

LABORATORIO DI BIOTECNOLOGIE SPERIMENTALI (A000214)

1. lingua insegnamento/language

Italiano.

2. contenuti/course contents

Coordinatore/Coordinator: Prof. DI PIETRO LORENA

Anno di corso/Year Course: I

Semestre/Semester: 2°

CFU/UFC: 13

Moduli e docenti incaricati /Modules and lecturers:

- ANALISI DELL'ESPRESSIONE ED INTERAZIONE GENICA (A002578) - 2 cfu - ssd BIOS-10/A

Prof. Lorena Di Pietro

- ISOLAMENTO E CARATTERIZZAZIONE DI CELLULE STAMINALI (A000250) - 3 cfu - ssd BIOS-10/A

Prof. Ornella Parolini, Pietro Romele, Lorena Di Pietro, Valentina Saccone, Andrea Papait

- MEDICINA GENOMICA (A000251) - 3 cfu - ssd MEDS-01/A

Prof. Emanuela Abiusi

- MICROSCOPIA AVANZATA (A002577) - 2 cfu - ssd PHYS-06/A

Prof. Massimiliano Papi

- PROTEOMICA E METABOLOMICA CLINICA (A000249) - 3 cfu - ssd BIOS-09/A

Prof. Andrea Urbani, Jacopo Gervasoni

3. testi di riferimento/BIBLIOGRAPHY

Per i moduli di ANALISI DELL'ESPRESSIONE ED INTERAZIONE GENICA, ISOLAMENTO E CARATTERIZZAZIONE DI CELLULE STAMINALI e MEDICINA GENOMICA, articoli scientifici e protocolli aggiornati saranno forniti agli studenti durante il corso.

MICROSCOPIA AVANZATA: D. Chandler and R. Roberson: BIOIMAGING. Jones & Bartlett Publishers

ISBN: 128406316X. [Capitolo 3: Preparation of Specimens for Light and Electron Microscopy (Preparazione dei campioni per microscopia ottica ed elettronica); Capitolo 8: The Transmission Electron Microscope (Il microscopio elettronico a trasmissione - TEM); Capitolo 9: The Scanning Electron Microscope (Il microscopio elettronico a scansione - SEM)]

PROTEOMICA E METABOLOMICA CLINICA: "Proteomica", Alberio Fasano, Roncada, EDISES, ISBN

9788836230495.

Laddove necessario, agli studenti sarà fornito materiale didattico integrativo, nonché l'indicazione di fonti telematiche appropriate ed attendibili, per completare, approfondire ed aggiornare i contenuti trattati a lezione.

4. obiettivi formativi/LEARNING OBJECTIVES

Il corso integrato mira a fornire allo studente competenze pratiche di laboratorio nei vari ambiti trattati, attraverso un percorso di lezioni frontali e esercitazioni pratiche finalizzato all'apprendimento delle modalità di utilizzo delle diverse strumentazioni e dei protocolli sperimentali associati. Al termine del corso integrato lo studente dovrà dimostrare di aver raggiunto i seguenti obiettivi:

Conoscenza e capacità di comprensione – lo studente deve dimostrare di conoscere e comprendere:

- le principali fonti e metodiche per l'isolamento e la caratterizzazione in vitro di cellule staminali;
- le possibili applicazioni delle tecnologie genetiche e molecolari necessarie per l'analisi di DNA, RNA e proteine;
- le conoscenze teorico-pratiche per l'analisi dell'espressione genica, della sua regolazione e delle interazioni funzionali tra geni e prodotti genici, mediante l'impiego di metodologie epigenomiche e trascrittomiche avanzate e l'applicazione di strumenti bioinformatici per l'analisi di dati complessi;
- l'interpretazione di immagini/dati acquisiti con tecniche di microscopia avanzata, come la microscopia a forza atomica e la microscopia confocale avanzata, sapendo identificare la tecnica di microscopia più appropriata per il quesito scientifico;
- i principi di proteomica e metabolomica indispensabili per le analisi sperimentali e l'interpretazione dei risultati nel campo delle discipline biochimiche e biologiche molecolari.

