LABORATORIO DI BIOTECNOLOGIE SPERIMENTALI (A000214)

1. lingua insegnamento/language

Italiano.

2. contenuti/course contents

Coordinatore/Coordinator: Prof. PALACIOS GARCIA DANIELA
Anno di corso/Year Course: 1
Semestre/Semester: 2
CFU/UFC: 12
Moduli e docenti incaricati /Modules and lecturers:
- ISOLAMENTO E CARATTERIZZAZIONE DI CELLULE STAMINALI (A000250) - 3 cfu - ssd BIO/13
Prof. Daniela Palacios Garcia, Ornella Parolini, Andrea Papait, Valentina Saccone, Pietro Romele
- MEDICINA GENOMICA (A000251) - 3 cfu - ssd MED/03
Prof. Emanuela Abiusi
- MICROSCOPIA AVANZATA (A000248) - 3 cfu - ssd FIS/07
Prof. Massimiliano Papi
- PROTEOMICA E METABOLOMICA CLINICA (A000249) - 3 cfu - ssd BIO/12
Prof. Silvia Persichilli, Andrea Urbani

3. testi di riferimento/BIBLIOGRAPHY

Isolamento e caratterizzazione di cellule staminali: articoli scientifici, riviste e protocolli aggiornati forniti agli studenti durante il corso.

Medicina Genomica: articoli scientifici e protocolli forniti agli studenti durante il corso.

Microscopia avanzata: D. Chandler and R. Roberson: BIOIMAGING. Jones & Bartlett Publishers ISBN: 128406316X

Proteomica e Metabolomica: "Proteomica", Alberio Fasano, Roncada, EDISES, ISBN 9788836230495

Laddove necessario, agli studenti sarà fornito materiale didattico integrativo, sottoforma di articoli, riviste e protocolli aggiornati durante il corso, 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 le capacità pratiche di laboratorio nei differenti ambiti del corso, attraverso la realizzazione di un percorso di esercitazioni focalizzato ad apprendere le modalità di utilizzo delle diverse strumentazioni e i protocolli sperimentali associati.
Al termine del corso integrato lo studente dovrà dimostrare di avere acquisito i seguenti obiettivi:

Conoscenza e capacità di comprensione – *dimostrare di conoscere e saper comprendere: i principi di proteomica e di metabolomica indispensabili per le analisi sperimentali e l'interpretazione dei risultati nel campo delle discipline biochimiche e biologiche molecolari, le possibili applicazioni delle tecnologie genetiche e molecolari necessarie per l'analisi di DNA, RNA e proteine, le principali fonti e metodiche per l'isolamento e la caratterizzazione in vitro di cellule staminali. Lo studente deve dimostrare di conoscere e saper interpretare immagini/dati acquisiti con tecniche di microscopia avanzata quali microscopia a forza atomica e microscopia confocale avanzata e dimostrare di saper identificare la tecnica più appropriata di microscopia a seconda del quesito scientifico.*

Conoscenza e capacità di comprensione applicate – *dimostrare di sapere interpretare e comprendere adeguatamente i risvolti applicativi delle biotecnologie sperimentali acquisendo padronanza nel loro utilizzo e sviluppando la capacità critica per la loro applicazione più appropriata sia nel campo della diagnostica che in quello della ricerca. Specificamente lo studente apprenderà come leggere e interpretare un protocollo scientifico e redarre il quaderno di laboratorio per riportare in maniera chiara e corretta gli esperimenti eseguiti, l'utilizzo di: 1)tecniche di proteomica, dell'interattomica e della metabolomica, acquisendo conoscenza dei principali metodi si separazione (2Dgel, HPLC) e avrà modo di utilizzare strumentazione per l'identificazione di proteine e metaboliti altamente performante quale la spettrometria di massa, 2) tecniche di genetica e genomica e programmi bioinformatici, per l'analisi di varianti geniche e del loro risvolto funzionale su mRNA e proteine, 3) tecniche di microscopia avanzata per l'analisi ultrastrutturale di cellule e tessuti ed analisi dati, 4) tecniche di isolamento, cultura e caratterizzazione fenotipica e funzionale di cellule staminali somatiche da tessuti umani.*

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

Abilità comunicative – *saper descrivere in modo chiaro e privo di ambiguità, utilizzando correttamente il linguaggio tecnico specifico delle metodologie analitiche apprese, i protocolli appresi durante le attività di laboratorio. Lo studente svilupperà inoltre 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 ad una più vasta audience di non addetti al settore.*

Capacità di apprendere – *selezionare 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

E' necessario che gli studenti abbiano acquisto le conoscenze relative alle discipline di base previste nei corsi di laurea triennale propedeutici a questa classe di laurea, con particolare riferimento ad aspetti teorici ed acquisizione di esperienze pratiche in laboratorio di base nelle seguenti discipline: Biochimica, Biologia Molecolare, Biologia Cellulare e Genetica.

