

Attività formativa:	BIOLOGIA MOLECOLARE DEGLI EUCARIOTI				
Modulo didattico:	BIOLOGIA MOLECOLARE DEGLI EUCARIOTI				
CFU	5				
Ore	40				
Tipo	Lezioni frontali				
Obiettivo formativo	Al termine del modulo, lo studente ha conoscenze adeguate dei meccanismi nucleari fondamentali dell'espressione genica nella cellula eucariotica. In particolare, lo studente conosce i meccanismi e la regolazione della trascrizione e della maturazione dei trascritti, e la struttura e regolazione della cromatina.				
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: la logica della regolazione della trascrizione e dell'espressione genica negli eucarioti.	2
Organizzazione dei genomi eucariotici	Lo studente conosce le modalità organizzative, strutturali e funzionali dei genomi e la struttura dei geni.	4	2	Anatomia molecolare di un gene eucariotico: definizione, conservazione degli esoni e della loro organizzazione strutturale, ed elevata variabilità intronica. Pseudogeni, famiglie e cluster di geni. I geni degli RNA ribosomali: ripetizioni in tandem. I geni delle globine, evoluzione e meccanismo delle talassemie.	2
			3	Complessità dei genomi: contenuto informativo dei genomi eucariotici. Analisi di rinaturazione e determinazione del Cot1/2. Sequenze uniche, sequenze altamente e moderatamente ripetute: DNA satelliti e microsatelliti, sequenze telomeriche, retrovirus, retroposoni, sequenze SINES, LINES e pseudogeni processati. Funzioni e applicazioni delle sequenze ripetute.	2
Struttura e funzioni della cromatina	Lo studente conosce la struttura del nucleosoma e della cromatina, le tecniche di studio relative, e le principali modificazioni degli istoni.	4	4	Cromatina: compattazione del DNA ed organizzazione gerarchica della cromatina. Istoni: evoluzione e varianti istoniche. Struttura ai raggi X del nucleosoma. Histone fold.	2
			5	Sensibilità alle nucleasi e struttura della cromatina: siti di ipersensibilità alla Dnasi I. Posizione traslazionale e rotazionale dei nucleosomi. Modificazioni post-trascrizionali degli istoni: acetilazione, metilazione, fosforilazione e ubiquitinazione.	2
Meccanismo della trascrizione eucariotica	Lo studente conosce la struttura e la funzione delle RNA polimerasi, l'organizzazione dei promotori, il meccanismo di	12	6	RNA polimerasi eucariotiche e classi di RNA cellulari. Subunità delle RNA polimerasi: conservazione evolutiva, struttura e funzioni. Struttura ai raggi X della RNA polimerasi II.	2
			7	Meccanismo catalitico e traslocazione della RNA polimerasi II. Organizzazione dei promotori di classe II. Elementi in- cis e fattori in-trans. Motivi prossimali e	2

	assemblaggio del complesso di pre-inizio e le principali tecniche di studio relative.			distali dei promotori di classe II: TATA box, Inr e DPE, CAAT e GC box.	
			8	Organizzazione dei promotori di classe I e III. Motivi e fattori in-trans dei promotori di classe I e III. Fattori di trascrizione generali: struttura di TBP in complesso con il DNA.	2
			9	Funzione di TBP. Saggi sperimentali per lo studio della trascrizione: saggi in vitro (Gel mobility shift assay; DNA footprinting) ed in vivo (CAT assay).	2
			10	Fattori di trascrizione generali: TFIID, TFIIA, TFIIB, TFIIF, TFIH, TFIIIE. Meccanismo di formazione del complesso di preinizio e ruolo delle TAF. Meccanismo di rilascio dal promotore: ruolo di TFIH e del dominio carbossi terminale della subunità maggiore di RNA polimerasi II.	2
			11	Meccanismo di assemblaggio dei complessi di pre-inizio dei promotori di classe I e III: ruolo dei relativi fattori di trascrizione generali.	2
Regolazione della trascrizione eucariotica	Lo studente conosce l'organizzazione strutturale e le funzioni dei fattori di attivazione e repressione, di complessi proteici di attivazione, del ruolo della cromatina, e conosce le relative tecnologie sperimentali.	10	12	Regolazione della trascrizione. Fattori di trascrizione a monte ed inducibili per promotori di classe II. Struttura e funzione del mediatore e di alcuni co-attivatori. Enhancers e silencers.	2
			13	Domini proteici di interazione con il DNA e di attivazione trascrizionale: strutture e funzioni. Fattori di trascrizione e promotori ibridi. Tecnologia del sistema a due ibridi: applicazioni.	2
			14	Dominio a dita di zinco e varianti: struttura e funzioni di Sp1, Gal4 e famiglia dei recettori steroidei. Meccanismi di attivazione di fattori inducibili.	2
			15	Domini proteici di interazione con il DNA: domini helix-turn-helix, helix-loop-helix e leucine zipper. Struttura e funzioni di fattori omeotici, AP1 e MyoD. Meccanismi di attivazione di fattori inducibili. Fattori di trascrizione di elongazione: pausa trascrizionale e ruolo di pTEFb. Fattore TFIIS.	2
			16	Ruolo della cromatina nella regolazione della trascrizione. Fattori di rimodellamento della cromatina e regioni libere da nucleosomi sui promotori. Meccanismi epigenetici: deacetilasi e acetilasi istoniche.	2
Maturazione dei trascritti negli eucarioti	Lo studente conosce il meccanismo della rimozione degli introni, e della formazione dei terminali 5' e 3' degli mRNA maturi.	6	17	Maturazione co-trascrizionale dei trascritti. Classi di introni. Meccanismo dello splicing degli introni dei pre-mRNA.	2
			18	Meccanismo di autosplicing degli introni di gruppo II e I. Meccanismo enzimatico di splicing degli introni dei tRNA. RNA autocatalitici e ribozimi.	2
			19	Maturazione del terminale 5', pausa trascrizionale delle RNA polimerasi e il fattore di elongazione pTFIIB. Meccanismo di terminazione della trascrizione e maturazione del terminale 3'.	2
			20	Test in itinere.	2