Conoscenza e capacità di comprensione applicate – lo studente deve dimostrare di sapere interpretare e comprendere adeguatamente i risvolti applicativi delle biotecnologie sperimentali acquisendo padronanza nel loro utilizzo e sviluppando una capacità critica per la loro applicazione appropriata, sia nel campo della diagnostica che in quello della ricerca. In particolare, lo studente apprenderà come:

- leggere e interpretare un protocollo scientifico e redigere il quaderno di laboratorio per riportare in maniera chiara e corretta gli esperimenti eseguiti;
- isolare, coltivare e caratterizzare fenotipicamente e funzionalmente cellule staminali somatiche da tessuti umani;
- applicare tecniche di genetica e genomica e utilizzare programmi bioinformatici per l'analisi di varianti geniche e il loro impatto funzionale su mRNA e proteine;
- conoscere e applicare tecniche multiomiche di espressione (epigenomica e trascrittomica), anche a livello di singola cellula, e acquisire competenze di base nell'analisi bioinformatica dei dati;
- impiegare tecniche di microscopia avanzata per l'analisi ultrastrutturale di cellule e tessuti ed analisi dati;
- utilizzare tecniche di proteomica, interattomica e metabolomica, acquisendo conoscenze sui principali metodi di separazione (2Dgel, HPLC) e sulla strumentazione per l'identificazione di proteine e metaboliti altamente performante quale la spettrometria di massa.

Autonomia di giudizio – lo studente deve sapere integrare le conoscenze e le competenze apprese nei diversi moduli e acquisire capacità critiche e progettuali per effettuare autonomamente osservazioni ed esperimenti basati sulle attività di laboratorio apprese.

Abilità comunicative – lo studente deve saper descrivere in modo chiaro e privo di ambiguità,

utilizzando correttamente il linguaggio tecnico specifico delle metodologie analitiche apprese, i protocolli acquisiti durante le attività di laboratorio. Inoltre, svilupperà la capacità di lavorare in gruppo e di comunicare in modo chiaro le proprie conoscenze o i risultati della propria ricerca, sia ad un pubblico di specialisti che a una più vasta audience di non addetti al settore.

Capacità di apprendere – lo studente deve saper selezionare e comprendere in modo autonomo fonti appropriate per lo sviluppo di protocolli sperimentali, attingendo a testi avanzati e risorse telematiche in lingua italiana ed inglese.

5. prerequisiti/prerequisites

È necessario che lo studente abbia acquisto le conoscenze relative alle discipline di base previste nei corsi di laurea triennale propedeutici a questa classe di laurea, con particolare riferimento agli aspetti teorici e all'acquisizione di esperienze pratiche di base in laboratorio nelle seguenti discipline: Biochimica, Fisica, Biologia Cellulare, Biologia Molecolare e Genetica.

6. metodi didattici/TEACHING METHODS

La metodologia didattica si basa su esercitazioni teorico-pratiche ed attività sperimentali, esercitazioni in laboratorio, e integra la didattica standard con attività improntate all'apprendimento attivo, quali “problem-based learning”, “self-learning”, “case study”, e la presentazione di un lavoro scientifico scelto dalla letteratura recente. I metodi didattici utilizzati in questo corso sono progettati per consentire allo studente di perseguire gli obiettivi formativi grazie delle seguenti caratteristiche: **Conoscenza e capacità di comprensione** – le lezioni frontali tratteranno tutti gli argomenti elencati nel programma di seguito dettagliato, in modo da fornire agli studenti il quadro completo degli argomenti integrati e il corretto metodo di studio per rafforzare lo svolgimento dei protocolli svolti nelle attività pratiche.

