

PROF. DIANA FIORENTINI

PROGRAMMA "MODULO BIOCHIMICA II" - A.A. 2011-2012

(la conoscenza di questi argomenti sarà accertata mediante prova scritta – prova in itinere)

Struttura generale degli acidi nucleici: legame 5'-3' fosfodiesterico. Direzionalità e polarità delle catene polinucleotidiche. Idrolisi basica dell'RNA. Idrolisi enzimatica degli acidi nucleici. Generalità sulle endonucleasi di restrizione.

Struttura del DNA: struttura elicoidale – presenza di due filamenti – importanza dei legami ad idrogeno - appaiamento delle basi – modello proposto da Watson e Crick. Complementarietà dei filamenti. Fattori che stabilizzano la doppia elica. Denaturazione del DNA.

Superavvolgimenti del DNA in *E.Coli*: supereliche negative e positive e loro significato. Topoisomerasi.

Superavvolgimento del DNA negli eucarioti: proteine istoniche – polinucleosomi - struttura della cromatina. Acetilazione/deacetilazione degli istoni.

Dogma centrale. descrizione

Replicazione del DNA in *E.Coli*: replicazione semiconservativa - bidirezionale – formazione di primer - chimica della reazione di polimerizzazione e considerazioni energetiche. Caratteristiche della DNA polimerasi III: direzione di polimerizzazione, velocità, processività, fedeltà di replicazione, OriC e formazione della forcella di replicazione - Allungamento: filamento leader e filamento lento, frammenti di Okazaki. Fedeltà di replicazione: attività di proof-reading della DNA polimerasi III. Funzioni della DNA polimerasi I e sue caratteristiche - DNA ligasi – Cenni alla duplicazione del DNA negli eucarioti. Cenni al DNA mitocondriale degli eucarioti.

Danni al DNA degli eucarioti: generalità, deaminazione della citosina, danni da radiazioni, agenti alchilanti ed intercalanti, danni da ROS. Correlazione tra danni al DNA e sviluppo del cancro.

Struttura RNA: filamento unico - basi modificate e loro descrizione - bolle, forcine, ripiegamenti. Forme mature di mRNA, tRNA ed rRNA eucariotici e loro funzioni.

Trascrizione in *E. Coli*: differenza tra replicazione e trascrizione - filamento stampo e non stampo - caratteristiche della RNA polimerasi di *E. Coli* – fedeltà di trascrizione – bolla di trascrizione - termine. Promotori e subunità sigma della RNA polimerasi - geni costitutivi e non costitutivi - struttura dei promotori e sequenze consenso - promotori forti e deboli. Cenni alla trascrizione negli eucarioti. Trascrizione/traduzione nei procarioti e negli eucarioti.

Maturazione RNA: trascritti primari nei procarioti: RNA policistronici – operoni. Trascritti primari negli eucarioti: maturazione degli RNA – introni ed esoni – splicing. Conseguenze di mutazioni nello splicing: mRNA delle catene beta dell'emoglobina. Splicing alternativo: significato ed esempio della calcitonina.

Espansione del dogma centrale: sintesi di DNA a partire da RNA - trascrittasi inversa e sue caratteristiche – AZT. Ulteriore espansione del dogma.

Controllo della trascrizione: subunità sigma alternative dei procarioti. Induzione e repressione del lac-operon. Cenni alla regolazione della trascrizione negli eucarioti: fattori di trascrizione - meccanismo d'azione di ormoni steroidei come esempio di sequenze enhancer.

Amminoacilazione: descrizione della reazione in due tappe - riconoscimento del corretto amminoacido - amminoacil-tRNA-sintetasi e proof-reading - riconoscimento del corrispondente tRNA.

Codice genetico: definizione. Codoni, modalità di lettura, effetti di inserzioni/delezioni, associazione codoni/amminoacidi. Descrizione del quadro completo - degenerazione – effetti di possibili mutazioni. Gli RNAt come interpreti del codice.

Appaiamento codone-anticodone: ipotesi della base vacillante. Riconoscimento di 61 codoni mediante 32 tRNA. AUG iniziale e AUG per la metionina.

Traduzione: Sequenza di Shine-Dalgarno - formazione del complesso di inizio. Allungamento: elementi necessari - scelta del corretto aa-tRNA - formazione del legame peptidico. Termine: legame di fattori di rilascio - liberazione del polipeptide. Cenni alle modificazioni post-traduzionali delle proteine –

Clonazione del DNA: endonucleasi di restrizione - frammentazione di DNA - vettori di clonaggio - preparazione del DNA ricombinante – trasfezione - amplificazione del DNA mediante coltura batterica.