



# UNIVERSITÀ DI PISA

---

## PRINCIPI DI BIOLOGIA MOLECOLARE

**MARIA LETIZIA TRINCAVELLI**

Anno accademico	2019/20
CdS	CHIMICA E TECNOLOGIA FARMACEUTICHE
Codice	020EE
CFU	6

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
PRINCIPI DI BIOLOGIA MOLECOLARE	BIO/11	LEZIONI	50	LAURA MARCHETTI MARIA LETIZIA TRINCAVELLI

### Obiettivi di apprendimento

#### *Conoscenze*

Al termine del Corso lo studente avrà acquisito conoscenze di base sulla biologia a livello molecolare e in particolare sulla struttura e metabolismo delle macromolecole informazionali, sulla struttura del genoma, nonché sui processi di regolazione della trascrizione genica e sulle modifiche posttrascrizionali. Inoltre lo studente acquisirà competenze su tecniche di biologia molecolare tra cui metodiche di estrazione, purificazione e analisi degli acidi nucleici, tecniche per lo studio di espressione di geni e polimorfismi nonché tecniche per lo studio a livello molecolare del metabolismo cellulare.

#### *Modalità di verifica delle conoscenze*

Il docente verificherà l'apprendimento degli obiettivi intermedi durante lo svolgimento del Corso attraverso un dialogo diretto con gli studenti sugli argomenti trattati a lezione ed eventualmente con prove in itinere in cui il docente valuterà l'acquisizione delle terminologie di base idonee e la capacità di elaborare una risposta tecnicamente chiara ed adeguata.

#### *Capacità*

Capacità di utilizzare la conoscenze di base di biologia molecolare acquisite durante il Corso per affrontare criticamente situazioni sperimentali proposte durante le esercitazioni.

#### *Modalità di verifica delle capacità*

Durante le lezioni sarà valutata la capacità degli studenti di acquisire criticamente le nozioni esposte dal docente. Durante gli esami saranno valutate le capacità dello studente di rispondere in maniera sintetica e mirata alle domande proposte che potranno essere articolate sia come domande a risposta multipla che come domande aperte.

#### *Comportamenti*

Lo studente dovrà partecipare alle lezioni frontali in modo attivo con osservazioni e domande.

#### *Modalità di verifica dei comportamenti*

La partecipazione dello studente alla lezione verrà valutata stimolando il dialogo diretto docente-studente e stimolando lo studente a ragionare criticamente sulle problematiche affrontate durante la lezione.

#### *Prerequisiti (conoscenze iniziali)*

Conoscenze di Biologia animale e conoscenze di base di Chimica organica.

#### *Indicazioni metodologiche*

Si consiglia allo studente di elaborare e apprendere gradualmente i concetti esposti a lezione durante l'arco temporale del semestre facendo riferimento ai libri di testo consigliati.



## UNIVERSITÀ DI PISA

### Programma (contenuti dell'insegnamento)

#### Principi Biologia Molecolare

-Principi di base di biologia molecolare: cenni su esperimenti chiave che portarono alla scoperta del DNA come molecola dell'informazione. Il dogma centrale della biologia molecolare.

-Chimica degli acidi nucleici: Struttura chimica, topologia del DNA e sua organizzazione strutturale. Proprietà del DNA in soluzione: denaturazione/rinaturazione, effetto ipercromico. RNA e le sue strutture, differenze strutturali e funzionali tra DNA e RNA.

-La complessità dei genomi: grandezza e densità genica. I geni codificanti proteine. Differenze tra geni procariotici ed eucariotici. Caratteristiche delle sequenze genomiche (sequenze uniche, ripetute e polimorfiche).

-Replicazione del DNA: chimica della sintesi del DNA, meccanismo molecolare di azione della DNA polimerasi. Enzimologia della replicazione: le DNA elicasi, le SSB, le topoisomerasi e le DNA sliding clamp. Le DNA polimerasi nei batteri e negli eucarioti. La regolazione dell'inizio della replicazione in procarioti e eucarioti. Il problema della terminazione dei cromosomi lineari: telomerasi e telomeri.

