



International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology (ICGEB), Trieste, Italy



Recapito docente

Chiara Collesi

ICGEB

Molecular Medicine Unit

e-mail: ccollesi@units.it

Tel: 040-3757375



1

Laurea in Biologia Molecolare
Universita' di Torino

Specializzazione in Biochimica e Chimica Clinica
Universita' di Torino

Tyrosine Kinase Receptor
Signaling in Cancer

2

Post-doc
IFOM e DiBiT, Istituto Scientifico San Raffaele
Milano

Post-doc
Dept. of Cell Biology, Yale University
New Haven, CT, USA

Clatrin Coated Vescicle
Endocytosis in Neurons

3

Ricercatore in Biologia Molecolare
Universita' di Trieste

Molecular Medicine, ICGEB, Trieste

Professore Associato in Biologia Molecolare
Universita' di Trieste

Molecular Medicine, ICGEB, Trieste

Cell proliferation and Regeneration
in the Heart

- Di che cosa si occupa la Biologia Molecolare?
- Che cosa vi aspettate di studiare?
- Perche' pensate possa esservi utile?

Che cosa studieremo?

Dove e' scritta l'informazione genica:

Replicazione

Come si esprime l'informazione genica:

Trascrizione e Traduzione

In
PROCARIOTI
ed
EUCARIOTI

Meccanismi di CONTROLLO dell'espressione genica:

piccoli RNA regolatori

Come l'ambiente influenza l'espressione genica:

Epigenetica

Come l'espressione genica influenza la Farmacologia

La Biologia Molecolare nel 2022

Tecniche di Biologia Molecolare

Ingegneria Genetica

Terapia Genica

Gene e Genome Editing

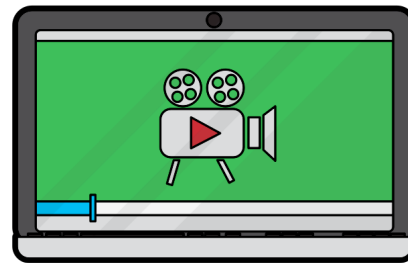
Medicina Molecolare

Come?

✓ Lezioni Frontali



✓ Video



✓ Commenti di Articoli

Article

The oldest gnathostome teeth

<https://doi.org/10.1038/s41586-022-05166-2>

Received: 24 April 2020

Accepted: 29 July 2022

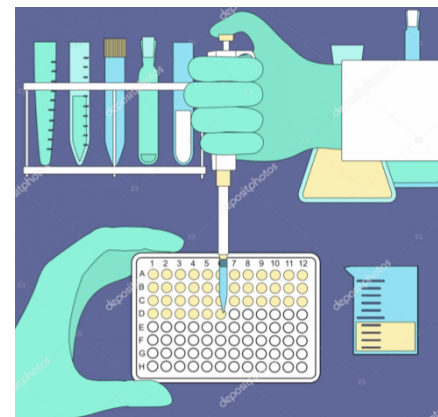
Published online: 28 September 2022

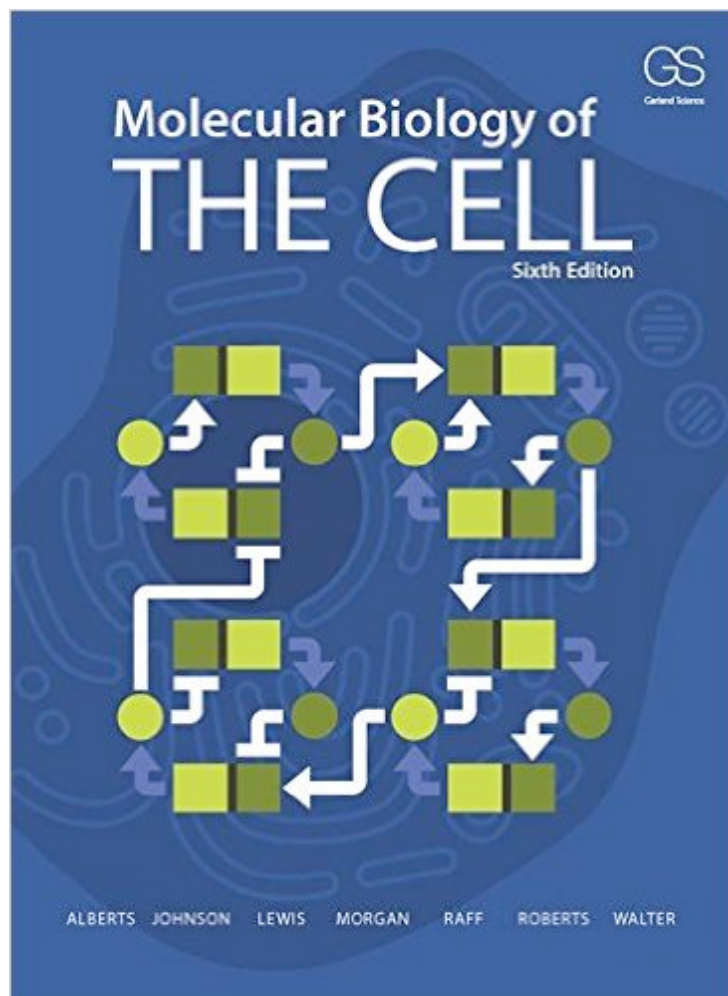
 Check for updates

Plamen S. Andreev^{1,2,7}, Ivan J. Sansom^{3,7}, Qiang Li^{1,2,7}, Wenjin Zhao^{2,4,5}, Jianhua Wang¹, Chun-Chieh Wang⁶, Lijian Peng¹, Liantao Jia², Tuo Qiao^{2,4} & Min Zhu^{2,4,5,8}

Mandibular teeth and dentitions are features of jawed vertebrates that were first acquired by the Palaeozoic ancestors^{1–3} of living chondrichthyans and osteichthyans. The fossil record currently points to the latter part of the Siluri

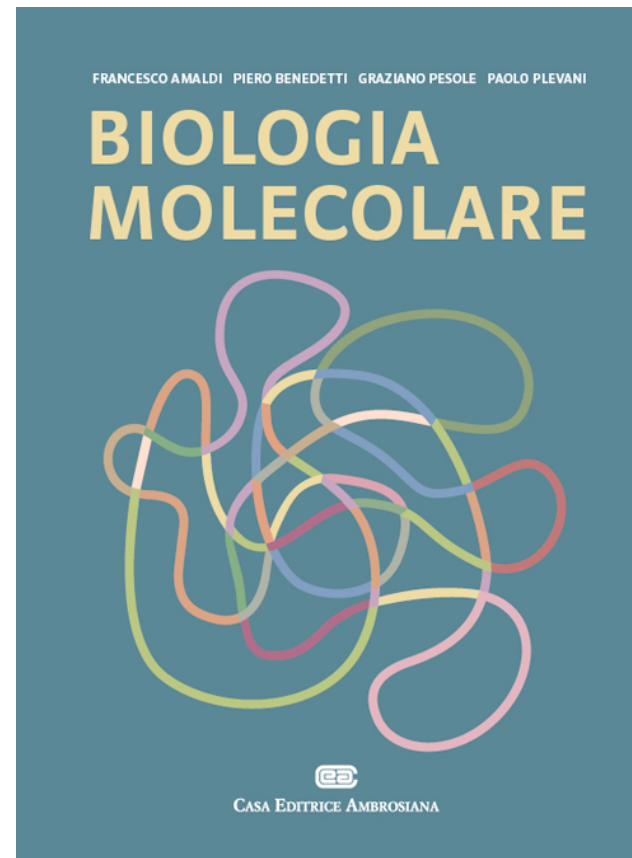
✓ Schede tecniche





B. Alberts et al.
Molecular Biology of
the Cell
Garland Publishing

Biologia Molecolare ***AA 2022-2023***



F. Amaldi
 BIOLOGIA MOLECOLARE
 Casa Editrice Ambrosiana



B. Alberts et al.
 Biologia Molecolare
 della cellula
 Zanichelli

Per alcune lezioni che tratteranno argomenti particolarmente innovativi e non sufficientemente descritti nei libri di testo, sarà fornito agli studenti opportuno materiale didattico.

Regole d'interazione generale

- ✓ Interazione in aula:
domande, domande, domande..



- ✓ Chi non e' interessato,
e' pregato di non disturbare i compagni



- ✓ Cellulari, Social, Chat NON attivi
(con qualche eccezione)





ESAME

**DON'T
PANIC**



ESAME

DOMANDE A RISPOSTA MULTIPLA E DOMANDE APERTE

ESEMPI DOMANDE CHIUSE

Quali delle seguenti proprietà caratterizzano gli mRNA degli istoni:

1. sono trascritti durante la fase S del ciclo cellulare
2. sono trascritti dalla RNA polimerasi II
3. non sono poliadenilati
4. sono presenti solo nelle cellule eucariotiche

La proteina Dicer:

1. sta nel nucleo
2. è una ribonucleasi
3. è una endonucleasi che taglia RNA a doppio filamento
4. riconosce preferenzialmente gli mRNA dei geni housekeeping

ESEMPI DOMANDE APERTE

- ✓ Cosa sono i frammenti di Okazaki?
- ✓ Illustrare schematicamente I meccanismi di controllo della fedeltà di duplicazione del DNA
- ✓ Illustrare brevemente come viene stabilito il corretto inizio della traduzione

Cosa e' l'informazione genica?

L'informazione genica consiste in una sequenza lineare di nucleotidi (=DNA) che viene decodificata allo stesso modo in tutte le cellule di tutti gli organismi.



Il genoma:

- il complesso dell'informazione genica di una cellula
- la massa totale del DNA cellulare
- il patrimonio ereditario dell'organismo a cui appartiene

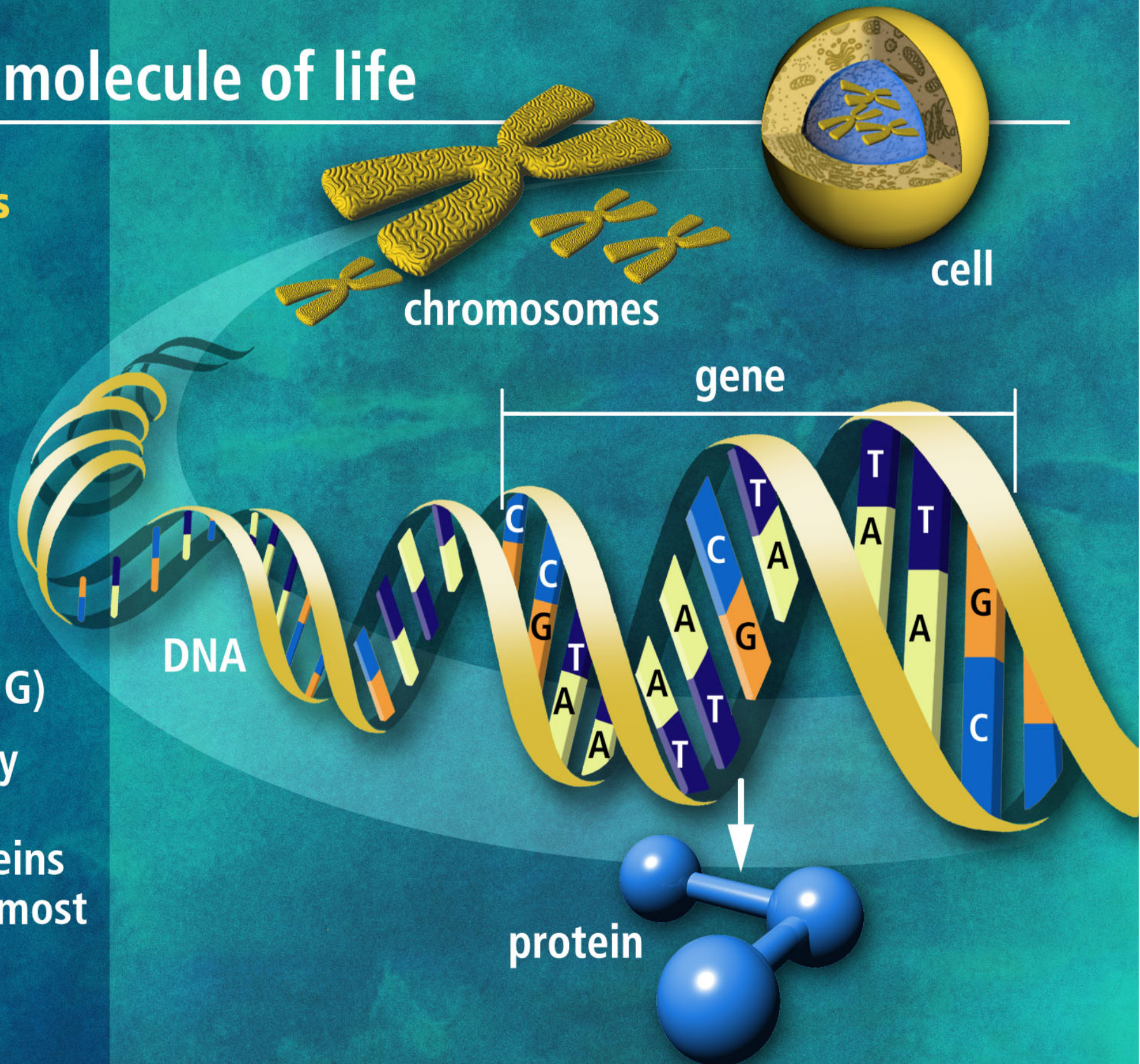
Dove e' scritta l'informazione genica?