Conoscenza e capacità di comprensione applicate – tramite le esercitazioni pratiche gli studenti apprenderanno le potenzialità applicative degli argomenti trattati, con particolare attenzione alla discussione delle metodologie scientifiche e dei piani sperimentali attuati.

Autonomia di giudizio - i metodi di apprendimento attivo attuati in questo corso conferiranno allo studente la capacità di progettare un esperimento e sviluppare idee in maniera autonoma per risolvere un quesito scientifico.

Abilità comunicative – i metodi di apprendimento attivo saranno realizzati per consentire allo studente l'acquisizione di abilità comunicative mirate a presentare in modo chiaro un lavoro scientifico, comunicare con linguaggio tecnico appropriato le metodologie apprese e i risultati della propria ricerca.

Capacità di apprendere – l'utilizzo di materiale didattico integrativo, inclusi articoli della letteratura scientifica internazionale, permetterà allo studente di continuare a studiare in modo autodiretto o autonomo.

7. altre informazioni/OTHER INFORMATION

Per informazioni sul corso, chiarimenti o approfondimenti relativi alle lezioni, è possibile contattare i

docenti via e-mail per concordare un colloquio.

lorena.dipietro@unicatt.it

ornella.parolini@unicatt.it

pietro.romele@unicatt.it

valentina.saccone@unicatt.it

andrea.papait@unicatt.it

emanuela.abiusi@unicatt.it

massimiliano.papi@unicatt.it

jacopo.gervasoni@unicatt.it

andrea.urbani@unicatt.it

8. modalità di verifica dell'apprendimento/METHODS FOR VERIFYING LEARNING AND FOR EVALUATION

La verifica dell'apprendimento è articolata in relazione alle specifiche attività previste nei diversi moduli del corso.

Per il modulo Analisi dell'espressione ed interazione genica è prevista una prova in itinere, consistente nella presentazione e discussione critica di un recente lavoro scientifico che illustri le applicazioni di metodiche epigenetiche e trascrittomiche di ultima generazione.

Per i moduli Isolamento e caratterizzazione di cellule staminali, Medicina genomica, Microscopia avanzata e Proteomica e metabolomica clinica è previsto un colloquio orale. In particolare, per il modulo Isolamento e caratterizzazione di cellule staminali, il colloquio verterà anche sulle attività sperimentali svolte in laboratorio.

Le attività pratiche dei moduli Analisi dell'espressione ed interazione genica e Isolamento e caratterizzazione di cellule staminali saranno documentate in un quaderno di laboratorio, che raccoglierà i protocolli sperimentali utilizzati e i risultati ottenuti durante le esercitazioni. Il quaderno costituirà parte integrante della valutazione del modulo Isolamento e caratterizzazione di cellule staminali e sarà oggetto di discussione durante il relativo colloquio orale, nel quale verranno valutate la comprensione delle metodiche sperimentali apprese e la capacità di applicarle alla progettazione e all'interpretazione di un obiettivo sperimentale proposto dai docenti.

Alla prova verrà attribuito un punteggio in trentesimi (punteggio minimo: 18, punteggio massimo: 30 e lode). Il voto d'esame sarà il risultato della media ponderata dei punteggi ottenuti nei cinque moduli. La lode verrà assegnata, previo conseguimento di 30/30 in ciascun modulo, agli studenti che avranno dimostrato un livello superiore di conoscenza e approfondimento delle materie, autonomia di studio, appropriatezza di linguaggio e ottime capacità comunicative.

L'obiettivo della prova d'esame così organizzata consiste nel valutare l'acquisizione da parte dello studente delle seguenti capacità e conoscenze:

Conoscenza e capacità di comprensione – dimostrare un adeguato livello di conoscenza degli argomenti previsti dal programma e delle principali metodologie acquisite.

Conoscenza e capacità di comprensione applicate – dimostrare la conoscenza delle metodologie scientifiche e delle loro applicazioni in relazione alle differenti problematiche biologiche.

