

Attività formativa:	Biologia Molecolare degli Eucarioti, con Laboratorio			
Modulo didattico:	Biologia Molecolare degli Eucarioti, con Laboratorio			
CFU	7+2			
Ore	56 frontali + 30 laboratorio			
Tipo	Lezioni frontali e Laboratorio			
TEMA	ORE COMPLESSIVE DI CIASCUN TEMA	CONTENUTI	DURATA (ORE) DI CIASCUN CONTENUTO	TIPO (F= frontale, L= Laboratorio, E=esercitazioni)
Introduzione al CdS e all'Insegnamento	1	Orario delle lezioni, Finestre e appelli d'esame, Tirocinio. Materiale didattico, Esercizi, Prova scritta, Relazione di laboratorio.	1	F
Risultati sperimentali	2	Qualità degli articoli scientifici. Impact factor. Riproducibilità dei risultati sperimentali pubblicati. Correzione e ritrattazione. Errori e frodi. Duplicazione dei risultati: il "loading control" nel western blot.	2	F
Organismi modello: C.elegans.	2	Breve introduzione sulle caratteristiche generali dei principali organismi modello eucarioti usati nella ricerca biomedica. Approfondimento del modello Caenorhabditis elegans.	2	F
Sintesi dell'RNA	1	Tecniche per la sintesi in vitro di RNA. Gli RNA antisenso. La co-soppressione.	1	F
RNAi e dsRNA	2	La scoperta dell'interferenza dell'RNA: l'interferenza genetica in C.elegans è mediata dal dsRNA.	2	F
Marcatura RNA	1	La marcatura radioattiva dell'RNA: marcatura al 5' e marcatura interna.	1	F
siRNA	3	L'RNAi è mediata da RNA di 21-23 nucleotidi. Gli "short interfering RNA" (siRNA).	3	F
Dicer	2	Il ruolo di Dicer nell'RNAi.	2	F
RNAi e stRNA	3	Dicer e Alg1/2 nell'RNAi e nel funzionamento degli stRNA di C.elegans.	3	F
miRNA	2	La scoperta dei microRNA (miRNA).	2	F
Asimmetria funzionale siRNA	2	L'asimmetria funzionale dei siRNA. Implicazioni tecnologiche e modello sulla biogenesi dei miRNA.	2	F
Argonauta	2	La famiglia delle proteine Argonauta: struttura, funzione e meccanismo d'azione. I "P-bodies" citoplasmatici.	2	F
Esperimenti miRNA/mRNA	2	Analisi bioinformatica per l'analisi dei geni target dei miRNA.	1	F
		Validazione sperimentale per studiare miRNA/mRNA.	1	F
Drosha/DGCR8	3	La biogenesi dei miRNA: pri-miRNA, pre-miRNA e il microprocessore Drosha/DGCR8.	3	F
Progettazione siRNA e shRNA	2	Regole per la progettazione e l'uso sperimentale di siRNA e shRNA (promotori, strategie di clonaggio, controlli sperimentali, effetti aspecifici).	2	F
piRNA	3	I PIWI-interacting RNA (piRNA): processamento primario, ping-pong cycle, Yb-bodies, pi-bodies e piP-bodies.	3	F
PTGS	2	Meccanismi di regolazione post-trascrizionale dei miRNA.	2	F

RNAi e eterocromatina	4	L'RNAi transittiva: il ruolo delle RprP nel processo di amplificazione. Ruolo della trascrizione e RNAi nella formazione dell'eterocromatina.	2	F
		La formazione di eterocromatina in <i>S. pombe</i> .	2	F
Progetto ENCODE	2	Exoma, Trascrittoma, Reguloma. Il progetto ENCODE: le tecniche utilizzate (RNA-seq, CAGE, RNA-PET, ChIP-seq, FAIRE-seq, RRBS) e i principali risultati.	2	F
Modificazione post-traduzione (PTM) delle proteine.	2	Il proteoma. La modificazione post-traduzionale delle proteine. Tecniche per lo studio delle proteine: anticorpi, anticorpi monoclonali, elettroforesi bidimensionale.	2	F
Interazione tra proteine	2	Studio dell'interazione tra proteine: sistema dei due ibridi di lievito, GST- pull down, tandem affinity purification (TAP), co-immunoprecipitazione (co-IP).	2	F
Degradazione delle proteine	1	La degradazione delle proteine:Hershko e la scoperta del ruolo dell'ubiquitina.	1	F
Ubiquitinazione	5	La cascata enzimatica dell'ubiquitinazione. Diversi tipi di poli-ubiquitinazione.	2	F
		La degradazione delle proteine mediata dal proteasoma 26S.	2	F
		Regolazione delle proteine mediante mono-ubiquitinazione: regolazione degli istoni, endocitosi.	1	F
Sumoilazione	4	La sumoilazione delle proteine.	3	F
		Il consenso di sumoilazione canonico: analisi bioinformatica e saggio di sumoilazione.	1	F
Sox10	1	Il fattore di trascrizione Sox10 come substrato della sumoilazione.	1	F
Saggio di sumoilazione	30	Trasfezione di cellule Hek-293 con vettori di espressione.	2	L
		Preparazione soluzioni e tamponi.	2	L
		Estratti proteici da cellule trasfettate (RIPA).	3	L
		Quantificazione delle proteine estratte (Bradford).	4	L
		Elettroforesi delle proteine su gel denaturante (SDS-PAGE).	8	L
		Trasferimento delle proteine su nitrocellulosa.	2	L
		Western blot con anticorpi monoclonali anti-HA.	7	L
		Visualizzazione mediante Chemi doc.	1	L
Analisi e discussione dei risultati.	1	L		