- Mutabilità e riparazione del DNA: danno spontaneo e danno indotto da agenti chimici e radiazioni. Sistemi di riparazione.

-Ricombinazione omologa in procarioti ed eucarioti: meccanismo molecolare.

-Trasposizione: struttura di trasposoni a DNA e retrotrasposoni e meccanismi molecolari di trasposizione.

- Espressione del genoma: RNA polimerasi e ciclo della trascrizione. Cenni alla trascrizione nei procarioti e eucarioti. Meccanismo molecolare di azione della RNA polimerasi I e III.

-Modificazioni post-trascrizionali: la chimica dello splicing dell'RNA, vie di splicing, varianti di splicing, splicing alternativo e rimescolamento degli esoni, capping e poliadenilazione del mRNA.

-La regolazione dell'espressione genica in procarioti e eucarioti: principi di regolazione trascrizionale in procarioti ed eucarioti, integrazione del segnale e controllo combinatorio. Repressori trascrizionali. RNA regolatori. Malattie associate ad alterazioni dei processi di regolazione post-trascrizionale. Operone Lac e batteriofago lambda. Azione di attivatori e repressori nel controllo della trascrizione in cellule eucariotiche.

#### Tecniche di biologia molecolare

-Metodi di estrazione e purificazione degli acidi nucleici e tecniche spettrofotometriche per l'analisi del DNA in soluzione

-Analisi degli acidi nucleici mediante elettroforesi su gel di agarosio

-Reazione a catena della polimerasi (RT-PCR e real-time PCR).

-Analisi dei polimorfismi mediante PCR e Southern Blott.

-Tecniche di sequenziamento del DNA: metodo di terminazione della catena (Sanger), pirosequenziamento e piattaforma 454.

-Analisi dell'espressione genica mediante microarray.

#### **Esercitazioni pratiche di laboratorio:**

1) Colture cellulari: conta cellulare; estrazione dell'mRNA da cellule; quantificazione di RNA e misura della purezza.

2) Analisi elettroforetica di RNA mediante gel di agarosio. Principi generali della PCR, RT-PCR e Real time PCR. Allestimento delle mix di retrotrascrizione e di Real time PCR. Analisi delle curve di melting e dei ct.

3) Tecniche con rilevamento in fluorescenza in biologia molecolare. 1) Preparazione di un costrutto fluorescente di una proteina di interesse, clonaggio in un plasmide di espressione e sua restrizione enzimatica, trasfezione in cellule eucariotiche. 2) Analisi quantitativa del processo di apoptosi in cellule mediante citofluorimetria a flusso.

#### **Bibliografia e materiale didattico**

Libri di testo consigliati:

-Biologia Molecolare. Amaldi, Benedetti, Pesole e Plevani. Casa editrice Ambrosiano. Ed. 2014.

-Biologia Molecolare del gene. Watson, Baker. Casa Editrice Zanichelli. Ed. 2014

-Fondamenti di Biologia Molecolare L.A. Allison ZANICHELLI

-L'essenziale di Biologia Molecolare della Cellula B. Alberts et al ZANICHELLI

#### **Indicazioni per non frequentanti**

Per i non frequentanti si consiglia di consultare durante lo svolgimento del corso il registro delle lezioni disponibile sul sito

<https://unimap.unipi.it/cercapersona/dettaglio.php?ri=453> (pagina del docente). La consultazione del registro è fondamentale al fine di poter selezionare gli argomenti affrontati a lezione che saranno oggetto della prova di esame.

#### **Modalità d'esame**

L'esame finale è costituito da una prova "in itinere" svolta alla fine del corso. Per gli studenti che abbiano sostenuto positivamente tale prova, l'esame di profitto sarà costituito da uno scrutinio condotto dalla commissione sulla base dei risultati ottenuti. Altrimenti l'esame sarà svolto come prova scritta nelle date di esame prestabilite.