

GBFM – 2010/2011

Modulo di Biologia Molecolare (mutuato da LM BCM)

Argomenti delle lezioni per Sanum.

- 1      22/11/10      I progetti di sequenziamento dei grandi genomi. Genomica comparativa. Organizzazione di geni e genomi in procarioti ed eucarioti. Il genoma Umnao: classificazione delle sequenze non codificanti. Elementi mobili, ricombinazione ed evoluzione genica. Classificazione funzionale dei geni (gene ontology).
- 2      24/11/10      L'evoluzione tecnica del sequenziamento degli acidi nucleici: da Sanger ad NGS. Deep-sequencing. Espressione genica totale: tecniche ad ibridazione (microarrays) varianti tecniche disponibili (cDNA, oligonucleotidi, bead-arrays). Misure relative ed assolute, rappresentazione con heat-map.
- 3      26/11/10      Discussione di un lavoro con microarrays in lievito: Chu et al, 1998, Science 282:600. Utilizzo dei microarray per mappatura funzionale del genoma: tiling arrays. Metodi di analisi con sequenziamento (EST, SAGE, CAGE): scoperta di numerosi trascritti imprevisti.
- 4      29/11/10      Comparazione dei metodi per l'analisi del trascrittoma. Il metodo della RNA-Seq. Sequenziamento di massa su microfluidico con tecnica Illumina-Solexa. Verifica dei dati: qRT-PCR e spike-in. Analisi di un lavoro su cellule umane con RNA-Seq: Sultan et al., 2008, Science 321:956.
- 5      01/12/10      Dalla struttura classica dei promotori eucariotici, studiata attraverso geni "esempio", alle moderne conoscenze sui promotori, derivata dalla mappatura "genomica" dei trascritti. Convergenza dei risultati di CAGE e di ChIP-chip/ChIP-Seq per RNA Pol II e modificazioni istoniche.
- 6      12/03/10      L'analisi dei trascrittomi con i metodi attuali rivela un'antologia complessa di trascritti non codificanti. I micro-RNA ed il meccanismo dell'interferenza ad RNA. endo-siRNA ed altri RNA che funzionano con pathways simili. I piccoli trascritti di inizio e fine gene.
- 7      06/12/10      Generazione di varietà mediante splicing alternativo. Esempi di uso estremo di AS, il gene Dscam in Drosophila. Metodi di studio: exonic arrays, exon-junction arrays, RNA-sequencing. Differenze strutturali tra esoni costitutivi ed alternativi rivelate da analisi su vasta scala.
- 8      10/12/10      Struttura della cromatina e trascrizione genica. Varianti istoniche associate ad eterocromatina. Le modificazioni post-trascrizionali degli istoni ed il "codice istonico". Proteine leganti le mdificazioni istoniche. Metodi di studio. La metilazione del DNA: analisi genome-wide.
- 9      13/12/10      I meccanismi della regolazione epigenetica nello sviluppo. Ciclo e meccanismi di mantenimento dei profili di metilazione CpG. Meccanismi di mantenimento dello stato cromatico alla divisione cellulare. Silencers e Insulators. Imprinting genomico nei mammiferi e meccanismi: ruolo di ncRNA. Determinazione e mantenimento dell'eterocromatina centromerica in lievito dipendono da RNA interferenza: il complesso RITS