

Principali informazioni sull'insegnamento	CORSI DI STUDIO DI BIOTECNOLOGIE
Denominazione insegnamento	Biologia Molecolare
Corso di studio (classe)	BIOTECNOLOGIE INDUSTRIALI E AGRO-ALIMENTARE (L-2)
Crediti formativi	8
Denominazione inglese	Molecular Biology
Obbligo di frequenza	Si
Lingua di erogazione	Italiano
Anno Accademico	2020/2021

Docente responsabile	
Nome e Cognome	Carmela Gissi
indirizzo email	carmela.gissi@uniba.it
numero di telefono	080-5443308
Luogo e orario di ricevimento	I° piano, Nuovo Palazzo di Biologia, Via Orabona 4, Campus "E. Quagliariello" – Tutti i giorni previo appuntamento per e-mail
Dettaglio insegnamento	
	SSD
	Bio/I I
	tipologia attività
	Base

Periodo di erogazione	Anno di corso	Semestre
	2°	2°

Organizzazione della didattica	Lezioni frontali	Laboratori	Esercitazioni	Totale
CFU	7	1		8
Ore Totali	175	25		200
Ore di didattica assistita	56	12		68
Ore di studio individuale	119	13		132

Syllabus	
Prerequisiti	Conoscenze di base di chimica generale, chimica organica, chimica biologica e genetica

Risultati di apprendimento attesi (declinare rispetto ai Descrittori di Dublino)	
Conoscenza e capacità di comprensione	Acquisizione di adeguate conoscenze di biologia molecolare per la comprensione dei meccanismi biologici di base.
Conoscenza e capacità di comprensione applicate	L'attività di laboratorio permetterà di saper utilizzare tecniche di biologia molecolare e di ingegneria genetica per lo studio di sistemi e componenti cellulari di interesse biotecnologico.
Autonomia di giudizio	Gli studenti acquisiranno capacità di valutazione ed interpretazione di dati sperimentali sotto il profilo della valenza scientifica e rigore metodologico; capacità di esprimere una valutazione critica degli aspetti della ricerca in ambito biotecnologico

Abilità comunicative	Gli studenti acquisiranno adeguate competenze e strumenti di comunicazione scritta e orale finalizzata allo scambio di idee, informazioni, dati e metodologie con interlocutori specialisti e non specialisti su problematiche analizzabili attraverso metodi ed approcci biotecnologici.
Capacità di apprendere	Gli studenti acquisiranno adeguate capacità di apprendimento e approfondimento tramite consultazione di materiale bibliografico e aggiornamento relativo agli avanzamenti delle conoscenze e delle metodologie di ambito biotecnologico.
Programma	
Contenuti di insegnamento	<p>La struttura degli acidi nucleici Il DNA è la molecola deputata alla trasmissione dell'informazione genetica. Basi azotate, nucleosidi, nucleotidi. Composizione chimica e struttura tridimensionale del DNA. La doppia elica del DNA: forma A, B, Z. La flessibilità della doppia elica di DNA: DNA curvo, strutture cruciformi e "base flipping". La topologia del DNA (Fonte preferenziale: Watson et al. "Biologia Molecolare del gene"): topoisomeri e numero di legame topologico; separazione di topoisomeri tramite elettroforesi su gel di agarosio; cambiamenti della topologia del DNA catalizzati da topoisomeri di tipo I e di tipo II e la loro importanza funzionale; cenni sui meccanismi di azione delle topoisomerasi. Denaturazione del DNA ed assorbanza. RNA: composizione chimica, strutture secondarie e struttura tridimensionale.</p> <p>Il codice genetico Degenerazione e universalità. Effetti della struttura del codice genetico per la mutabilità del DNA e l'efficienza della traduzione. Interazione codone-anticodone e vacillamento</p> <p>L'impacchettamento del DNA Impacchettamento del DNA in virus, eubatteri e eucarioti. I cromosomi eucariotici: struttura di centromeri e telomeri. Strutture secondarie che stabilizzano i telomeri. La struttura della cromatina in interfase: le fibre da 10 nm e da 30 nm. Composizione e struttura dei nucleosomi. Le proteine istoniche e la loro caratteristiche. Modificazioni delle code N-terminali degli istoni. Posizionamento dei nucleosomi. Le variazioni della struttura della cromatina: funzione delle varianti istoniche, delle modificazioni post-traduzionali degli istoni e dei complessi di rimodellamento della cromatina. Enzimi responsabili delle modificazioni post-traduzionali degli istoni. Replicazione del DNA e assemblaggio dei nucleosomi. Propagazione delle modificazioni istoniche alla cromatina duplicata ed eredità epigenetica</p> <p>La replicazione del DNA (Fonte preferenziale: Watson et al. "Biologia Molecolare del gene") Replicazione semiconservativa del DNA: esperimento di Meselson e</p>

