
- - Amminoacil tRNA sintetasi.
  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.
  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 dei fattori 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, etc...)
- - 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. Modificazioni degli istoni ed effetti del rimodellamento della cromatina sulla trascrizione.

- - Metilazione del DNA
  Regolazione post-trascrizionale.

- - Splicing nucleare, “spliceosomi”
- - Splicing di tipo I e II.
- - Splicing dei tRNA
- - Piccoli RNA regolatori: differenze tra miRNA e siRNA
  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

Modulo di Microbiologia generale ed analitica

- **Introduzione alla Microbiologia:** Origine ed evoluzione dei microrganismi La scoperta dei microrganismi e lo sviluppo delle discipline microbiologiche.
- **Diversità del mondo microbico** Posizione tassonomica dei procarioti nel mondo vivente. Definizione di specie batterica e criteri generali di tassonomia batterica.
- **Struttura della cellula procariotica**: Struttura della parete nei batteri Gram-positivi, Gram-negativi ed Archea. Batteri privi di parete. Struttura e biosintesi della mureina durante la crescita e divisione cellulare e composti antibatterici che interferiscono con la sintesi della mureina. Funzione degli acidi teicoici/lipoteicoici, dei polisaccaridi e proteine della parete cellulare dei batteri. La membrana esterna dei batteri Gram-negativi e suoi componenti (proteine porine, periplasma, proteine periplasmatiche, endotossine). La capsula: struttura e funzioni. Flagelli batterici e Pili. La spora batterica. Caratteristiche morfologico-strutturali delle spore batteriche ed eventi morfologoci della sporificazione. Termoresistenza delle spore. Germinazione e crescita.
- **Rapporto ospite parassita.** Adesine, invasine, tossine (esotossine, endotossine). Meccanismo di azione della tossina di Corynebacterium dphtheriae, Vibrio cholerae. Neurotossine di Clostridium tetani e Clostridium botulinum. Neisseria meningitidis, epidemiologia e meccanismi patogenetici.
- **Nutrizione, metabolismo e crescita batterica**: Nutrizione e metabolismo energetico. Flessibilità ed adattabilità metabolica. Macroelementi e microelementi. Produzione di energia. Glicolisi e vie alternative. Respirazione aerobica, anaerobica e fermentazione. Andamento della crescita delle popolazioni batteriche in terreno liquido: fase di latenza, di crescita esponenziale, stazionaria e di morte. Fattori che influenzano la crescita batterica: attività dell’acqua, pH, temperatura, O2, pressione.
- **Genetica dei microrganismi**: La ricombinazione genica nei batteri: coniugazione e generazione di cellule F+, Hfr; trasduzione generalizzata e specializzata, trasformazione. Richiami al ciclo litico e lisogeno indotti da fagi temperati (lambda) e virulenti (T4). Caratteristiche generali dei plasmidi e trasposoni: Principali tipi di plasmidi naturali, meccanismi di controllo del numero e partizione delle copie. Importanza dei plasmidi nella farmaco-resistenza e patogenicità microbica.
- **I funghi.** Cenni sull’organizzazione degli organismi eucariotici. Caratteristiche generali di lieviti e funghi pluricellulari. Struttura, riproduzione, tipi di spore, ciclo vitale, i diversi phyla. La crescita ifale. Produzione di metaboliti secondari.

Bibliografia e materiale didattico

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

-Gianni Dehò e Enrica Galli “Biologia dei microrganismi”- Casa Editrice Ambrosiana

- *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.

Modalità d'esame

Compito scritto e orale

Ultimo aggiornamento 29/06/2018 15:22