DNA the molecule of life

Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 meters of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- Approximately 30,000 genes code for proteins that perform most life functions



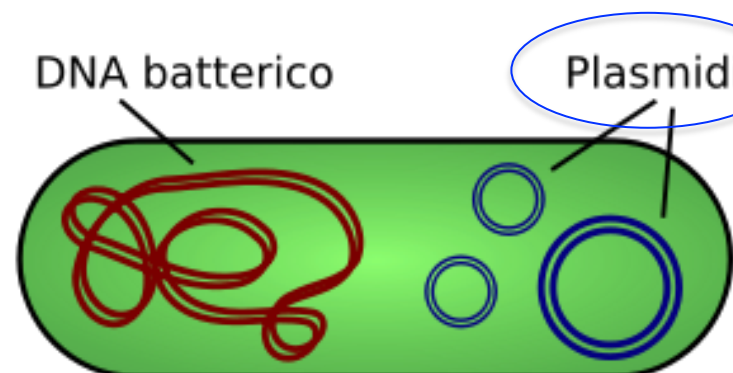
Struttura e dimensioni di genomi cellulari (I)

Procarioti (Bacteria e Archaea)

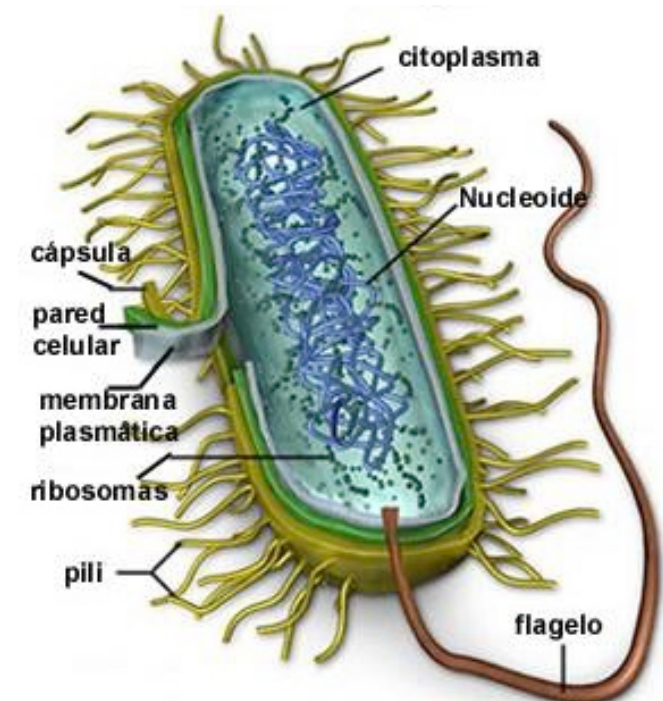
Tipicamente c'è **un solo cromosoma** nel citoplasma, contenente una molecola di **DNA circolare** lungo da **0,5 a 10 milioni** di paia di basi circa.

Spesso possono essere presenti anche uno o più **plasmidi**, piccoli DNA circolari accessori, costituiti da alcune migliaia di paia di basi. Sono note eccezioni: alcuni procarioti con due o più cromosomi circolari, o un cromosoma lineare.

Un singolo cromosoma circolare organizzato in una struttura ovoidale condensata chiamata **NUCLEOIDE**



Resistenza agli antibiotici
Tecnologia del DNA ricombinante



Struttura e dimensioni di genomi cellulari (II)

Eucarioti (unicellulari, piante, funghi, animali)

Di regola c'è **più di un cromosoma nel nucleo**, mediamente poche decine, anche se sono noti casi di parecchie centinaia e, all'altro limite, di uno solo.

Ciascun cromosoma contiene una molecola di DNA lineare. Nel nucleo può essere presente un solo corredo di cromosomi diversi (la cellula si dice **aploide**), due serie (**diploide**), e sono i casi più frequenti, o più (tri-, tetra-, esa-, ...poli-ploide).

Le **dimensioni di un corredo aploide** variano da **una decina di milioni** di paia di basi circa (ad esempio i lieviti o qualche alga unicellulare) a un **centinaio di miliardi** (alcune felci, i pesci polmonati e gli anfibi urodeli) o anche più in alcune amebe.

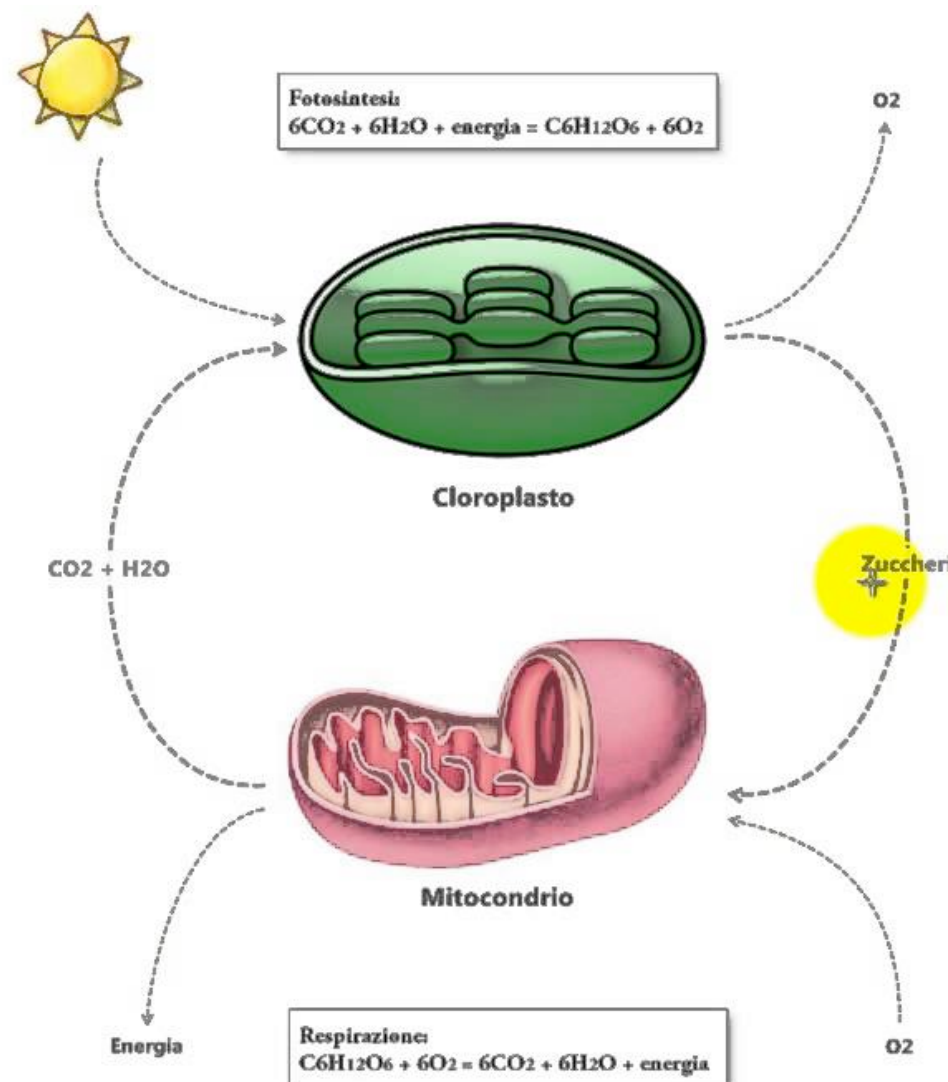
Struttura e dimensioni di genomi cellulari (III)

Eucarioti (unicellulari, piante, funghi, animali)

Al di fuori del nucleo:

è generalmente presente un certo numero di **mitocondri**, dotati di un proprio minigenoma, costituito da una molecola di DNA circolare di circa **15.000 – 100.000** paia di basi.

I vegetali contengono anche un certo numero di **cloroplasti**, pure dotati di un proprio minigenoma, costituito da una molecola di DNA circolare di circa **100.000** paia di basi.



Il paradosso C dei genomi eucariotici

Nei **procarioti** numero di geni e dimensioni genomiche delle varie specie sono approssimativamente proporzionali, in ragione di circa **1.000-1.200 pb/gene**. Appare ragionevole.

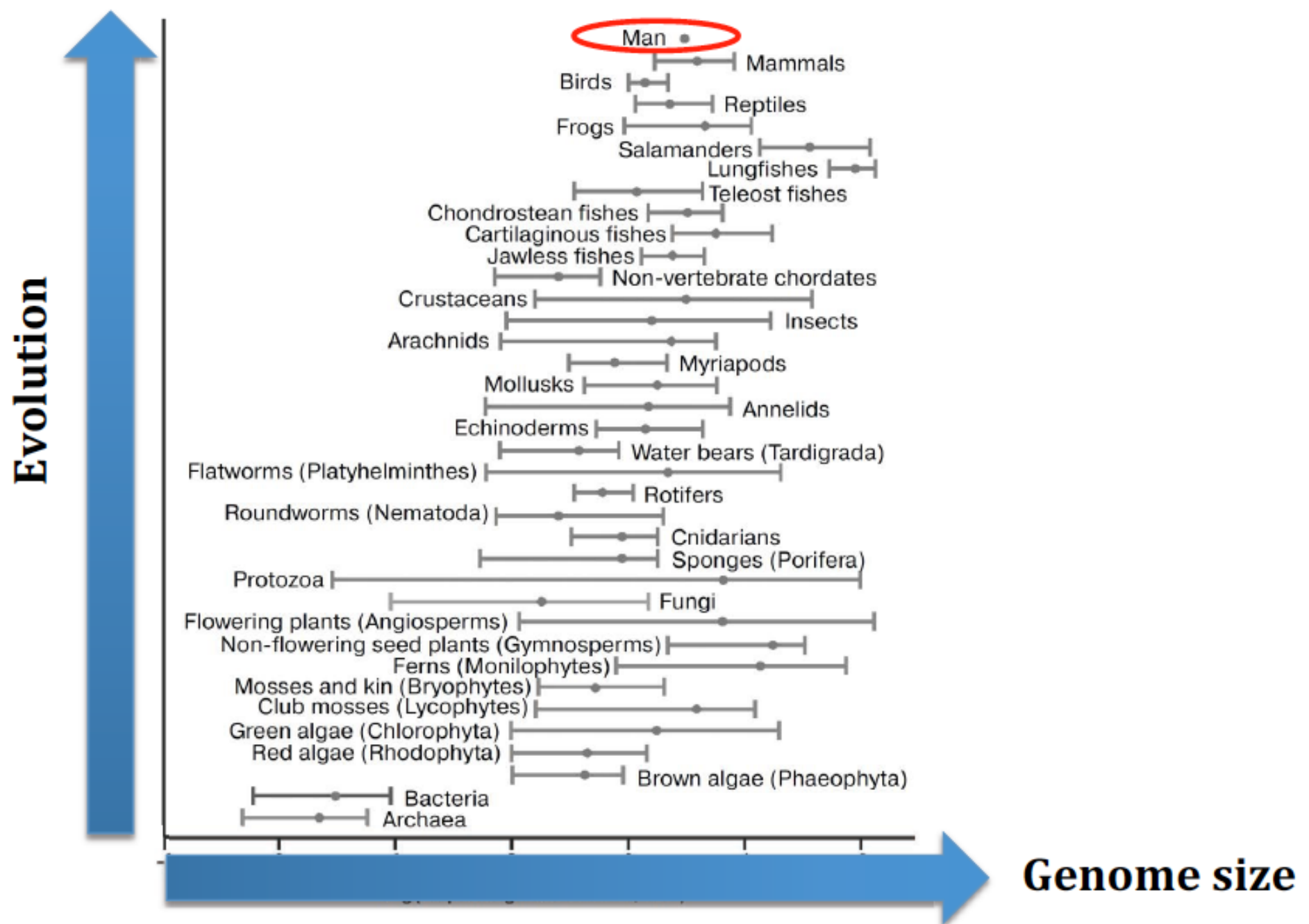
Le **dimensioni genomiche** (corredo aploide) nelle **specie eucariotiche** per contro variano enormemente (da circa 10^7 a più di 10^{11}) senza alcuna relazione con la **complessità dell'organismo**. Ad esempio, negli unicellulari alcune amebe hanno le massime dimensioni genomiche mentre alcune alghe unicellulari e alcuni lieviti le minime. Nelle piante superiori si va da circa 10^8 a circa 10^{11} e lo stesso succede con gli animali.

Questa osservazione è stata chiamata il **Paradosso C** (Complessità).