6. metodi didattici/TEACHING METHODS

La metodologia didattica si basa su esercitazioni teorico-pratiche ed attività sperimentale, esercitazioni in laboratorio, ed integra la didattica standard con attività improntate all'apprendimento attivo, quali: "problem-based learning", "self-learning", e "case study", "virtual laboratory", presentazione di un lavoro scientifico scelto dalla letteratura recente.

I metodi didattici utilizzati in questo corso sono disegnati per consentire allo studente di perseguire gli obiettivi formativi, in virtù delle seguenti caratteristiche:

Conoscenza e capacità di comprensione – le lezioni frontali tratteranno sistematicamente tutti gli argomenti elencati nel programma di seguito dettagliato, soffermandosi sugli aspetti più rilevanti ed imprescindibili, in modo da fornire agli studenti il quadro completo degli argomenti integrati ed il corretto metodo di studio per rafforzare le conoscenze teorico-pratiche.

Conoscenza e capacità di comprensione applicate – tramite le esercitazioni in aula e in laboratorio e "case study" gli studenti apprenderanno le potenzialità applicative degli argomenti trattati, con particolare attenzione alla discussione delle metodologie scientifiche e dei piani sperimentale 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 al 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, anche sotto forma di articoli della letteratura scientifica internazionale, consentiranno allo studente di continuare a studiare per lo più in modo auto-diretto o autonomo.

7. altre informazioni/OTHER INFORMATIONS

I docenti ricevono su appuntamento concordato tramite e-mail.

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

La prova d'esame consiste nella realizzazione di un quaderno di laboratorio che raccolga i protocolli appresi ed i risultati ottenuti dall'attività di laboratorio. I contenuti riportati nel quaderno saranno poi discussi in un colloquio orale nel corso del quale verrà valutata la comprensione delle metodiche svolte e la capacità di applicarle nell'ambito di un obiettivo sperimentale proposto dal docente. Gli argomenti trattati durante i 4 corsi saranno discussi durante un colloquio orale. Alla prova verrà attribuito un punteggio in 30simi (punteggio minimo: 18, punteggio massimo: 30 e lode). Il voto d'esame sarà il risultato della media ponderata di ciascuno dei quattro moduli. La lode verrà assegnata, previo conseguimento di 30/30 in ciascun modulo, agli studenti che abbiano dimostrato di aver raggiunto un livello superiore di conoscenza e di approfondimento delle materie con 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- dell'appropriato livello di conoscenza degli

argomenti previsti dal programma e delle principali metodologie acquisite;
Conoscenza e capacità di comprensione applicate – della conoscenza delle metodologie scientifiche e delle loro applicazioni in relazione alle differenti problematiche biologiche;
Autonomia di giudizio – dell'abilità di sviluppare un approccio metodologico adeguato in funzione di problematiche biologiche differenti;
Abilità comunicativa - dell'adeguata proprietà di linguaggio e della terminologia tecnico/scientifica corretta;
Abilità di apprendere - delle capacità di approfondire e affrontare tematiche di interesse biologico in maniera autonoma e attraverso adeguati approcci sperimentali.

9. programma esteso/program

<Il quaderno di laboratorio> *Come registrare i dati e strutturare il quaderno in base al tipo di esperimento in corso, quali informazioni riportare, come recuperare le informazioni dal quaderno.*
< 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*

< Isolamento e caratterizzazione di cellule staminali >

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 e molecolare del potenziale differenziativo.

< Medicina genomica >

Ricerca di varianti geniche mediante sequenziamento Sanger.

Analisi "in silico" di varianti geniche.

Utilizzo di database per la ricerca e l'interpretazione delle varianti geniche.

Analisi genomica mediante tecniche di "next generation sequencing": analisi di pannelli genici, esoma e trascrittoma.

Analisi di espressione genica: RT-PCR, real time PCR, microarray.

Analisi quantitativa di proteine: Western blot.

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.