

COURSE SYLLABUS

Applied Molecular Biology

2425-1-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. Apprenderà l'organizzazione di genomi complessi, i metodi di analisi degli stessi e dei relativi trascrittori.

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.

Gene targeting in mammiferi, animali transgenici.

Meccanismi di silenziamento genico.

Tecniche di sequenziamento su larga scala.

Concetti di analisi dati di sequenziamento su larga scala.

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 acetilasici (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. Chromatin Immunoprecipitation (ChIP). ChIP on chips. Methylated DNA Immunoprecipitation (MeDIP). DNA methylation arrays.

Modulo 2- Prof. Mattia Pelizzola

1. Espressione in eucarioti pluricellulari. 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 CRISPR-Cas9.
2. Silenziamento genico post-trascrizionale: Oligonucleotidi antisenso, Ribozimi e RNA interferenti. Meccanismi molecolari del silenziamento da RNA interferenti, microRNA e short-hairpin RNA.
3. Organizzazione del genoma e metodologie di sequenziamento a larga scala: sequenziamento per sintesi di tipo Illumina, sequenziamento a Nanopori. Applicazioni delle metodologie di sequenziamento: trascrizione genica (RNA-seq), trascrizione genica in singole cellule (scRNA-seq), analisi del legame di fattori regolativi a DNA e cromatina, e di modificazioni della cromatina (ChIP-seq).
4. Concetti di analisi di dati di sequenziamento a larga scala: la profondità di sequenziamento, controlli di qualità post-sequenziamento, allineamento dei dati grezzi, normalizzazione tra campioni, espressione assoluta e differenziale, siti di interazione di fattori a DNA e cromatina e modificazioni della cromatina.
5. Il ciclo vitale dell'RNA: regolazione co- e post-trascrizionale dell'espressione genica, sintesi di RNA nascente, processamento dell'RNA prematuro, degradazione dell'RNA maturo. Il ruolo della RNA Polimerasi 2.
6. Modificazioni epitrascrizionali dell'RNA: modificazioni dell'RNA non-codificante e messaggero, fattori che aggiungono/rimuovono/decodificano le modificazioni dell'RNA. Applicazioni biotecnologiche nella produzione di vaccini a RNA e nello sviluppo di farmaci anti-tumорali.

..

Prerequisiti

Prerequisiti: nozioni fondamentali di Biologia Molecolare.

Propedeuticità: nessuna.

Modalità didattica

28 lezioni frontali da 2 ore così strutturate:

- una parte in modalità erogativa (didattica erogativa, DE) focalizzata sulla presentazione-illustrazione di contenuti, concetti e principi scientifici
- una parte in modalità interattiva (didattica interattiva, DI) che prevede interventi didattici integrativi e brevi interventi effettuati dai corsisti.

Tutte le attività sono svolte in presenza.

L'insegnamento è tenuto in lingua italiana.

Materiale didattico

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

Testi consigliati:

- J.D. Watson et al. "Biologia molecolare del gene" Zanichelli
- G. Capranico et al. "Biologia Molecolare" EdiSES
- T.A. Brown "Biotecnologie molecolari" Zanichelli
- M. Romani "Epigenetica" Zanichelli
- M.H. Citterich et al. "Fondamenti di 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.

Orario di ricevimento

Ricevimento. Su appuntamento telefonico o via e-mail.

Sustainable Development Goals

SALUTE E BENESSERE
