



UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

COURSE SYLLABUS

Applied Molecular Biology

2021-1-F0802Q039

Obiettivi

L'insegnamento si articola in due moduli e si propone di fornire conoscenze avanzate relative all'organizzazione della cromatina ad alcuni processi coinvolti nel controllo dell'espressione genica. Particolare attenzione verrà rivolta all'aspetto metodologico approfondendo possibili applicazioni nel campo delle biotecnologie.

Conoscenza e capacità di comprensione.

Lo studente conoscerà l'organizzazione della cromatina, i meccanismi molecolari di regolazione epigenetica e sarà in grado di comprendere i meccanismi di controllo dell'espressione genica in eucarioti. Conoscerà e sarà padrone dei metodi di trasformazione di cellule animali e vegetali. Apprenderà, inoltre, l'organizzazione di genomi complessi ed i metodi di analisi degli stessi.

Capacità di applicare conoscenza e comprensione.

Lo studente sarà in grado di applicare le conoscenze acquisite nei successivi insegnamenti ed in esperienze di laboratorio e di utilizzare la capacità di comprensione ai fini di successive attività di studio e/o di ricerca.

Autonomia di giudizio.

Lo studente sarà in grado di elaborare quanto appreso e saprà riconoscere le situazioni e i problemi in cui le conoscenze apprese possano essere utilizzate.

Abilità comunicative.

Alla fine dell'insegnamento, lo studente saprà descrivere con proprietà di linguaggio e sicurezza di esposizione argomenti inerenti la biologia molecolare e le sue applicazioni.

Capacità di apprendimento.

Alla fine dell'insegnamento, lo studente sarà in grado di consultare la letteratura sugli argomenti trattati e saprà analizzare, applicare, integrare e collegare le conoscenze acquisite con quanto verrà appreso in insegnamenti correlati.

Contenuti sintetici

Analisi dell'espressione genica e identificazione di geni differenzialmente espressi.
Organizzazione della cromatina ed espressione genica.
Tecniche di analisi della cromatina a bassa e alta risoluzione.
Trasformazione di cellule vegetali e piante transgeniche.
Trasformazione di cellule animali, animali transgenici e KO.
Meccanismi di silenziamento genico.
Biologia molecolare degli organelli

Programma esteso

Modulo 1- Prof. Marina Vai

1. Analisi dell'espressione genica e identificazione di geni differenzialmente espressi. RT-PCR competitiva. Real Time PCR (Sybr green e sonde fluorescenti). Curve di melting. Real Time PCR quantitativa (relativa ed assoluta). Microarray a oligonucleotidi e a cDNA (spotting e fotolitografia, marcatura e disegno sperimentale), analisi dei dati (validazione e clustering). Alterazioni trascrizionali e localizzazione cromosomale. Analisi trascrizionali e applicazioni: nelle biotecnologie rosse (microarray-based diagnostic/prognostic tests), nelle biotecnologie verdi (miglioramento fragranza, colore e forma di cultivar di rosa).
2. Organizzazione della cromatina ed espressione genica. Struttura del nucleosoma. Modificazioni della cromatina. Codice istonico. Modificazioni istoniche e trascrizione. Complessi acetilasi (SAGA). Silencing, modello di assemblaggio della cromatina silente in lievito. Organizzazione telomeri lievito e uomo. Alterazioni nel silenziamento genico/nel remodeling della cromatina e patologie. Deacetilasi e cancro. Isole CpG e trascrizione. Metilazione del DNA e patologie (X fragile, sindrome di Rett).
3. Tecniche di analisi della cromatina a bassa e alta risoluzione. MSREs (Methylation-Sensitive Restriction Enzymes). Metodi basati sul trattamento con Bisolfito: Methylation-Specific PCR, Methyl-Light etc. Sensibilità alle nucleasi (DNasi micrococcale). Chromatin Immunoprecipitation (ChIP). ChIP on chips. Methylated DNA Immunoprecipitation (MeDIP). DNA methylation arrays.

Modulo 2- Prof. Enzo Martegani

1. Trasformazione di cellule vegetali: Plasmidi di "Agrobacterium" e loro uso, metodo biolistico e trasformazione dei cloroplasti. Controllo dell'espressione genica nelle piante, piante transgeniche e loro applicazioni, produzione di proteine ricombinanti e di vaccini.
2. Espressione in eucarioti superiori: Trasformazione di cellule di mammifero, vettori virali e retrovirali. Produzione industriale di proteine ricombinanti con cellule di mammifero. Gene-targeting in mammiferi. Topi knock-out e knock-in e loro applicazioni per ricerca di base e applicata. Modificazioni mirate del genoma, zinc-finger nucleases, TALEN e CRISP-Cas9.
3. Silenziamento genico post-trascrizionale: Oligonucleotidi antisenso, Ribozimi e RNA interferenti. Meccanismi molecolari del silenziamento da RNA interferenti, microRNA e short-hairpin RNA.
4. Biologia molecolare degli organelli: Organizzazione ed espressione del genoma mitocondriale e di cloroplasti. RNA editing. Patologie legate al mitocondrio.
5. Genomica e bioinformatica: Organizzazione del genoma e strategie di sequenziamento. Analisi del genoma umano. Sequenze ripetute (LINE e SINE). Origine ed evoluzione degli introni. Banche dati di acidi nucleici e di proteine.

Prerequisiti

Prerequisiti: nozioni fondamentali di biologia molecolare.
Propedeuticità: nessuna.

Modalità didattica

Lezioni frontali. L'insegnamento sarà svolto con l'ausilio di diapositive.

L'insegnamento verrà tenuto in lingua italiana

Materiale didattico

Slide e articoli scientifici reperibili sulla piattaforma e-learning dell'insegnamento.

Testi consigliati:

- B. Lewin "Il gene VIII" Zanichelli
- R.F. Weaver "Biologia Molecolare" McGraw-Hill.
- J.W. Dale, M. von Schantz "Dai geni ai genomi" EdiSES
- R.J. Reece "Analisi dei geni e genomi" EdiSES
- G. Gibson, S. Muse "Introduzione alla Genomica" Zanichelli
- G. Valle et al. "Introduzione alla Bioinformatica" Zanichelli

Periodo di erogazione dell'insegnamento

Secondo semestre

Modalità di verifica del profitto e valutazione

Esame orale: discussione di un lavoro scientifico su uno degli argomenti trattati durante il corso valutando la capacità e l'analisi critica di interpretazione dei risultati. Segue un'interrogazione convenzionale sul programma svolto.

Nel periodo di emergenza Covid-19 gli esami orali saranno solo telematici. Verranno svolti utilizzando la piattaforma WebEx e nella pagina e-learning dell'insegnamento verranno comunicate tutte le informazioni necessarie.

Orario di ricevimento

Ricevimento. Su appuntamento telefonico o via e-mail.

