



Università degli Studi di Cagliari
Facoltà di Biologia e Farmacia

Corso di Laurea triennale in Biotecnologie Industriali

Insegnamento:	CFU 6+4
	SSD BIO/11 BIOLOGIA MOLECOLARE
Docente	Federica Incani
Indirizzo ufficio	Ospedale microcitemico laboratorio di genetica molecolare Via Jenner s/n Cagliari
Tel.	0706095534
Fax.	0706095654
E-mail	feincani@yahoo.it
Orario di ricevimento	Il docente riceve dopo la lezione
Obiettivi Formativi del corso	
Conoscenze	Il corso ha l'obiettivo di fornire agli studenti una conoscenza degli aspetti teorico-pratici della Biologia molecolare e delle biotecnologie ad essa legate per poter essere in grado di identificare, formulare e risolvere problemi complessi applicati alle scienze biotecnologiche. Il corso intende fornire inoltre le nozioni di base che possono dare allo studente la capacità di comprendere l'impatto della tecnologia e delle soluzioni tecniche nel contesto biotecnologico.
Competenze	Il corso è articolato in modo da consentire allo studente di acquisire le conoscenze di base dei processi biologici legati alla costituzione del genoma umano e dei principali sistemi di analisi dello stesso. Tali conoscenze faciliteranno inoltre la sua capacità di comprensione di processi tecnologici legati ai laboratori biomedici.
Comportamenti	L'impostazione del corso, con esempi pratici e applicazioni, permetterà allo studente di utilizzare la conoscenza in maniera appropriata e costruttiva. L'impostazione didattica è stata pensata in modo da stimolare le capacità di analisi e giudizio autonome dello studente.

Conoscenze richieste (propedeuticità obbligatorie/consigliate)	Si consiglia il superamento di chimica generale, chimica organica e biochimica
-----------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------

Programma

La struttura degli acidi nucleici: Nucleosidi e nucleotidi. La struttura primaria, secondaria del DNA. Le forme della doppia elica A, B, Z. Proprietà del DNA: denaturazione e rinaturazione, effetto ipercromico. La struttura terziaria del DNA: superavvolgimento del DNA. Le topoisomerasi.

La struttura dell'RNA: Struttura secondaria e terziaria dell'RNA. Funzioni biologiche dei diversi tipi di RNA. La catalisi da RNA. I ribozimi.

Anatomia dei genomi. Struttura dei geni nei procarioti. Struttura dei geni negli eucarioti. Il gene interrotto. Il DNA ripetitivo. Sequenze uniche, e sequenze ripetute del DNA. Regioni codificanti e non codificanti del genoma. La struttura esoni-introni dei geni; Struttura ed organizzazione della cromatina: istoni, struttura dei nucleosoma, la fibra da 10 nm, la fibra da 30 nm. Rimodellamento della cromatina. Eucromatina ed eterocromatina

Replicazione del DNA: Meccanismo di replicazione del DNA nei procarioti e nelle cellule eucariotiche: inizio, allungamento termine; proteine ed enzimi coinvolti nella replicazione. Le origini di replicazione in E. Coli e sequenze ARS nel lievito. Regolazione dell'inizio e della terminazione della replicazione negli eucarioti. Regolazione e controllo della replicazione nel ciclo cellulare. Telomeri e telomerasi.

Danni a carico del DNA e meccanismi di riparazione. Le mutazioni. Le classi generali del danno al DNA. Errori di replicazione. Agenti mutageni. Le Fotoliasi. Proteine Mut. DNA glicosilasi, Endonucleasi UvR abc. Riparazione delle rotture a doppio filamento. Ricombinazione (omologa e sito-specifica) e Trasposizione (replicativa, conservativa e di retroelementi).

Trascrizione nei procarioti: Il gran trascritto primario e i ribozimi. RNA Polimerasi e fattori associati. Promotori batterici. Biosintesi e maturazione dell'RNA: fasi di inizio, allungamento, terminazione.

Trascrizione negli eucarioti e sua regolazione: Inizio della trascrizione, promotori di classe I, II e III. I Potenziatori o enhancer, meccanismo d'azione, sequenze caratteristiche. Fattori di trascrizione, meccanismo d'azione, sequenze di riconoscimento, domini proteici caratteristici. Recettori steroidei, Geni omeotici.