Stahl. Le diverse DNA polimerasi procariotiche ed eucariotiche e loro caratteristiche (processività, fedeltà, attività proofreading). La struttura a mano destra del nucleo catalitico delle DNA polimerasi. Dettagli sulla DNA polimerasi III dei procarioti: ipotesi sulla struttura dimerica e trimerica della DNA polimerasi III oloenzima. Il replisoma e i suoi componenti: DNA primasi, SSB, DNA elicasi, DNA ligasi, “pinze scorrevoli” e caricatore delle “pinze scorrevoli”. Azione delle topoisomerasi nella replicazione del DNA dei procarioti. Il modello del replicone. Inizio e terminazione della replicazione in *E. coli*. Replicazione delle estremità dei cromosomi eucariotici: le telomerasi e la regolazione della loro attività.

La tecnologia del DNA ricombinante

Gli enzimi di restrizione: funzione nei batteri e loro utilizzo nelle tecniche del DNA ricombinante. Creazione di estremità piatte, appiccicose e compatibili. L'elettroforesi su gel per la separazione di frammenti di DNA. Separazione del DNA circolare superavvolto. Gli intercalanti del DNA per la visualizzazione del DNA su gel di agarosio. **Il clonaggio del DNA:** La reazione di ligazione e le strategie di ottimizzazione. Vettori di clonaggio di tipo plasmidico e cenni su altre categorie di vettori. Trasformazione delle cellule batteriche.

La reazione a catena della DNA polimerasi (PCR): proprietà dei primer per la PCR e costruzione di primer eterologhi, nested PCR, strategie di clonaggio degli ampliconi, caratteristiche di vari tipi di DNA polimerasi termostabili, Real time PCR.

Il sequenziamento del DNA con il metodo di Sanger. Cenni sul metodo di sequenziamento di Maxam&Gilbert. Strategia di sequenziamento per primer walking. Primer adoperati per il sequenziamento di frammenti clonati e di ampliconi. Ottimizzazione del metodo di Sanger per il sequenziamento automatico (a livello di marcatura, DNA polimerasi ed elettroforesi ad alta risoluzione). Cycle Sequencing. Cenni sul pirosequenziamento

La riparazione del DNA (Fonte preferenziale: Watson et al. “Biologia Molecolare del gene”)

Mutabilità e sistemi di riparazione del DNA. Mutazioni puntiformi, frameshift, mutazioni di microsatelliti e riarrangiamenti cromosomici. Danni al DNA dovuti ad agenti endogeni ed esogeni (deaminazione idrolitica, ossidazione, alchilazione, azione degli agenti intercalanti, di raggi gamma e di raggi X). Sistemi di riparazione MMR, BER e NER in procarioti ed eucarioti. Riparazione delle rotture del DNA sul doppio filamento in procarioti ed eucarioti. Tolleranza al danno e sistema SOS di *E. coli*

La ricombinazione

Ricombinazione omologa e generalizzata. Conversione genica e ricombinazione sito specifica. La trasposizione Esempi di riarrangiamenti di sequenze per il controllo dell'espressione genica

La trascrizione e la regolazione dell'espressione genica nei procarioti

La trascrizione nei procarioti: struttura RNA polimerasi e cambiamenti

conformazionali durante la fase di inizio. Ruolo dei fattori sigma, struttura dei promotori e presenza di elementi consensus conservati. Dettagli della fase di inizio e di allungamento della trascrizione procariotica. Terminazione intrinseca e Rho- dipendente. Regolazione dell'espressione genica nei procarioti: controllo positivo e negativo; sistemi inducibili e reprimibili. Controllo positivo e negativo dell'operone lac: azione del repressore lacI e dell'attivatore CAP. Integrazione dei due sistemi di controllo. L'operone del triptofano: controllo negativo reprimibile all'inizio della trascrizione e controllo per attenuazione della terminazione della trascrizione. Il fago lambda: regolazione del ciclo litico e del ciclo lisogeno. Regione di controllo del fago lambda. Struttura e funzione dei geni *cl*, *cro*, *cII* e *cIII*. L'antiterminazione di *pN* e *pQ*. Promotori deboli e promotori forti del fago lambda e meccanismi di regolazione genica. Come viene controllata l'integrazione e l'escissione del profago dal cromosoma di *E. coli*

