UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

COURSE SYLLABUS

Molecular Biology II

2122-3-E0201Q062

Obiettivi

L’insegnamento si propone di fornire conoscenze e competenze relative ai sistemi di espressione in procarioti ed eucarioti; oltre alla caratterizzazione molecolare dei diversi sistemi di espressione verranno considerati aspetti applicativi in campo biotecnologico. Verranno, parallelamente, approfondite metodiche di biologia molecolare utilizzate per l’analisi dell’espressione genica e per lo studio in vivo delle interazioni fra macromolecole.

Conoscenza e capacità di comprensione.
Lo studente conoscerà alcuni sistemi di espressione in procarioti ed eucarioti e le loro applicazioni nell’ambito delle biotecnologie. Parallelamente, acquisirà competenze in metodologie biomolecolari necessarie per lo studio e l’analisi sperimentale dell’espressione genica e delle interazioni fra macromolecole.

Capacità di applicare conoscenza e comprensione.
Lo studente sarà in grado di applicare le conoscenze acquisite nei successivi insegnamenti nel campo delle discipline biomolecolari e in attività di laboratorio. Sarà, inoltre, in grado di comprendere lavori scientifici e avrà le competenze biomolecolari adeguate per sostenere argomentazioni in ambito biotecnologico.

Autonomia di giudizio.
Lo studente sarà in grado di elaborare quanto appreso e di affrontare e discutere criticamente lavori scientifici nell’ambito delle tematiche biomolecolari trattate.

Abilità comunicative.
Lo studente sarà in grado di esprimersi con proprietà di linguaggio nella trattazione di argomenti inerenti le tematiche biomolecolari trattate.

Capacità di apprendimento.

Lo studente sarà in grado di affrontare autonomamente studi successivi che richiedano le conoscenze biomolecolari acquisite applicando il metodo di studio acquisito.

Contenuti sintetici

Analisi qualitativa e quantitativa della trascrizione. Metodi di studio in vivo delle interazioni fra macromolecole. Sistemi di espressione in procarioti ed eucarioti.

Programma esteso

Analisi qualitativa e quantitativa della trascrizione. Northern relativa, Dot blot (ASO probe/diagnosi talassemie), RT-PCR relativa, RT-PCR applicazioni, RACE. Cenni sull'uso dei microarray per lo studio dell'espressione genica. Librerie a cDNA mediante RT-PCR.Tagged random primers-PCR.
Metodi di studio delle interazioni fra macromolecole. One-hybrid (DNA-proteina). Two-hybrid originale, reverse e split hybrid (proteina-proteina). Two-hybrid alternativi (Sos recruitment, Split-ubiquitin). Three hybrid (proteine-proteine, RNA-proteine).
Sistemi di espressione in procarioti. Espressione di proteine in Escherichia coli. Promotori inducibili. Sistemi di fusione per la purificazione di proteine (Ubiquitina, IMPACT).
Sistemi di espressione in eucarioti. Espressione in lievito. Marcatori auxotrofici e dominanti. Vettori (integrativi, episomici, YAC). Biologia del 2 micron. Gene targeting. Inattivazione genica. Pop-in e Pop-out. Vettori di espressione per lievito: promotori costitutivi ed inducibili. Sistema GAL. Plasmid shuffling. Vettori ad autoselezione. Espressione di proteine sia intracellulari che secrete (pathway secretivo e modificazioni co/post-traduzionali delle proteine). Parete cellulare. Yeast-based screening. Yeast surface display: applicazioni.
Espressione in cellule di mammifero. Sistemi di trasfezione di linee cellulari di mammifero. Espressione transiente e trasformanti stabili; marcatori di selezione (tk, dhfr e marcatori dominanti). Promotori costitutivi ed inducibili (Tet-on e Tet-off).
Espressione in cellule di insetto: il sistema del baculovirus.

Prerequisiti

Prerequisiti: Biologia molecolare
Propedeuticità specifiche: Biologia Molecolare I
Propedeuticità generali: Lo studente può sostenere gli esami del terzo anno dopo aver superato tutti gli esami del primo anno di corso

Modalità didattica

Lezioni frontali con l'ausilio di diapositive.
L'insegnamento è tenuto in lingua italiana.

Materiale didattico

Tutto il materiale didattico è reperibile sulla piattaforma e-learning dell'insegnamento.

Libri di testo consigliati:
- T.A. Brown “Biotecnologie molecolari” Zanichelli
- M. Maccarrone “Metodologie biochimiche e biomolecolari” Zanichelli
- R.J. Reece “Analisi dei geni e genomi” EdiSES
- J.W. Dale and M. von Schantz “Dai geni ai genomi” EdiSES

Periodo di erogazione dell'insegnamento

Primo semestre

Modalità di verifica del profitto e valutazione

Esame scritto (2 h).
L'esame consiste in domande aperte su argomenti trattati nell’insegnamento. Verrà valutata principalmente la capacità dello studente di “collegamento” dei diversi argomenti trattati.

Orario di ricevimento

Ricevimento: su appuntamento, previa e-mail al docente