Genome Size and Developmental Complexity

C- value or genome size paradox

The amount of genomic DNA does not correlate with organismal complexity



nature

CLASSIC ART BY MICHELANGELO

www.nature.com



Now on the market
Lasers

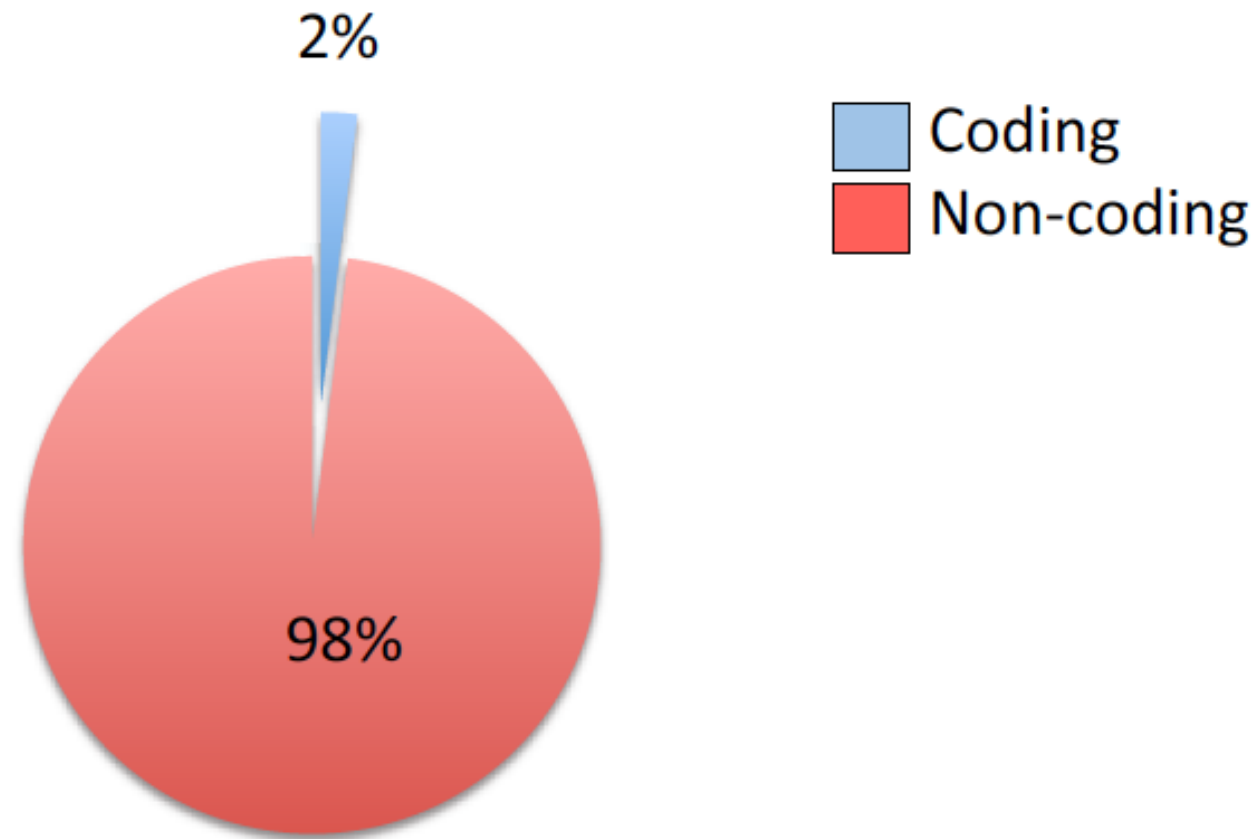


The Sequence of the Human Genome

J. Craig Venter,^{1*} Mark D. Adams,¹ Eugene W. Myers,¹ Peter W. Li,¹ Richard J. Mural,¹
 Cranger G. Sutton,¹ Hamilton O. Smith,¹ Mark Yandell,¹ Cheryl A. Evans,¹ Robert A. Holt,¹
 Jeannine D. Gocayne,¹ Peter Amanatides,¹ Richard M. Ballieu,¹ Daniel H. Huson,¹
 Jennifer Russo Wortman,¹ Qing Zhang,¹ Chinnappa D. Kodira,¹ Xiangjun H. Zhong,¹ Lin Chen,¹
 Marlen Skupski,¹ Gangadharan Subramanian,¹ Paul D. Thomas,¹ Jinghai Zhang,¹
 George L. Gabor Miklos,² Catherine Nelson,² Samuel Broder,² Andrew G. Clark,² Joe Nadeau,²
 Victor A. McKusick,² Norton Zinder,² Arnold J. Levine,² Richard J. Roberts,² Mel Simon,²
 Carolyn Slayman,¹⁰ Michael Hunkapiller,¹⁰ Randall Kolanos,¹ Arthur Delcher,¹ Ian Dew,¹ Daniel Fiaschi,¹
 Michael Flanagan,¹ Liliana Flores,¹ Aaron Halpern,¹ Sridhar Hannenhalli,¹ Saul Kravitz,¹ Samuel Levy,¹
 Clark Mearns,¹ Kent Reinert,¹ Karin Remington,¹ Jana Abu-Threideh,¹ Ellen Beasley,¹ Kendra Biddick,¹
 Vivien Bonazzi,¹ Rhonda Brandon,¹ Michelle Cargill,¹ Ishwar Chandramouliswaran,¹ Rosane Charlab,¹
 Kabir Chaturvedi,¹ Xiaoming Deng,¹ Valentina Di Francesco,¹ Patrick Dunn,¹ Karen Ellbeck,¹
 Carlos Evangelista,¹ Andrei E. Gabrielian,¹ Weimin Cao,¹ Wangmao Ge,¹ Fanghong Gong,¹ Zhiping Gu,¹
 Ping Guan,¹ Thomas J. Helman,¹ Maureen E. Higgins,¹ Rui-Ru Ji,¹ Zhaoxi Ke,¹ Karen A. Ketchum,¹
 Zhongwu Lei,¹ Yiding Lei,¹ Zherrya Li,¹ Jayin Li,¹ Yong Liang,¹ Xiaoying Lin,¹ Fu Lu,¹
 Gennady V. Merkulov,¹ Natalia Milshina,¹ Helen M. Moore,¹ Ashwinkumar K. Nall,¹
 Vaibhav A. Narayan,¹ Beena Neelam,¹ Deborah Nusskern,¹ Douglas B. Rusch,¹ Steven Salzberg,¹²
 Wei Shao,¹ Bixiong Shue,¹ Jingtao Sun,¹ Zhen Yuan Wang,¹ Aihui Wang,¹ Xin Wang,¹ Jian Wang,¹
 Ming-Hui Wei,¹ Ran Wilder,¹² Chunlin Xiao,¹ Chunhua Yan,¹ Alison Yao,¹ Jane Ye,¹ Ming Zhan,¹
 Weiqing Zhang,¹ Hongyu Zhang,¹ Qi Zhao,¹ Liansheng Zheng,¹ Fei Zhong,¹ Wanyan Zhong,¹
 Shisong C. Zhu,¹ Shaying Zhao,¹² Dennis Gilbert,¹ Suzanna Baumhauser,¹ Gene Spier,¹
 Christine Carter,¹ Anibal Cavchik,¹ Trevor Woodage,¹ Ferenc Ali,¹ Huijin An,¹ Adenike Awe,¹
 Darita Baldwin,¹ Holly Baden,¹ Mary Barnstead,¹ Ian Barrow,¹ Karen Beeson,¹ Dana Basam,¹
 Amy Carver,¹ Angela Center,¹ Ming Lai Cheng,¹ Lia Curry,¹ Stere Danaher,¹ Lionel Davenport,¹
 Raymond DeLett,¹ Suzanne Dietz,¹ Kristina Dodson,¹ Lisa Doug,¹ Steven Ferreira,¹ Neha Gang,¹
 Andre Glackmann,¹ Brit Hart,¹ Jason Haynes,¹ Charles Haynes,¹ Cheryl Helner,¹ Suzanne Hladan,¹
 Damien Huetlin,¹ Jarrett Heuck,¹ Timothy Howland,¹ Charyse Begwan,¹ Jeffery Johnson,¹
 Francis Kalish,¹ Lesley Kline,¹ Shashi Kodara,¹ Amy Love,¹ Felicia Mann,¹ David May,¹
 Steven McCawley,¹ Tina McIntosh,¹ Ivy McMullen,¹ Hwe Moy,¹ Linda Moy,¹ Brian Murphy,¹
 Keith Nelson,¹ Cynthia Pfaffenkuch,¹ Erik Pratts,¹ Vinita Paril,¹ Hina Qureshi,¹ Matthew Reardon,¹
 Robert Rodriguez,¹ Yu-Hui Rogers,¹ Deena Kordiad,¹ Bob Ruhfel,¹ Richard Scott,¹ Cyethia Sitter,¹
 Michelle Smallwood,¹ Erin Stewart,¹ Renee Strong,¹ Ellen Suh,¹ Reginald Thomas,¹ Ni Ni Tint,¹
 Sukyee Tse,¹ Claire Vech,¹ Gary Wang,¹ Jeremy Wetter,¹ Sherita Williams,¹ Monica Williams,¹
 Sandra Windsor,¹ Emily Winn-Deen,¹ Kerriellen Wolfe,¹ Jayshree Zaveri,¹ Karena Zaveri,¹
 Josep F. Abril,¹⁴ Roderic Guipk,¹⁴ Michael J. Campbell,¹ Kimeren V. Sjlander,¹ Brian Kulek,¹
 Anish Kejarisul,¹ Huaiyu Mi,¹ Betty Lazareva,¹ Thomas Hatten,¹ Apurva Narasimha,¹ Karen Diemer,¹
 Anashya Muruganujan,¹ Nan Guo,¹ Shinji Sato,¹ Vineet Bafna,¹ Sorin Istrail,¹ Ross Lippert,¹
 Russell Schwartz,¹ Brian Walenz,¹ Shiba Yooseph,¹ David Allen,¹ Anand Bazu,¹ James Baxendale,¹
 Louis Blick,¹ Marcelo Caminha,¹ John Carnes-Stine,¹ Parris Cook,¹ Yen-Hai Chiang,¹ My Coyne,¹
 Carl Dahlke,¹ Anne Deslattes Mays,¹ Maria Dombroski,¹ Michael Donnelly,¹ Dale Ely,¹ Shiva Esparham,¹
 Carl Foster,¹ Harold Gire,¹ Stephen Glanewski,¹ Bennett Glasser,¹ Anna Glodok,¹ Mark Gorskhen,¹
 Ken Graham,¹ Barry Crapman,¹ Michael Harris,¹ Jeremy Hall,¹ Scott Henderson,¹ Jeffrey Hauser,¹
 Donald Jennings,¹ Catherine Jordan,¹ James Jordan,¹ John Kasha,¹ Leonid Kagan,¹ Jay Kraft,¹
 Alexander Levitsky,¹ Mark Lewis,¹ Xiangjun Liu,¹ John Lopez,¹ Daniel Ma,¹ William Ma,¹
 Joe McDaniel,¹ Sean Murphy,¹ Matthew Newman,¹ Trung Nguyen,¹ Ngoc Nguyen,¹ John O'Neill,¹
 Sue Pan,¹ Jim Peck,¹ Marshall Peterson,¹ William Rowe,¹ Robert Sanders,¹ John Sanger,¹
 Michael Simpson,¹ Thomas Smith,¹ Arlan Sprague,¹ Timothy Stockwell,¹ Russell Turner,¹ Ali Venter,¹
 Mei Wang,¹ Malyuan Wen,¹ David Wu,¹ Mitchell Wu,¹ Ashley Xia,¹ Ali Zandieh,¹ Xiaohong Zhu¹



The Whole Genome Sequence

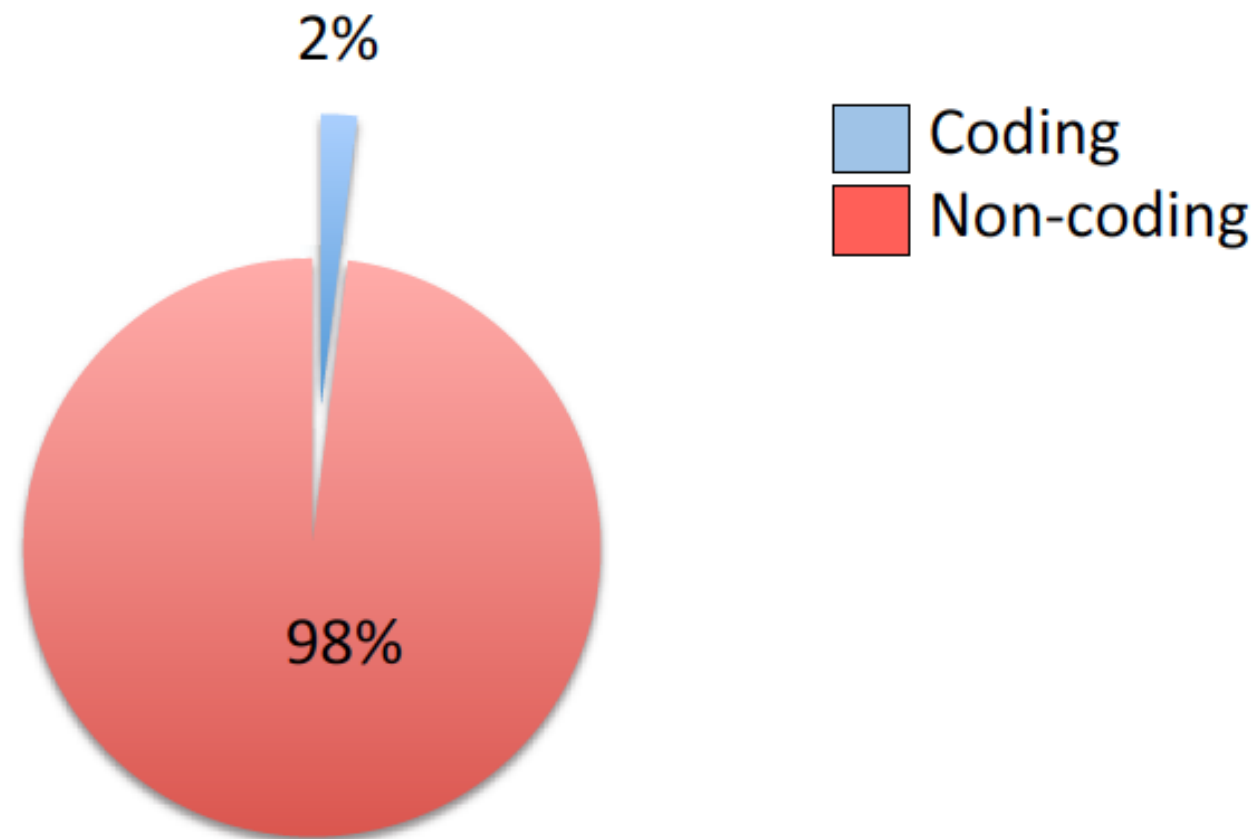


Issues:

#1 the vast majority of the genome is “Junk”

#2 the number of protein-coding genes does not correlate with genome evolution

The Whole Genome Sequence



Qual e' la funzione del 98% del DNA non codificante?

junk DNA or useful RNA?

