

DIPARTIMENTO: FARMACIA

CORSO DI LAUREA: MAGISTRALE A CICLO UNICO IN CHIMICA E TECNOLOGIE FARMACEUTICHE

DOCENTE: prof. GIULIA RUSSO

INSEGNAMENTO: BIOCHIMICA GENERALE ED APPLICATA II

Tipologia di insegnamento: *caratterizzante*

Crediti formativi (CFU): 8

Settore Scientifico disciplinare (SSD): *BIO/10 BIOCHIMICA*

Posizionamento nel calendario didattico: *Il semestre del 3° anno*

Prerequisiti: *Nozioni acquisite con lo studio della Biochimica generale ed applicata I, Chimica generale, Chimica Organica, Biologia e Fisiologia.*

Propedeuticità: *Biochimica generale ed applicata I, Chimica generale, Biologia, Fisiologia.*

Commissione d'esame: *prof. Giulia Russo (Presidente); prof Rosario Ammendola (componente) prof. Annapina Russo (componente).*

Collaboratori di supporto all'attività didattica: *Dr. Annalisa Pecoraro*

OBIETTIVI FORMATIVI

Il corso prevede lo studio della struttura e della funzione del genoma procariotico ed eucariotico. Lo studente deve dimostrare di aver compreso: a) i meccanismi molecolari responsabili dell'espressione del genoma e della regolazione della sua espressione; b) i principi e l'uso delle più importanti tecniche oggi disponibili per lo studio e per la manipolazione del genoma umano comprese le tecniche utilizzate per la produzione di farmaci biotecnologici.

PROGRAMMA DEL CORSO

Le molecole dell'informazione genetica. *Struttura del DNA, superavvolgimento del DNA, le topoisomerasi, la cromatina, struttura dei cromosomi. Replicazione del DNA. La telomerasi. RNA come molecola informazionale: retrovirus, virioidi e prioni. Replicazione dell'RNA virale: RNA replicasi, la trascrittasi inversa*

Organizzazione strutturale dei geni procariotici ed eucariotici: regioni regolative, esoni ed introni. Pseudogeni. Organizzazione del genoma nei procarioti e negli eucarioti. DNA ripetitivo e DNA non ripetitivo. Organizzazione dei genomi degli organelli. Le mutazioni del DNA. I sistemi di riparo del DNA nei procarioti ed eucarioti.

Metodologie per l'isolamento e l'analisi di geni. *Tecniche di base per l'isolamento e la separazione degli acidi nucleici. Enzimi modificanti il DNA: DNA ligasi, DNA fosfatasi, DNasi, endonucleasi di restrizione. Amplificazione del DNA mediante PCR (polymerase chain reaction): principi ed applicazioni. Clonaggio di geni: plasmidi, vettori lambda, cosmidi e vettori Yac: caratteristiche strutturali e uso come vettori di clonaggio. Costruzione e selezione di librerie di DNA genomico e di cDNA. DNA microarray.*

La trascrizione. *Fasi della trascrizione nei procarioti e negli eucarioti. RNA polimerasi procariotica, RNA polimerasi eucariotiche. Promotori ed Enhancer. Caratteristiche strutturali e funzionali di RNA messaggero, RNA transfer, RNA ribosomali, snRNA, snoRNA, microRNA, RNA antisense. Il ciclo vitale dell'RNA messaggero nei procarioti e negli eucarioti. Basi molecolari della stabilità dell'RNA messaggero. Meccanismi molecolari della maturazione degli RNA. Lo splicing, splicing alternativo, autosplicing, RNA catalitico.*

Metodi per l'identificazione e l'analisi degli RNA: *preparazione RNA da cellule o tessuti, saggio di Northern blot, RT-PCR.*

Metodi per l'identificazione e lo studio di un promotore: *saggio CAT, saggio di ritardo su gel, DNA footprinting, saggio del doppio ibrido.*

Regolazione della espressione genica nei procarioti e negli eucarioti. *Organizzazione strutturale e funzionale di un operone. L'operone del lattosio e del triptofano, gli operoni dei geni per proteine ribosomali. Promotori ed enhancer di geni eucariotici. I fattori di trascrizione: domini di legame al DNA (elica-ripiegamento-elica, zinc finger, omeodominio), domini di interazione proteina-proteina (leucina zipper, elica ansa elica). Istoni: acetilazione e deacetilazione come controllo della attività della cromatina. Metilazione ed espressione genica. snRNA, microRNA nella regolazione dell'espressione genica.*

