

Attività formativa:	GENETICA				
Modulo didattico:	GENETICA MOLECOLARE				
CFU	6				
Ore	48				
Tipo	Lezioni frontali				
Obiettivo formativo	Al termine del modulo, lo studente avrà conoscenze adeguate circa la manipolazione genica in sistemi modelli genetici quali lievito, <i>C. elegans</i> , topo utilizzati per identificare geni interattori. Avrà inoltre acquisito la logica alla base di tecnologie molecolari ad ampio spettro per lo studio, modificazione degli acidi nucleici e per la generazione di mutanti costitutivi o condizionali nei sistemi modello presi in esame.				
TEMATICA			LEZIONI		
Tema	Obiettivo	Ore		Argomenti	Durata (ore)
Introduzione	Lo studente conosce l'organizzazione dell'insegnamento, della verifica e degli argomenti da studiare.	2	1	Organizzazione delle lezioni e modalità di verifica dell'apprendimento. Introduzione agli argomenti del programma che hanno come argomento di riferimento principale l'impiego di tecniche di screening genetico per l'identificazione di geni interattori e la ricostruzione di reti di interazioni genetiche.	2
Genetica molecolare in <i>S. cerevisiae</i>	Lo studente conosce le metodiche per costruire mappe geniche in lievito usando marcatori multipli.	4	2	Analisi delle tetradi non ordinate in lievito. Strategie per la selezione di mutanti. Test di recessività/dominanza e test di complementazione	2
			3	Incroci in lievito e mappatura di marcatori multipli. Uso del centromero come marcatore di mappa. Determinazione della frequenza di ricombinazione e correzione della stessa per la determinazione della distanza di mappa.	2
Genetica Molecolare in <i>S. Cerevisiae</i>	Lo studente acquisisce le metodiche per la generazione di mutanti mirati e per verificarne la corretta sequenza del DNA	4	4	Tecniche della PCR-mediated gene replacement e del two-step gene replacement.	2
			5	Metodi di sequenziamento del DNA.	2
Genetica Molecolare in <i>S. cerevisiae</i>	Lo studente impara a pianificare esperimenti di screen genetici per l'identificazione di geni interattori	6	6	Screen di soppressione. Si prende in esame il caso-studio di RPB1 codificante per la subunità maggiore della RNA pol II per l'identificazione dei geni che codificano le altre subunità interagenti.	2
			7	Screen di letalità sintetica. Si prende in esame il caso-studio di RTF1 codificante per una componente del complesso del mediatore coinvolto nella regolazione della trascrizione.	2
			8	Screen con il sistema dei due ibridi. Si dà risalto agli aspetti genetici di come debba essere impostato lo screen e di come utilizzare i vettori di espressione. Si prende in considerazione il caso-studio di GCN4.	2
Genetica molecolare in <i>C. elegans</i>	Lo studente conosce alcune metodiche per generare mutanti in <i>C. elegans</i> e fenocopie attraverso il sistema del RNAi.	6	9	Ciclo vitale del <i>C. elegans</i> . Sviluppo e ontogenesi cellulare. Vettori d'espressione in <i>C. elegans</i> . Uso dei geni reporter per lo studio ontogenetico di linee e tessuti in <i>C. elegans</i>	2
			10	Osservazioni genetiche e molecolari che ipotizzano un ruolo del RNA a doppia elica nel controllo dell'espressione genica. Esperimento di Fire e Mello sul gene <i>Mex-3</i> . Concetto di fenocopia.	2

			11	Identificazione di mutanti che dimostrano che il fenomeno di RNAi ha basi genetiche. Analisi degli incroci descritti nel lavoro di Grishok e Mello.	2
Genetica molecolare in <i>Mus musculus</i>	Lo studente conosce le metodiche e le strategie più recenti per generare e analizzare mutanti sito-specifici in topo	26	12	Derivazione e mantenimento delle cellule staminali embrionali murine (mESC). Esperimenti di Evans di trasferimento di mESC in blastocisti murine. Tecnica di inattivazione genica mirata ideata da Mario Capecchi	2
			13	Generazione di celle mESC geneticamente modificate. Analisi della corretta modificazione con i metodi del Southern Blotting e della PCR.	2
			14	Produzione di topi chimera e uso di questi per la generazione di animali eterozigoti e omozigoti portanti la modificazione genica. Analisi dei possibili rapporti fenotipici della progenie. Fenotipi organici e comportamentali. Letalità embrionale. Analisi di vari casi studio.	2
			15	Produzione di animali con mutazioni multiple. Eterozigoti composti. Descrizione di fenotipi complessi riconducibili ai fenomeni di dominanza negativa, aploinsufficienza, enhancement sintetico, letalità sintetica. soppressione, non complementazione del secondo sito. Il caso studio dei geni HOXD10-13.	2
			16	Inattivazione genica mirata condizionale secondo il metodo di Bradley e Soriano. Uso del sistema CRE/loxP.	2
			17	Caso studio: inattivazione genica condizionale del gene ALK3 durante la miocardiogenesi.	2
			18	Generazione di topi transgenici secondo il metodo Smithies. Uso di reporter-traps per lo studio dell'espressione di un gene durante lo sviluppo.	2
			19	Ingegneria cromosomica. Produzione di riarrangiamenti cromosomici mirati (traslocazioni, inserzioni, duplicazioni, inversioni, cromosomi circolari e acentrici) nel topo. Il caso studio della traslocazione BCR-ABL.	2
			20	Vettori per la transgenesi condizionale (TET-off, TET-on, ER). Caso studio: determinazione della finestra temporale d'espressione del gene ENDRB nei melanociti durante lo sviluppo embrionale.	2
			21	Generazione di librerie di mESC attraverso gene trapping	2
			22	Generazione di mutazioni mirate in mESC usando il sistema della CRISPR/CAS9	2
			23	Generazione di fenocopie funzionali di mESC attraverso l'uso di vettori che esprimono shRNA inducibili	2
			24	Screening di fenotipi in mESC usando librerie bar-coded lentivirali di shRNA	2