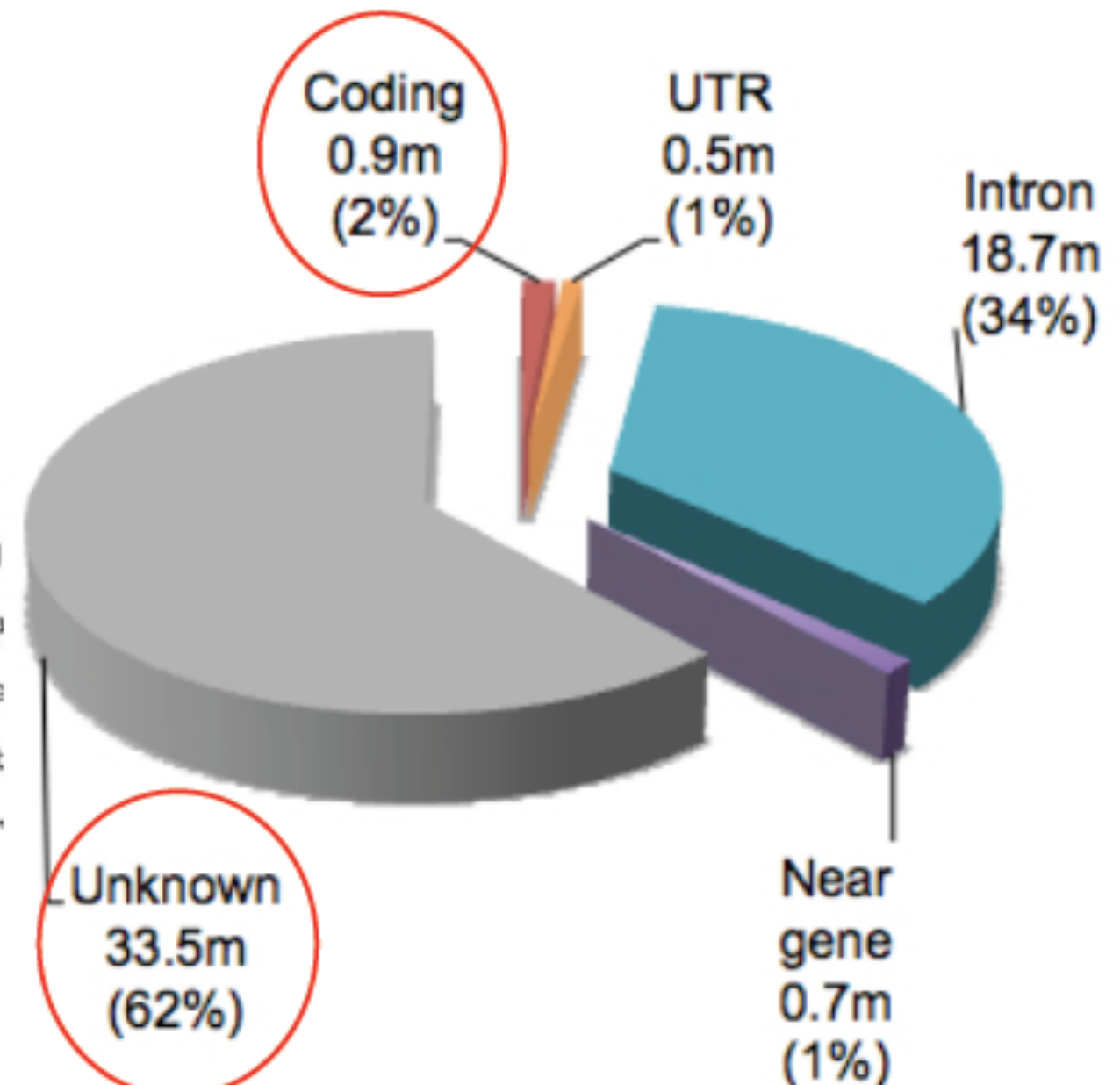
1972

Journal Title: Evolution of genetic systems.
Brookhaven symposia in biology, no. 23

SO MUCH "JUNK" DNA IN OUR GENOME

Susumu Ohno
City of Hope National Medical Center

The mammalian genome (haploid chromosome complement) contains roughly 3.0×10^{-9} mg of DNA which represents a 3.0×10^9 base pairs. This is at least 750 times the genome size of *E. coli*. If we take the simplistic assumption that the number of genes contained is proportional to the genome size, the mammalian genome contains at least 750 times as many genes as *E. coli*.

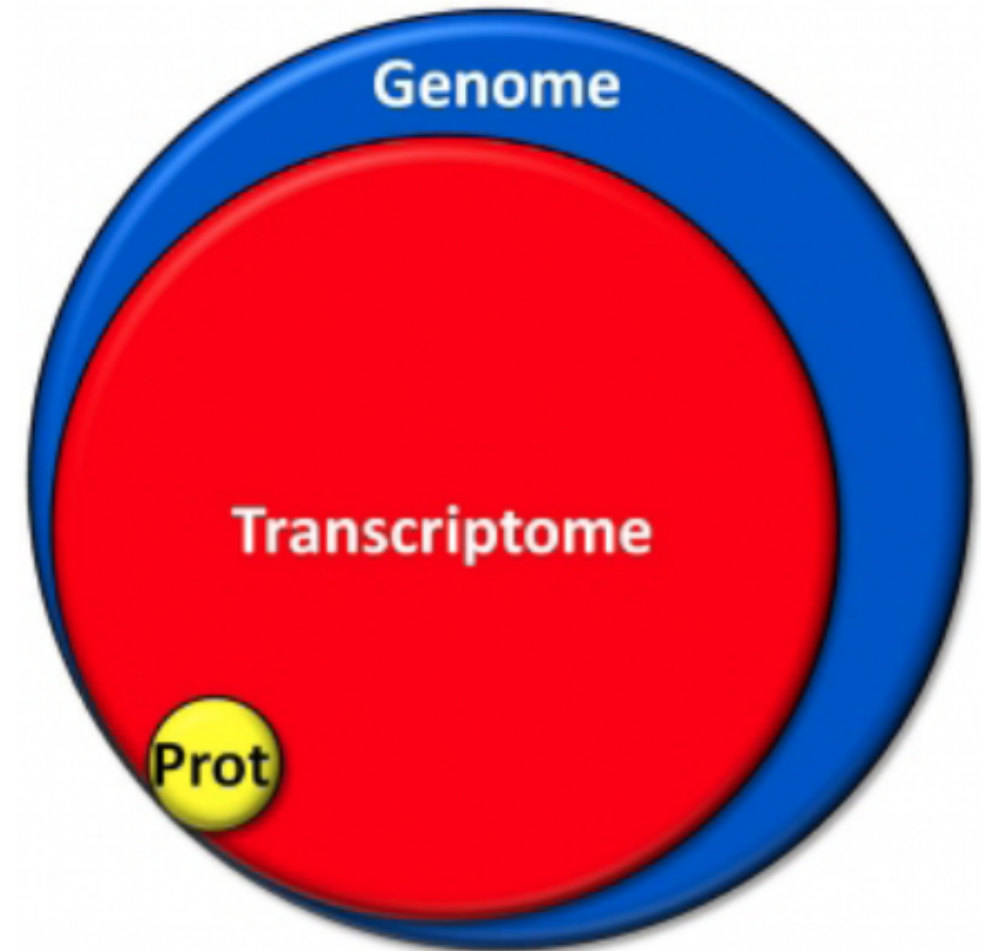


from massgenomics.org

PERVASIVE Transcription

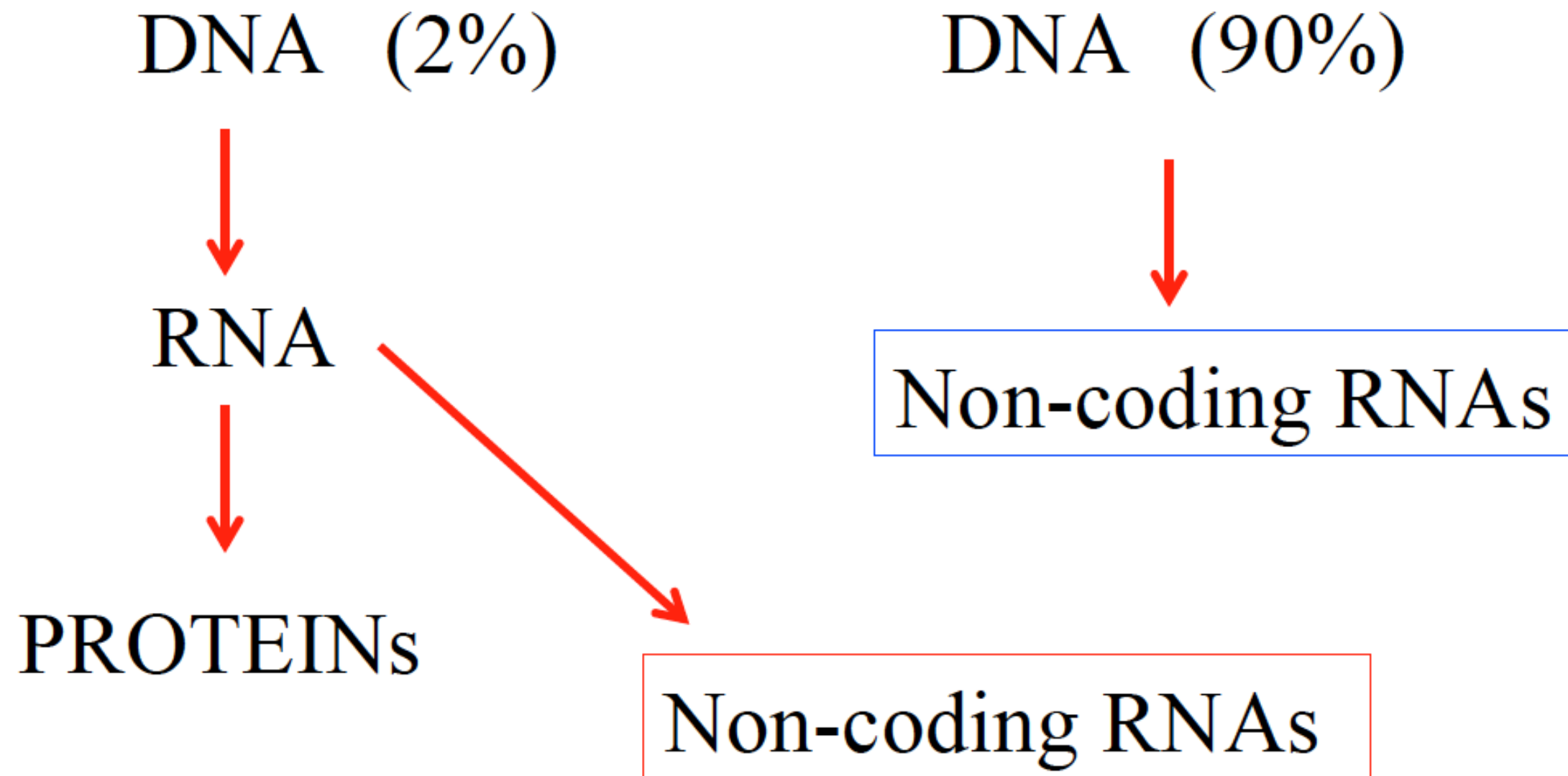
2003

Concept of “Pervasive Transcription”



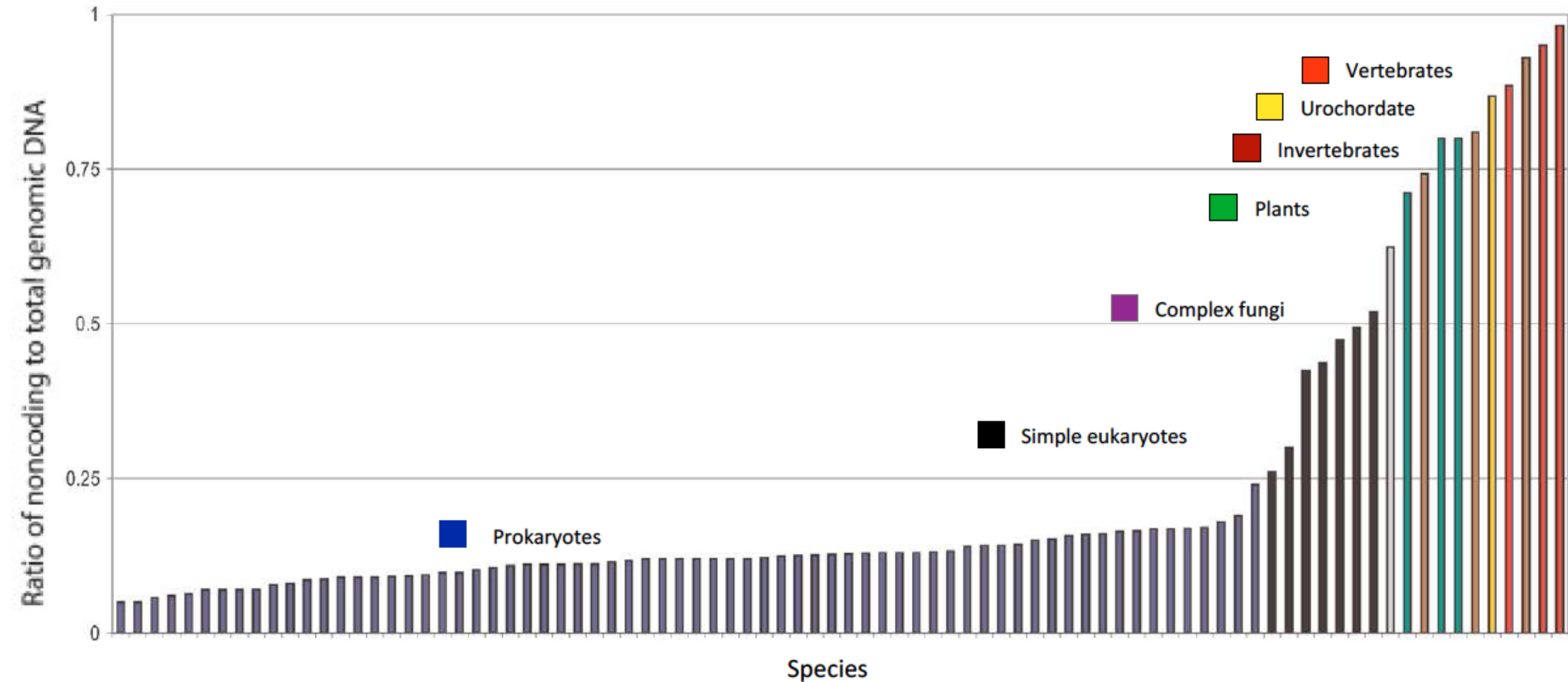
- The vast majority of the genome is TRANSCRIBED
- The vast majority of the transcripts DO NOT ENCODE for PROTEINS