Regolazione genica post-trascrizionale e traduzionale: *il fenomeno della attenuazione nei procarioti, regolazione della stabilità dell'RNA messaggero, regolazione della traduzione: i geni associati al metabolismo del ferro. Meccanismi molecolari alla base del processo di localizzazione di mRNA. Meccanismi di controllo di qualità di mRNA: NMD.*

Codice genetico: *la decifrazione del codice genetico., segnali di inizio e termine della traduzione, le amminoacil-tRNA sintetasi.*

Sintesi proteica. *Ribosomi come sito della sintesi proteica. Formazione del legame peptidico. Inizio, allungamento e terminazione della catena polipeptidica. Inibitori della sintesi proteica. Cenni sul meccanismo di azione degli antibiotici nella biosintesi del DNA, RNA e proteine.*

Localizzazione delle proteine. *Sequenze segnale. Meccanismi di localizzazione di proteine nel reticolo endoplasmatico, nel Golgi, nella membrana plasmatica, nel mitocondrio. Segnali di "import" ed "export" dal nucleo di proteine ed RNA. Il proteosoma.*

Tecniche di manipolazione di acidi nucleici. *Il DNA complementare (cDNA). Costruzione e selezione di librerie di cDNA. Introduzione di geni clonati in cellule in coltura e studio della loro espressione. Espressione stabile e transiente: geni per la selezione. Produzione su larga scala di proteine ricombinanti: vettori di espressione procariotici ed eucariotici. Esempi di sistemi di espressione utilizzati per la produzione di proteine ricombinanti di interesse farmacologico. I vaccini ricombinanti. Produzione di anticorpi monoclonali chimerici e tecniche utilizzate per la produzione di anticorpi monoclonali umanizzati.*

TESTI E MATERIALE DIDATTICO CONSIGLIATO

Lewin B., **Il gene**, Zanichelli, edizione più recente

Watson J.D., et al. **Biologia Molecolare del Gene** – Zanichelli, edizione più recente
Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani, **Biologia molecolare**, Casa editrice Ambrosiana, edizione più recente
J.D. Dale, **Dai geni ai genomi**-Edises, edizione più recente
Brown, **Bioteχνologie molecolari**- Zanichelli, edizione più recente

METODI DIDATTICI/ORGANIZZAZIONE DELL'INSEGNAMENTO

Lezioni Frontali

MODALITÀ DI VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO

Durante il corso sono previste prove in itinere scritte; la valutazione di queste è un dato utile allo studente per una autovalutazione del suo impegno e dei risultati raggiunti. Il superamento delle prove in itinere esonera dalla prova scritta d'esame. Le prove in itinere e la prova scritta hanno una valutazione da A (max) a D (min).

Il voto finale d'esame è espresso in trentesimi da 18/30 a 30/30 e lode e tiene conto:

a) della valutazione della prova scritta; b) delle conoscenze acquisite inerenti le caratteristiche strutturali e funzionali degli acidi nucleici c) dalle conoscenze acquisite sulla regolazione dell'espressione del genoma e sulle principali tecniche di manipolazione degli acidi nucleici.

L'attribuzione del voto avviene secondo i criteri riportati in Tabella:

Voto	Descrittori
< 18 <i>insufficiente</i>	<i>Conoscenze frammentarie e superficiali dei contenuti, errori nell'applicare i concetti, prova scritta insufficiente ed esposizione carente</i>
18 - 20	<i>Conoscenze dei contenuti sufficienti ma generali, esposizione semplice, incertezze nell'applicazione di concetti teorici</i>
21 - 23	<i>Conoscenze dei contenuti appropriate ma non approfondite, capacità di applicare i concetti teorici, capacità di presentare i contenuti in modo semplice</i>
24 - 25	<i>Conoscenze dei contenuti appropriate ed ampie, discreta capacità di applicazione delle conoscenze, capacità di presentare i contenuti in modo articolato.</i>
26 - 27	<i>Conoscenze dei contenuti precise e complete, buona capacità di applicare le conoscenze, capacità di analisi, esposizione chiara e corretta</i>
28 - 29	<i>Conoscenze dei contenuti ampie, complete ed approfondite, buona applicazione dei contenuti, buona capacità di analisi e di sintesi, esposizione sicura e corretta,</i>
30 30 e lode	<i>Conoscenze dei contenuti molto ampie, complete ed approfondite, capacità ben consolidata di applicare i contenuti, ottima capacità di analisi, di sintesi e di collegamenti interdisciplinari, padronanza di esposizione</i>