La trascrizione e la regolazione dell'espressione genica negli eucarioti

La trascrizione negli eucarioti: peculiarità delle 3 RNA polimerasi eucariotiche. La RNA polimerasi I e le caratteristiche dei relativi promotori; la RNA polimerasi III e le caratteristiche delle varie categorie di promotori della Pol III. Maturazione degli rRNA e dei tRNA per tagli eso/endonucleolitici e per modificazioni dei nucleotidi. Struttura del promotore della RNA polimerasi II e apparato trascrizionale basale. Fasi di inizio e di allungamento della trascrizione della RNA Pol II.

Maturazione degli mRNA: capping, taglio e poliadenilazione al 3'. La struttura interrotta dei geni proteici eucariotici e il processo di splicing. Composizione e azione dello spliceosoma. Splicing alternativo e regolazione dello splicing. Introni di autosplicing di gruppo I e di gruppo II e meccanismo catalitico. Gli introni dei tRNA di archebatteri ed eucarioti. Editing dell'mRNA per conversione di basi e per inserzione/delezione. L'editing esteso del genoma mitocondriale di *Trypanosoma*.

Regolazione dell'espressione genica negli eucarioti: attivatori e repressori trascrizionali. Struttura modulare dei segnali di regolazione: promotori della RNA polimerasi II. Enhancer, silencer, insulators. Struttura modulare e domini dei fattori di trascrizione. I domini di legame al DNA: Helix-Turn-Helix, Zn finger, leucine zipper e Helix-Loop-Helix. Regolazione post traduzionale dell'espressione genica mediata da microRNA e altri ncRNA con funzione regolatoria

Eredità epigenetica

Le isole CpG e la regolazione dell'inizio della trascrizione tramite metilazione del DNA. La trasmissione dello stato di metilazione del DNA. Il rimodellamento della cromatina

La traduzione

La traduzione nei procarioti e negli eucarioti. Caratteristiche strutturali di tRNA e mRNA. Struttura e composizione dei ribosomi procariotici ed eucariotici. Inizio, allungamento e terminazione della

	<p>traduzione in procarioti ed eucarioti. I fattori proteici di inizio, allungamento e terminazione della traduzione. Meccanismo cap-indipendente di inizio della traduzione negli eucarioti. Bilancio energetico della traduzione.</p> <p>Regolazione generale della traduzione. Regolazione traduzionali di geni specifici. Stabilità e degradazione di mRNA.</p> <p>Laboratorio di Biologia Molecolare: 1 CFU</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Digestione di DNA con enzimi di restrizione ed elettroforesi su gel di agarosio 2) Estrazione di DNA plasmidico e analisi qualitative e quantitative del DNA estratto 3) Reazione di PCR e analisi degli ampliconi tramite elettroforesi su gel di agarosio
Testi di riferimento	<ol style="list-style-type: none"> 1) Testo principale: “Biologia Molecolare” - F. Amaldi, P. Benedetti, G. Pesole, P. Plevani; Casa Editrice Ambrosiana, Terza edizione, 2017 2) Per argomenti quali replicazione del DNA, DNA polimerasi III, riparazione del DNA, topologia del DNA: “Biologia Molecolare del Gene” Watson JD et al.- Settima Edizione – Zanichelli ed. 3) Per le tecniche del DNA ricombinante associare anche : “Dai Geni ai Genomi” J. W. Dale, M. von Schantz, N. Plant (terza edizione) - Edises <p>Per ulteriori consultazioni: “Genomi 4” Brown TA, EDISES “Il Gene X” Lewin B et al., Zanichelli ed.</p>
Note ai testi di riferimento	
Metodi didattici	Lezioni Frontali con diapositive in PowerPoint ed Esperienze di Laboratorio
Metodi di valutazione (scritto, orale, prove in itinere)	Scritto con prove in itinere
Criteri di valutazione (per ogni risultato di apprendimento atteso su indicato, descrivere cosa ci si aspetta lo studente conosca o sia in grado di fare e a quale livello al fine di dimostrare che un risultato di apprendimento è stato raggiunto e a quale livello)	Valutazione dell’acquisizione dei contenuti del corso e della proprietà di linguaggio nella esposizione dei contenuti del corso, relativamente sia alla prova scritta finale che agli elaborati delle prove in itinere e alle esperienze di laboratorio.
Altro	