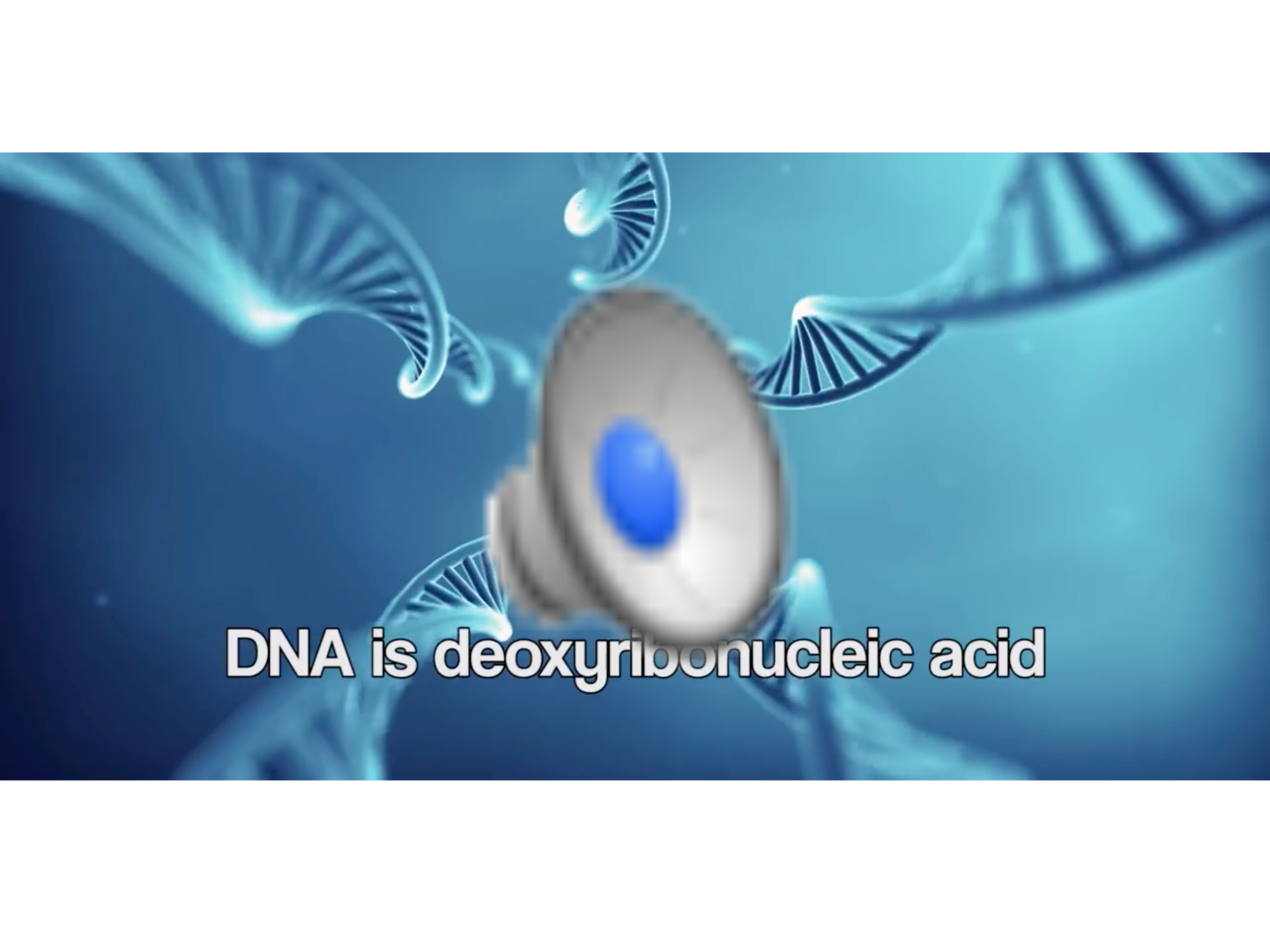
The central dogma REVISITED



The Proportion of ncDNA Increases with Developmental Complexity

C- value paradox SOLVED





DNA is deoxyribonucleic acid

Copyrighted Material

"A fascinating
case history . . . Describes
the events that led up
to one of the great biological
discoveries of our time."