Maturazione RNA: Maturazione dei trascritti nei procarioti ed eucarioti. Maturazione, metilazione e pseudouridilazione dell'rRNA eucariotici. Splicing dei tRNA di lievito. Meccanismi di autosplicing dell'RNA: introni di tipo I e di tipo II. Maturazione degli mRNA eucariotici: capping, poliadenilazione ed editing dell'RNA. Controllo qualità dell'mRNA (non sense mediated decay e non stop mediated decay). Gli RNA regolatori: i riboswitch, miRNA, siRNA.

La traduzione dell'informazione molecolare: la sintesi proteica. Il codice genetico. tRNA ed aminoacil-tRNA-sintetasi. I ribosomi. Meccanismi di traduzione nei procarioti. Meccanismi di traduzione negli eucarioti. Controllo della traduzione.

Smistamento delle proteine. Proteine di secrezione, di membrana e lisosomiali. Proteine destinate al citosol e agli organuli citoplasmatici.

Modificazioni post-traduzionali. Ripiegamento delle proteine: chaperones molecolari e proteina disolfuro isomerasi. La glicosilazione delle proteine.

Regolazione dell'espressione genica Repressori ed attivatori Organizzazione della cromatina e sua funzione nella regolazione dell'espressione genica, funzione regolatoria dei siti ipersensibili, Locus Control Region nella cluster dei geni beta globinici. Regolazione dell'espressione genica attraverso metilazione delle isole CpG, genomic imprinting. Regolazione genica nei procarioti: operone Lattosio, operone Tripofano, operone arabinosio.

Laboratorio: (4 CFU; 48 ore)

-**Estrazione e purificazione di DNA mediante kit commerciali** :(cromatografia per affinità)

-**Amplificazione enzimatica del DNA (Polymerase Chain Reaction)** ed elettroforesi di DNA su gel di agaroso e per controllo dei frammenti di DNA amplificati

-**Ricerca ed identificazione di mutazioni puntiformi con le seguenti metodiche:** ARMS (amplificazione allele specifica), digestione enzimatica, RDB (Reverse Dot Blot).

-**Sequenziamento del DNA con il metodo di Sanger:** preparazione della reazione di cycle tramite big dye terminator e analisi di elettroferogrammi

-**Sequenziamento del DNA con piattaforme di nuova generazione di next generation system (NGS)**

-**Clonaggio genico:** Estrazione e purificazione di RNA da tessuto con kit commerciale. Reazione di retrotrascrizione inversa e amplificazione specifica del cDNA. Preparazione del vettore plasmidico con enzimi di restrizione. Reazione di ligasi. Preparazione dei terreni di coltura. Trasformazione batterica. Crescita delle colonie batteriche su terreno di coltura. Estrazione del DNA plasmidico. Digestione enzimatica ed elettroforesi su gel d'agaroso per controllo del frammento ricombinante

Testi consigliati

James D Watson, Biologia molecolare del gene (Zanichelli)

Francesco Amldi, Biologia molecolare (Ambrosiana)

Benjamin Lewin , il gene X (Zanichelli)

Per consultazione:

Brown Genomi 3 (EdiSES)

Cox M. Biologia Molecolare (principi e tecniche)	
Modalità di verifica/esame (spuntare le modalità di esame)	
<input checked="" type="checkbox"/> Prove di verifica intermedie <input checked="" type="checkbox"/> Esame scritto <input checked="" type="checkbox"/> Esame orale <input checked="" type="checkbox"/> Prova di laboratorio	
Descrizione prova di verifica	<p>Tre prove di verifica con domande a risposta aperta durante il corso ed eventuale colloquio orale finale, solo per coloro che hanno frequentato almeno l'80% delle lezioni frontali e di laboratorio.</p> <p>Negli altri periodi, la verifica dell'apprendimento avverrà tramite un esame orale.</p>
Modalità iscrizione esame	Online sul sito ESSE 3
Potenziati fattori di rischio per le attività di laboratorio	