UNIVERSITÀ DI PISA

BIOLOGIA MOLECOLARE

LUCIANA DENTE

Anno accademico	2021/22
CdS	SCIENZE BIOLOGICHE
Codice	069EE
CFU	9

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

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 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.
- 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 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)

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

Bibliografia e materiale didattico

- **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)

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. Esame orale.

Modalità d'esame

Esame orale con domande su tutto il programma e sui laboratori

Ultimo aggiornamento 21/07/2021 11:28