—Robert K. Merton,
The New York Times
Book Review

THE DOUBLE HELIX

A Personal Account of the Discovery of
THE STRUCTURE OF DNA

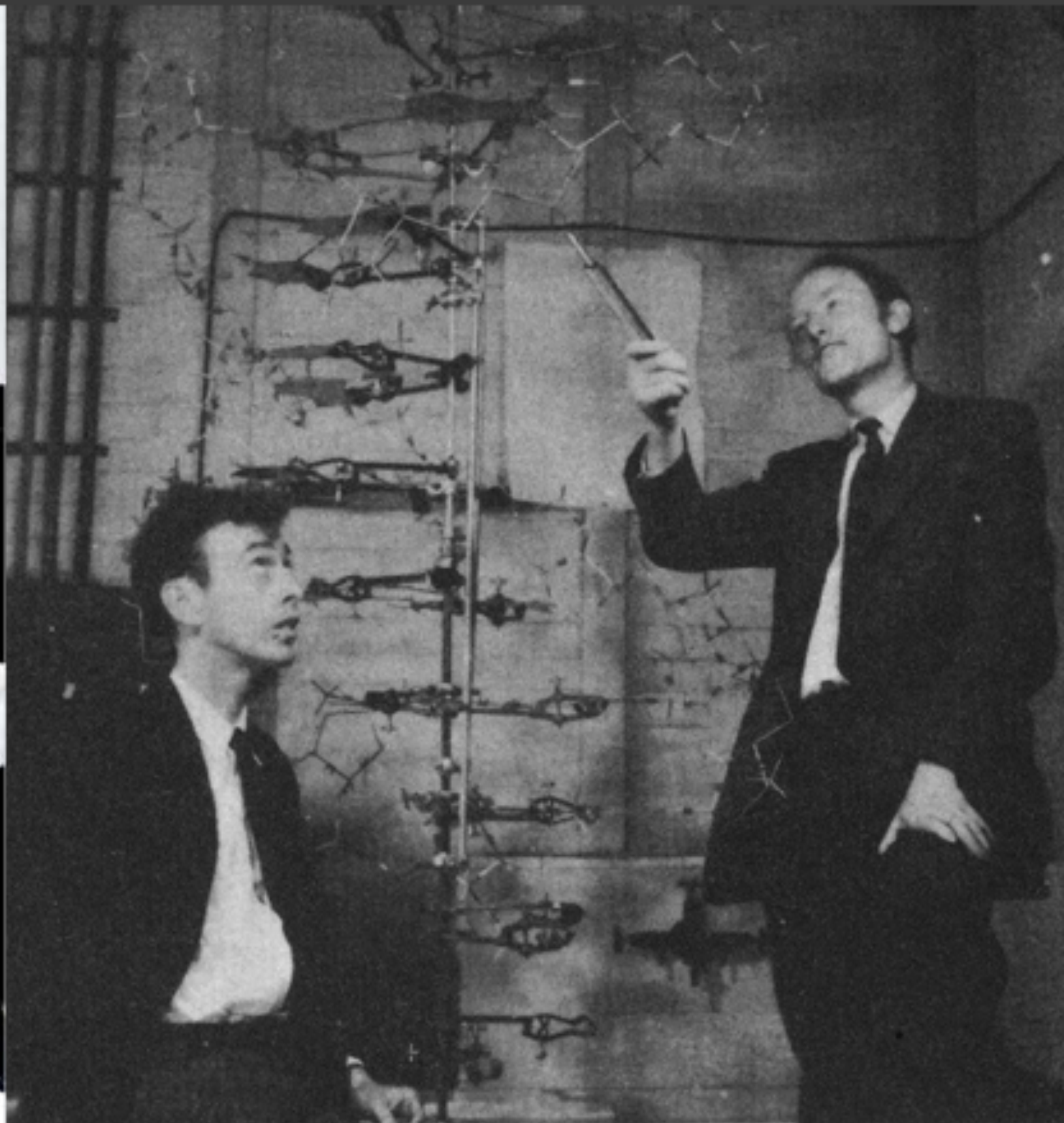
JAMES D.
WATSON

Introduction by
SYLVIA NASAR

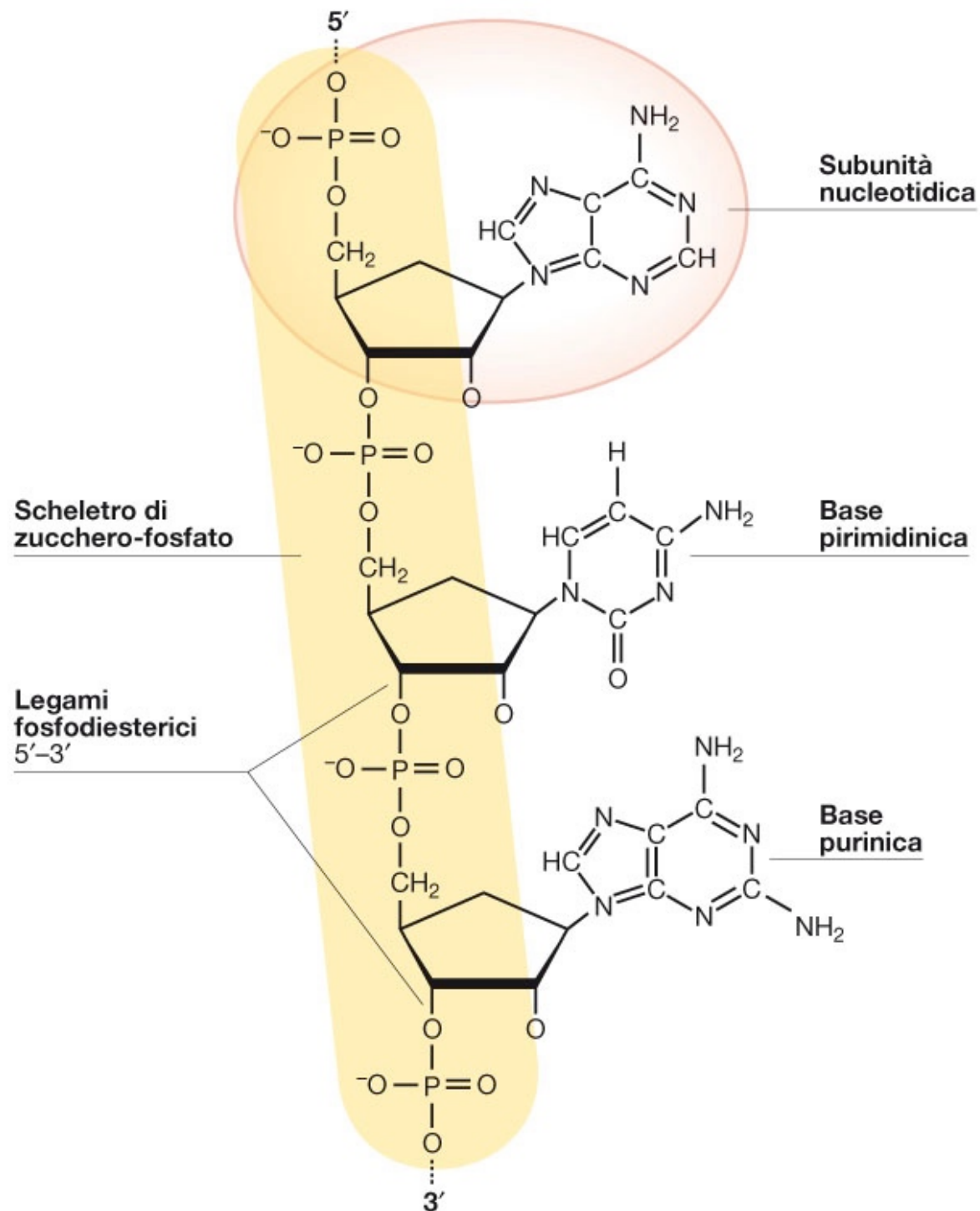
Author of A Beautiful Mind



Copyrighted Material

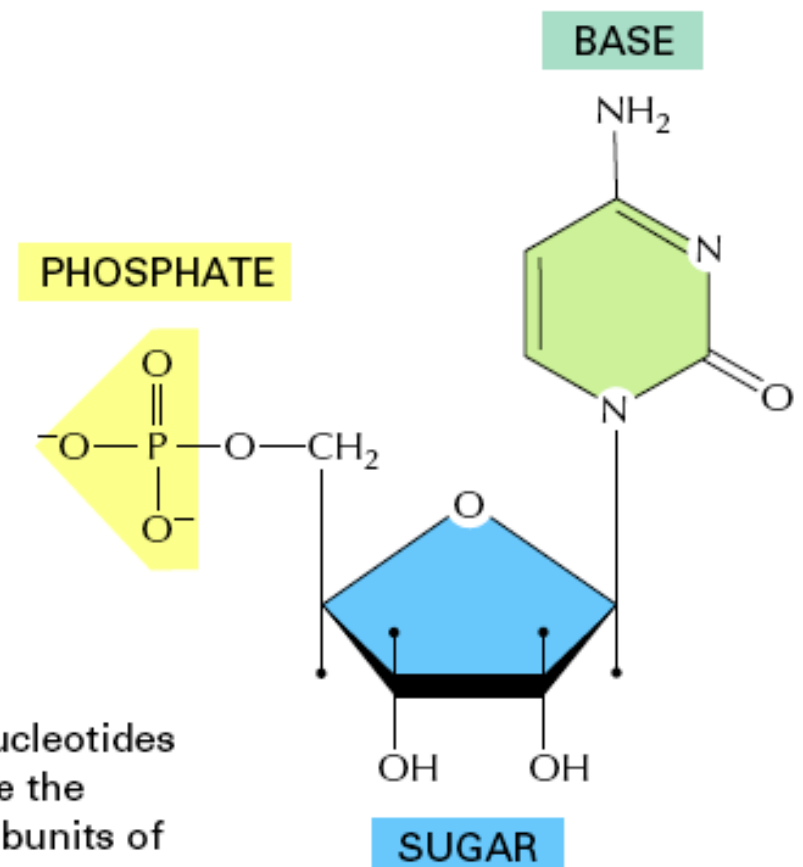


The DNA building blocks are the NUCLEOTIDES



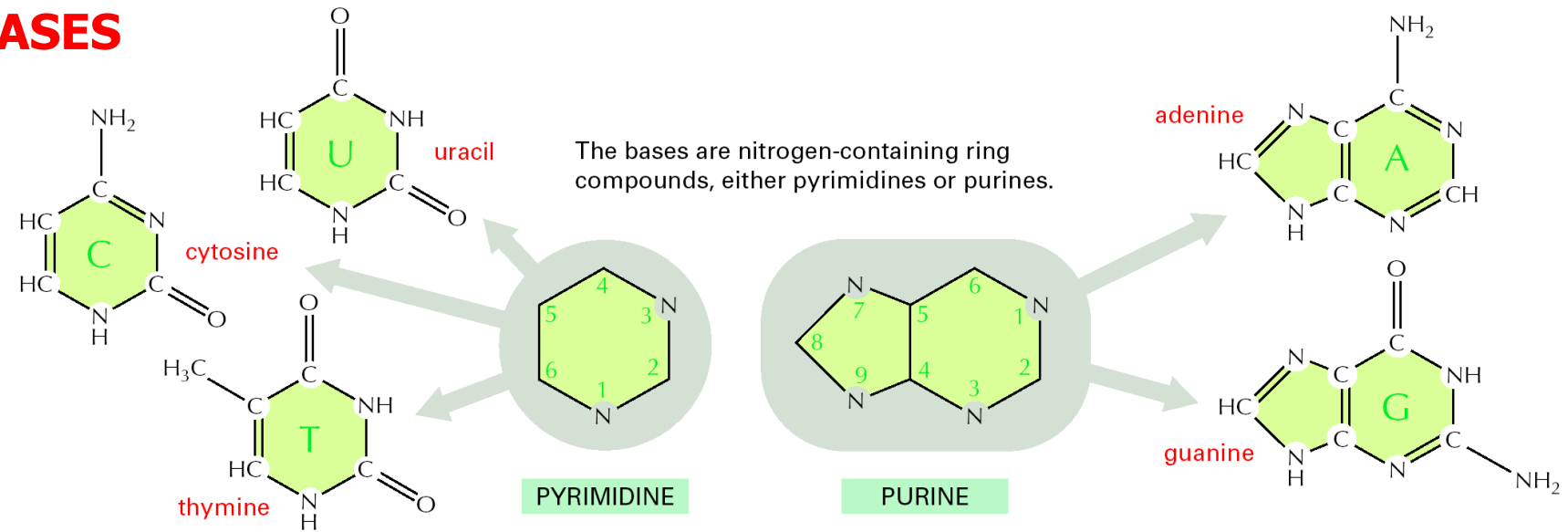
NUCLEOTIDES

A nucleotide consists of a nitrogen-containing base, a five-carbon sugar, and one or more phosphate groups.

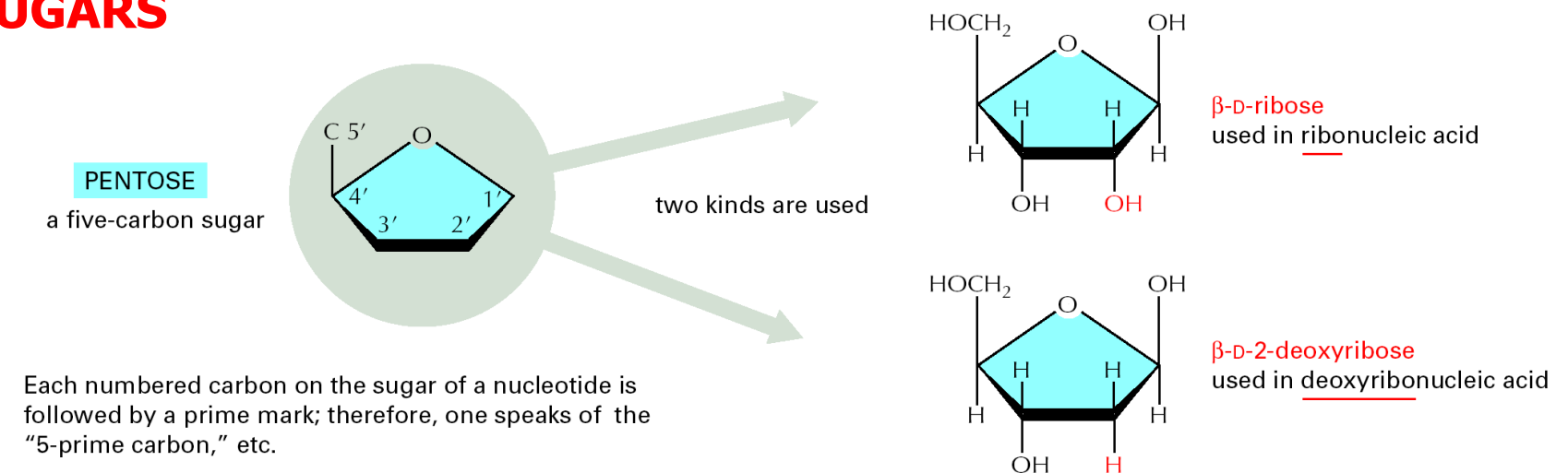


Nucleotides structure

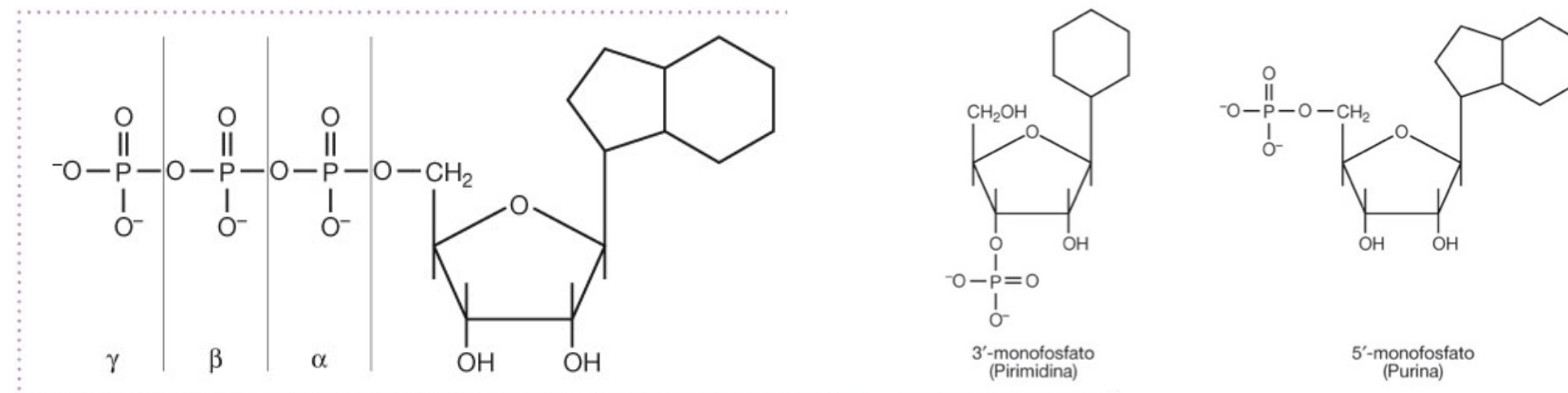
BASES



SUGARS

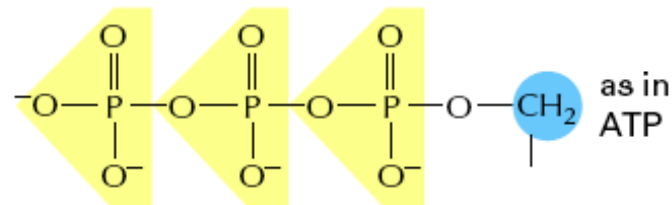
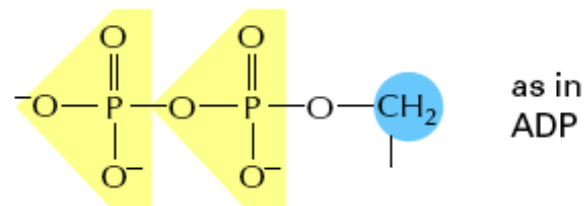
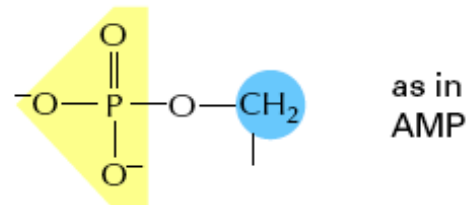