Autonomia di giudizio – dimostrare l'abilità di sviluppare un approccio metodologico adeguato in

funzione di differenti problematiche biologiche.

Abilità comunicativa – dimostrare un'adeguata proprietà di linguaggio e l'uso corretto della terminologia tecnico/scientifica.

Abilità di apprendere – dimostrare la capacità di approfondire e affrontare tematiche di interesse biologico in maniera autonoma e attraverso adeguati approcci sperimentali.

9. programma esteso/program

Analisi dell'espressione ed interazione genica

- Analisi trascrittomiche e epigenomiche: RNA-Seq, ATAC-Seq e tecniche correlate.
- Tecnologie e strategie per l'analisi dell'espressione e della regolazione genica a singola cellula.
- Analisi del contributo di RNA non codificanti nella regolazione dell'espressione genica (es. miRNA, lncRNA).
- Analisi in silico per lo studio delle vie di segnalazione e delle reti geniche: utilizzo di banche dati e strumenti bioinformatici (es. GEO, STRING, Gene Ontology).
- Cenni di analisi dei dati.
- Esperienze pratiche: estrazione di campioni di RNA da cellule in coltura e controllo qualità.

Isolamento e caratterizzazione di cellule staminali

- Il quaderno di laboratorio: come registrare i dati e strutturare il quaderno in base al tipo di esperimento in corso, quali informazioni riportare e come recuperare le informazioni dal quaderno.
- Tecniche di base di lavoro in condizioni asettiche.
- Tecniche di isolamento di cellule staminali (cellule staminali ematopoietiche e cellule mesenchimali stromali).
- Mantenimento ed espansione di colture cellulari in adesione e sospensione.
- Tecniche di caratterizzazione fenotipica di cellule primarie in coltura.
- Protocolli per l'induzione del differenziamento in vitro e analisi morfologica del potenziale differenziativo.

Medicina genomica

- Estrazione degli acidi nucleici, elettroforesi, PCR.
- Ricerca di varianti geniche mediante sequenziamento Sanger.
- Utilizzo di database per la ricerca e l'interpretazione delle varianti geniche.
- Analisi genomica mediante tecniche di sequenziamento di seconda e terza generazione.
- Analisi di alterazioni quantitative del DNA: MLPA, array-CGH, SNP array
- Analisi di espressione genica: RT-PCR, real time PCR, microarray.
- Analisi quantitativa di proteine: Western blot, ELISA.
- Applicazione di Southern Blot e RP-PCR per l'identificazione di alleli espansi.
- Esperienze di laboratorio: estrazione di DNA da sangue periferico, sequenziamento del DNA, real time PCR.

Microscopia avanzata

- Microscopia a Forza Atomica, principio di funzionamento.
- Microscopia a Forza Atomica, acquisizione di curve Forza- Distanza ed analisi del dato.
- Microscopia Elettronica.
- Microscopia Confocale e multifotone, tecniche avanzate: FRAP, FRET, FLIM.
- Analisi dei dati FRAP, FRET, FLIM mediante ImageJ e Microsoft Excel.
- Elementi di programmazione per analisi immagini: Linguaggio Macro di ImageJ.

Proteomica e Metabolomica Clinica

- Relazione tra la proteomica e le altre scienze post-genomiche.
- Preparazione del campione per l'analisi dell'espressione proteica.
- Analisi dell'espressione proteica mediante tecniche elettroforetiche.
- Analisi dell'espressione proteica mediante tecniche cromatografiche.
- Analisi quantitativa dell'espressione proteica.
- Statistica: programmi e siti web per l'identificazione delle proteine.
- Modifiche post-traduzionali.
- Le tecniche utilizzate in proteomica: elettroforesi bidimensionale, altre tecniche elettroforetiche, cromatografia, spettrometria di massa, NMR, FT-IR, principi di analisi quantitativa: sviluppo e validazione di un metodo bioanalitico.