PHOSPHATES

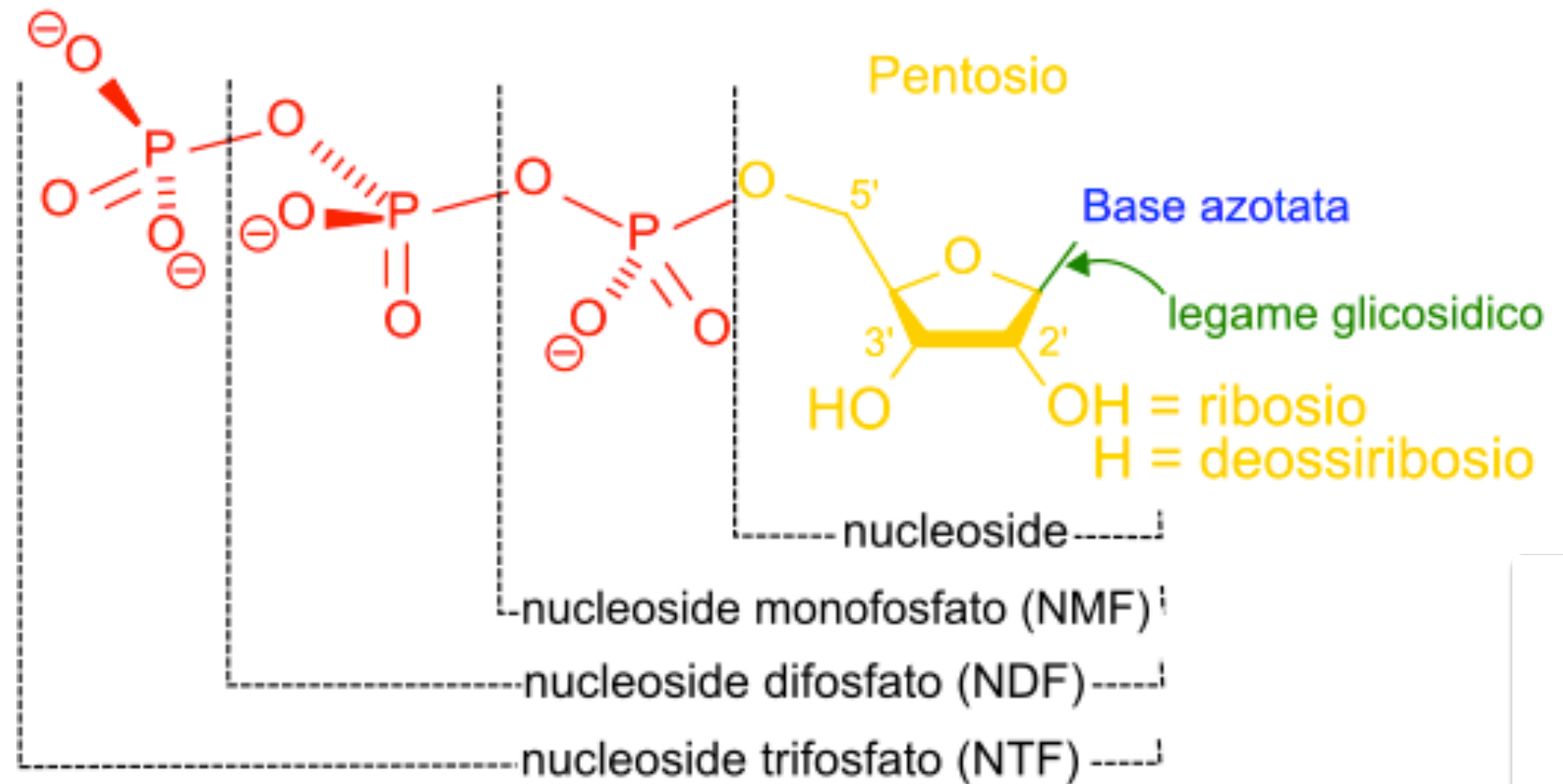


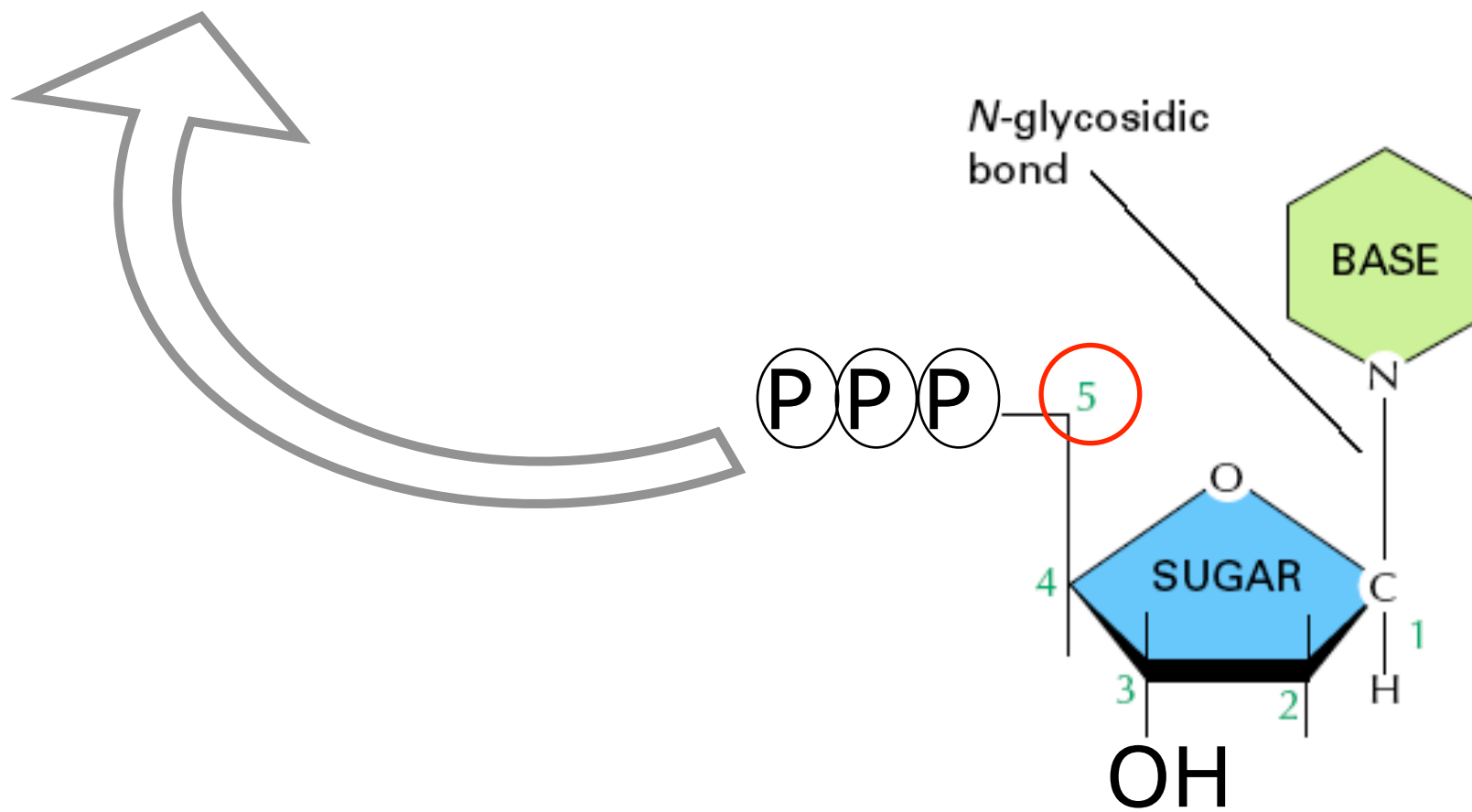
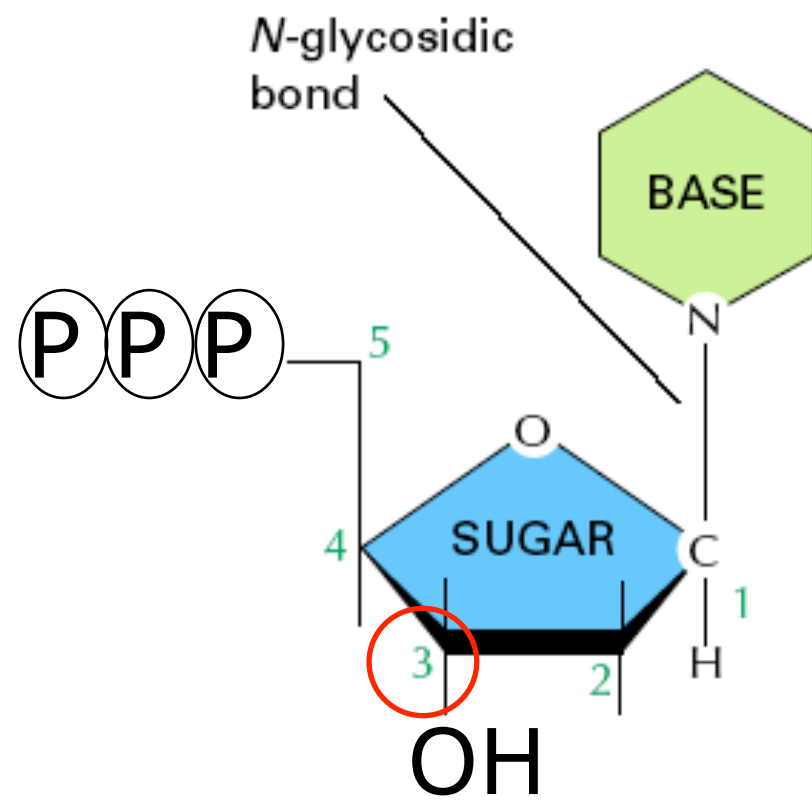
PHOSPHATES

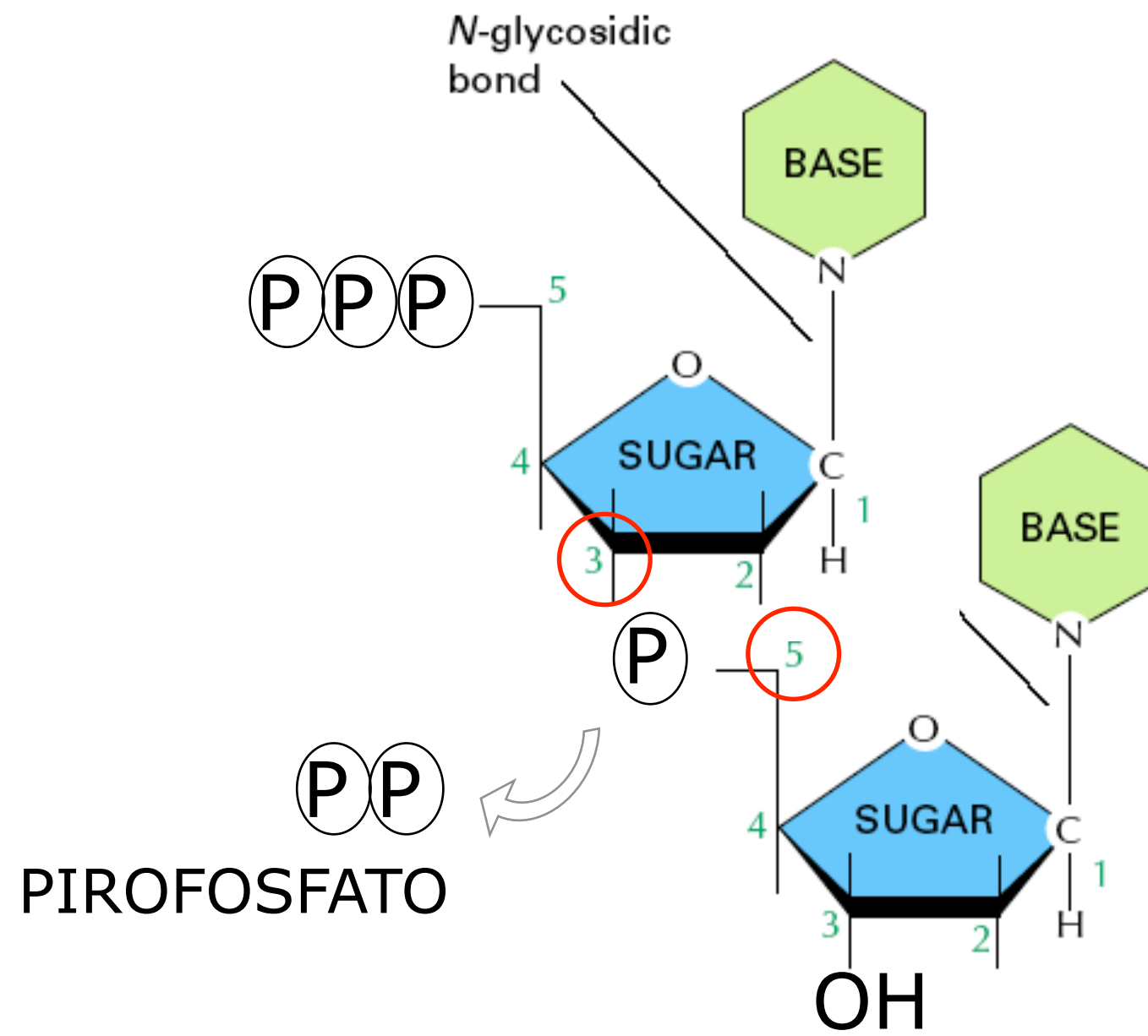
The phosphates are normally joined to the C5 hydroxyl of the ribose or deoxyribose sugar (designated 5'). Mono-, di-, and triphosphates are common.

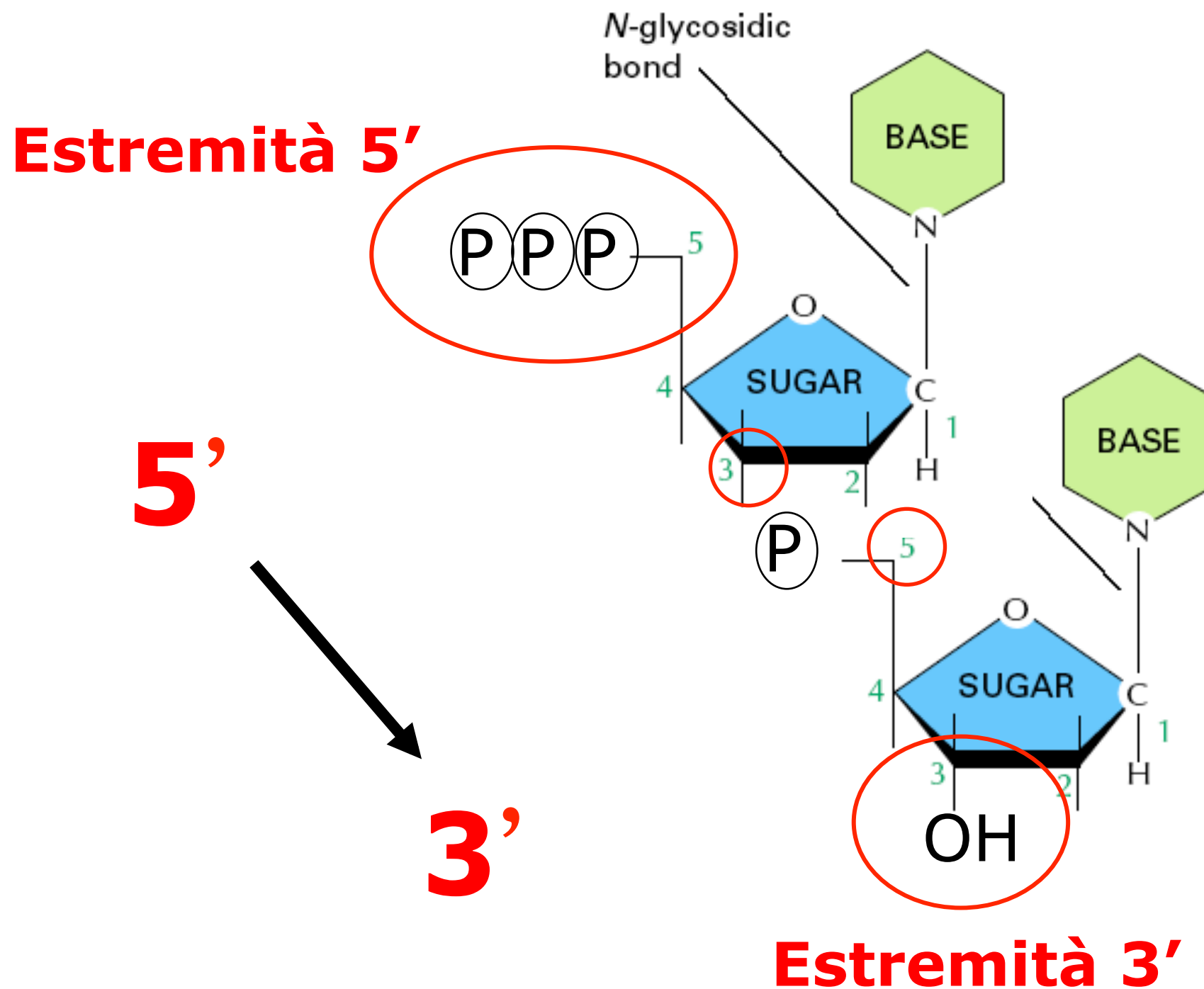


The phosphate makes a nucleotide negatively charged.



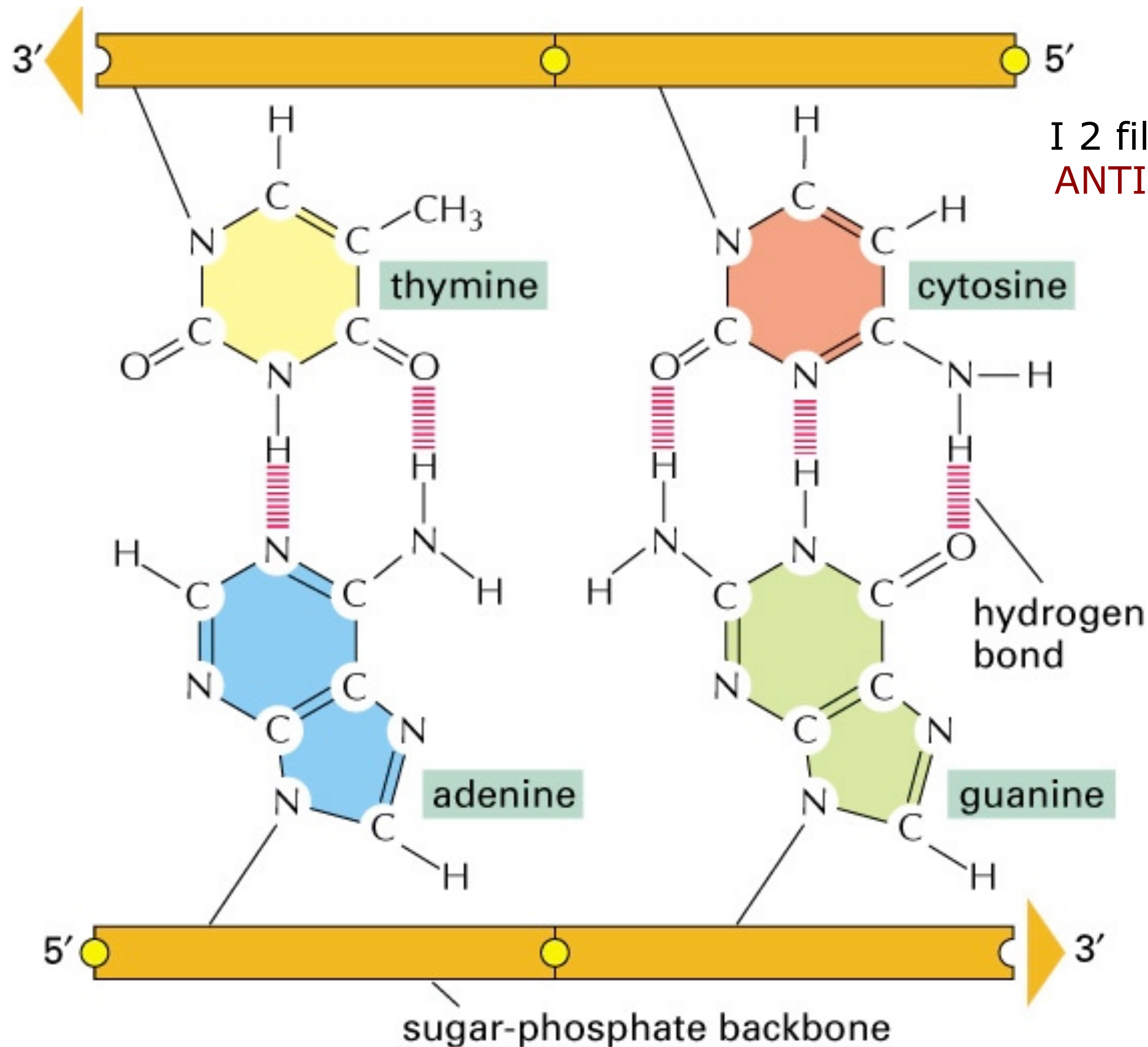




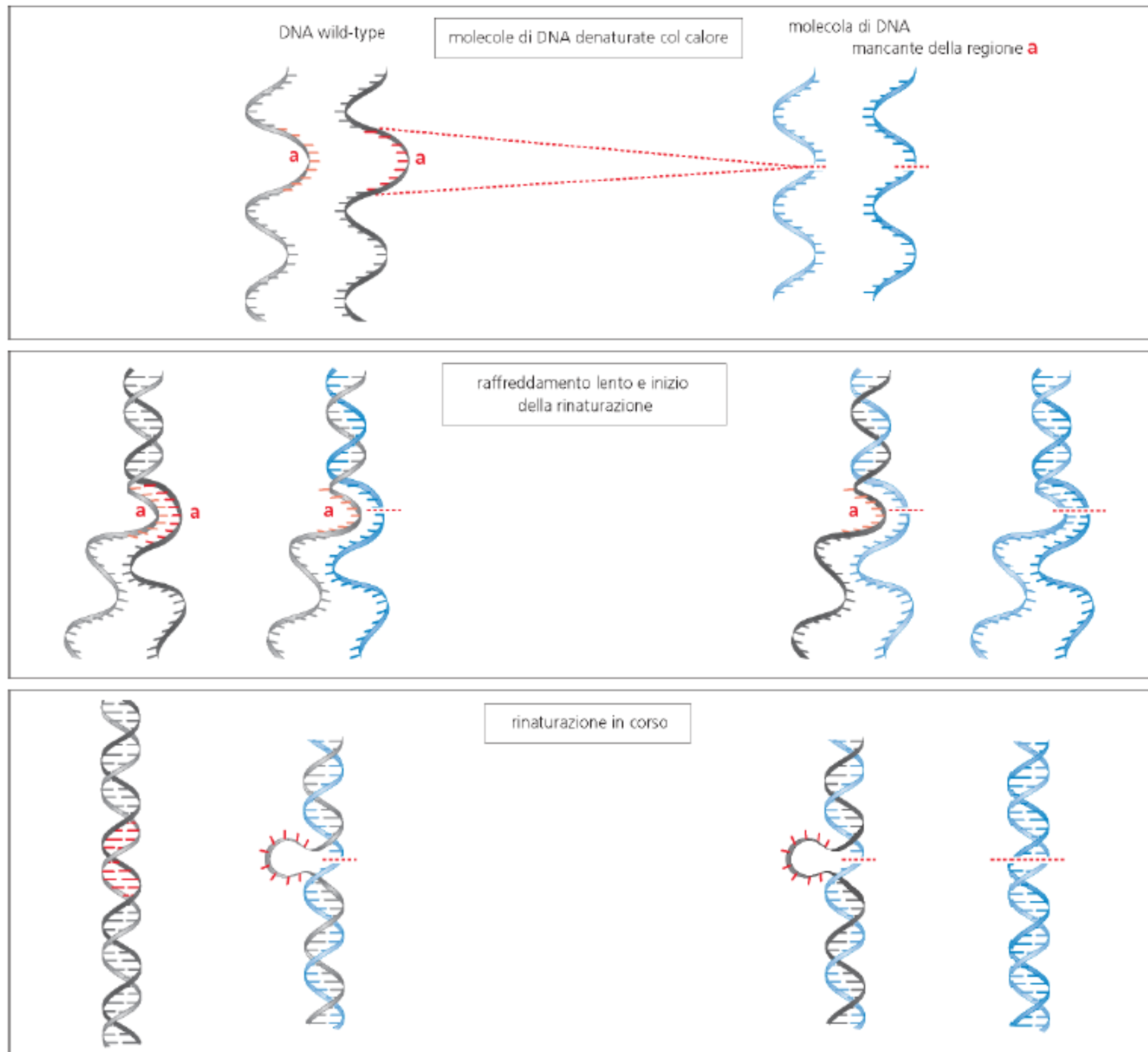


I filamenti di DNA ed RNA hanno una polarità

Hydrogen bonding of the bases



I due filamenti di DNA possono separarsi e riassociarsi



Se il DNA viene riscaldato (100°) o posto a pH elevato si può denaturare.

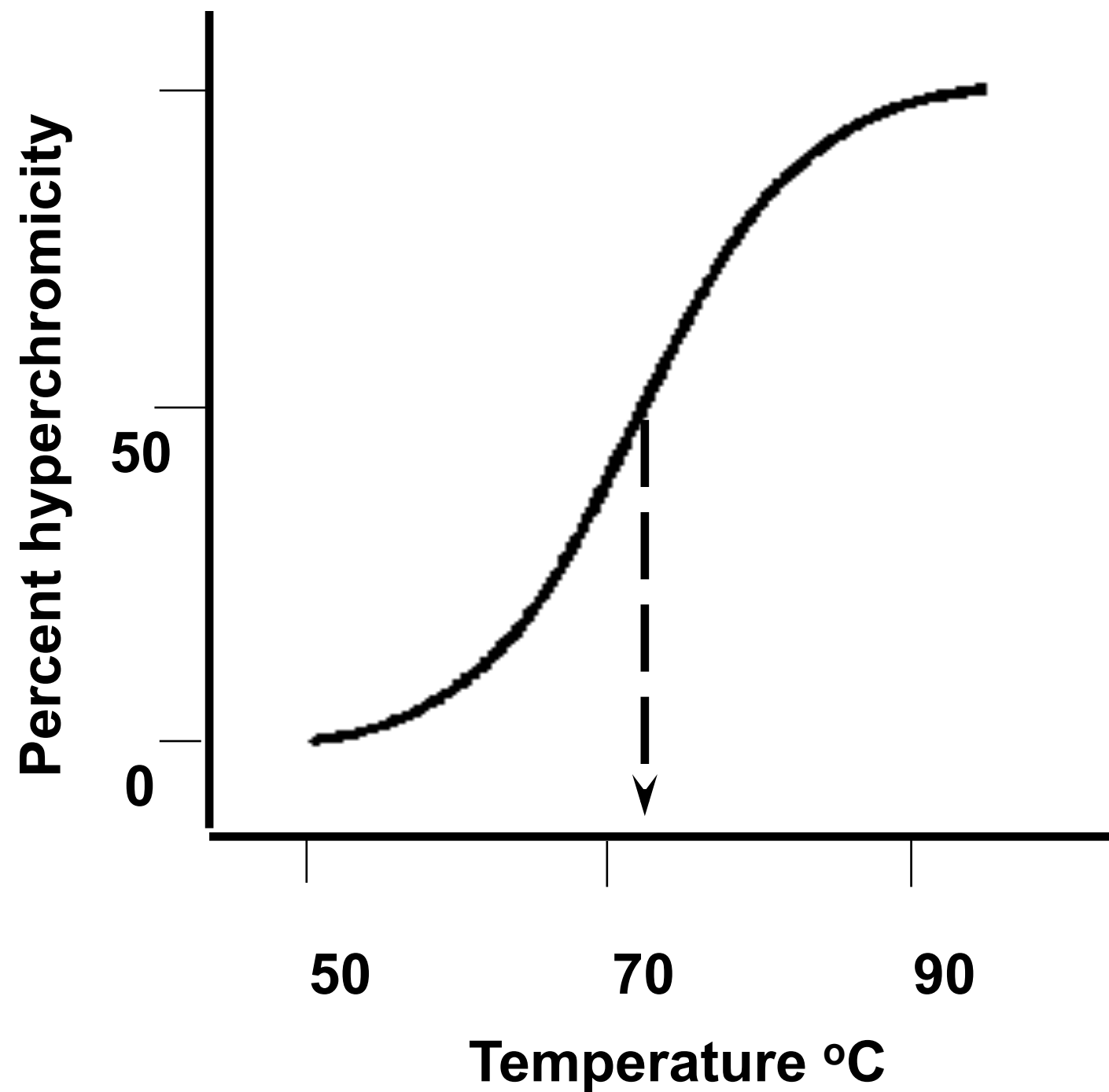
Se si ritorna lentamente alle condizioni di partenza il DNA può rinaturarsi e formare molecole ibride (ibridazione del DNA)

Stabilità termodinamica del duplex di DNA e sua denaturazione

Fattori intrinseci: composizione in basi, peso molecolare.

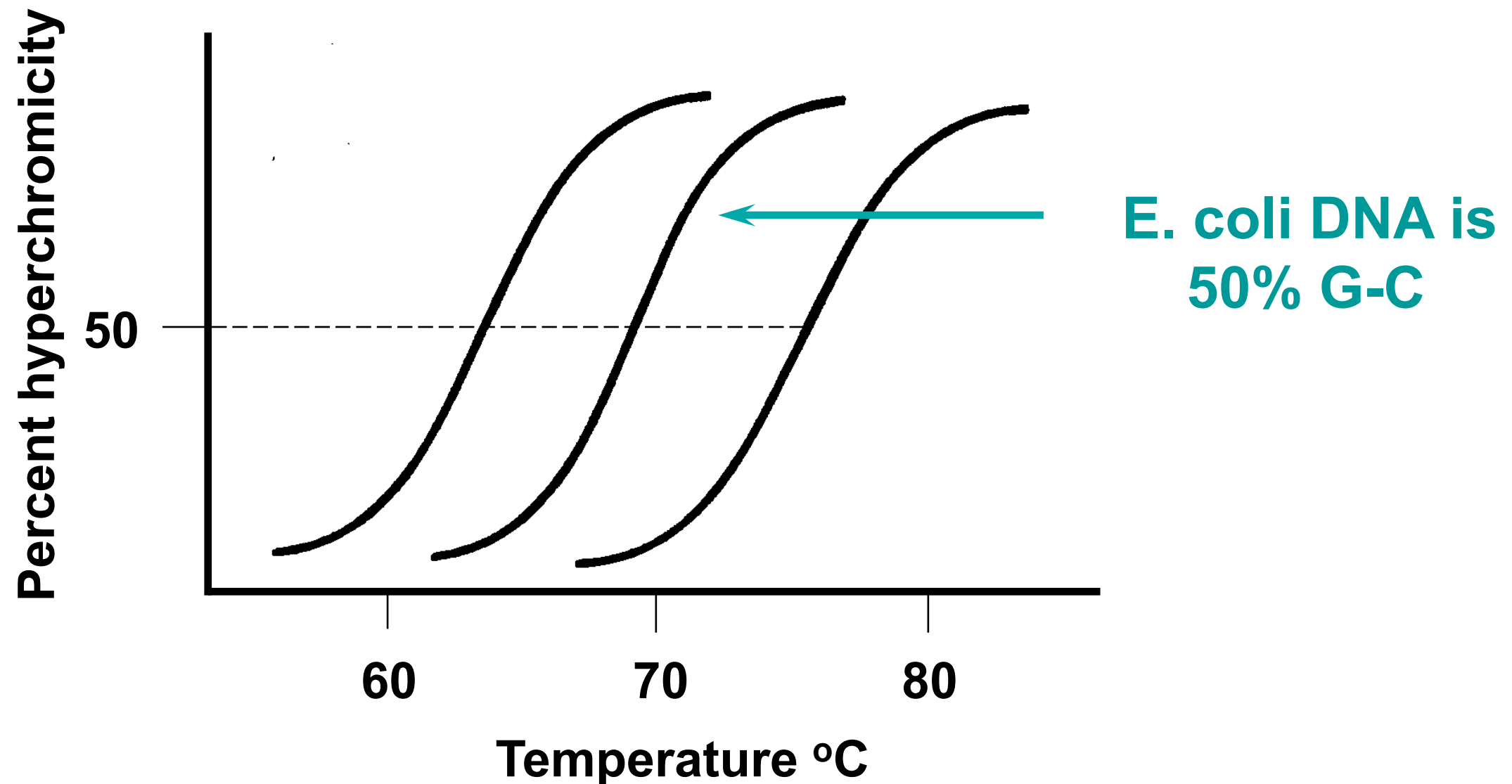
Fattori estrinseci: temperatura, pH, forza ionica.

DNA melting curve



- T_m is the temperature at the midpoint of the transition

T_m is dependent on the G-C content of the DNA



Average base composition (G-C content) can be determined from the melting temperature of DNA