

## DIAGNOSTICA AVANZATA (LBB014)

### 1. lingua insegnamento/language

Italiano e tedesco

### 2. contenuti/course contents

Coordinatore/Coordinator: Prof. TOBIAS LONGIN HAAS

Anno di corso/Year Course: 3

Semestre/Semester: 2

CFU/UFC: 5

Moduli e docenti incaricati /Modules and lecturers:

- APPLICAZIONE NGS (LBB057) - 1 cfu - ssd MED/03

Prof. Tobias Longin Haas

- PROTEOMICA CLINICA (LBB058) - 1 cfu - ssd BIO/10

Prof. Tobias Longin Haas

- DIAGNOSTICA AVANZATA IN MICROBIOLOGIA (LBB059) - 2 cfu - ssd MED/07

Prof. Margherita Cacaci

- DIAGNOSTICA AVANZATA IN PATOLOGIA CLINICA (LBB060) - 1 cfu - ssd MED/04

Prof. Andrea Vodová

### 3. testi di riferimento/bibliography

#### LBB057 APPLICAZIONE NGS

##### Vorlesungsfolien (diapositive)

##### Next Generation Sequencing Technologies in Medical Genetics

C. Alexander Valencia et al., Springer Verlag Edition 2013; Springer Briefs in Genetics

ISBN-10: 1461490316

#### LBB058 PROTEOMICA CLINICA

##### Vorlesungsfolien (diapositive)

##### Introducing Proteomics: From Concepts to Sample Separation, Mass Spectrometry and Data Analysis

Josip Lovric; John Wiley & Sons Inc; 1. edition (2011)

ISBN-10: 9780470035245

## **LBB059 DIAGNOSTICA AVANZATA IN MICROBIOLOGIA**

**Diapositive**

## **LBB060 DIAGNOSTICA AVANZATA IN PATOLOGIA CLINICA**

**Diapositive**

### **4. obiettivi formativi/learning objectives**

*Il corso ha lo scopo di fornire allo studente le conoscenze di base della **diagnostica avanzata**. Inoltre, gli studenti dovrebbero essere in grado di comprendere lo sfondo teorico e le tecniche utilizzate nella diagnostica avanzata. Lo studente dovrà dimostrare di essere in grado di esporre chiaramente e con un linguaggio specifico per ogni disciplina i contenuti del corso e realizzare correttamente i necessari collegamenti.*

### **LBB057 APPLICAZIONE NGS**

*Lo scopo di questa unità è insegnare le seguenti conoscenze:*

- 1) Conoscenze biochimiche di base sulla struttura e la funzione del DNA e dell'RNA.*
- 2) Conoscenze biologiche cellulari di base sulle malattie ereditarie e sullo sviluppo dei tumori.*
- 3) Metodi per l'indagine del DNA, delle modifiche del DNA e dell'RNA (PCR, bisulfite PCR, rtPCR, sequenziamento Sanger).*
- 4) Introduzione al "Next Generation Sequencing" e confronto con il sequenziamento Sanger. Produzione delle librerie di sequenziamento ("librerie di sequenziamento").*
- 5) Conoscenza delle principali piattaforme tecniche ("2a generazione"), dei loro modi di funzionamento e delle aree di applicazione.*
- 6) Conoscenza delle ultime piattaforme di sequenziamento di "terza generazione".*
- 7) Esempi di applicazione di NGS in oncologia e medicina dei trapianti.*

### **LBB058 PROTEOMICA CLINICA**

*Lo scopo di questa unità è insegnare le seguenti conoscenze:*

- 1) Conoscenza di base della struttura, delle modifiche e delle funzioni delle proteine.*
- 2) Struttura, purificazione biochimica e analisi molecolare di complessi proteici selezionati.*
- 3) Basi fisiche della spettrometria di massa.*
- 4) Conoscenza della costruzione tecnica dei moderni spettrometri di massa ("quadrupolo") e delle basi dei diversi tipi di spettrometria di massa (MALDI-TOF, LC-ESI-MS/MS).*
- 5) Applicazioni della spettrometria di massa per scopi medici.*
- 6) Proteomica in applicazione pratica: indagine di proteine e modifiche proteiche tramite LC-ESI-MS/MS per l'identificazione di nuovi biomarcatori o interazioni proteina-proteina.*

## **LBB059 DIAGNOSTICA AVANZATA IN MICROBIOLOGIA**

*Lo scopo di questa unità è insegnare le seguenti conoscenze:*

- 1) *Vantaggi e svantaggi della diagnostica avanzata in microbiologia*
- 2) *Utilizzo di piattaforme avanzate per le diagnosi rapide di infezioni comunitarie e nosocomiali*
- 3) *Applicazioni in Microbiologia dell'NGS*
- 4) *Applicazione di tecniche molecolari per la diagnosi di infezioni virali (e.g. SARS-CoV2)*
- 5) *Rilevazione di determinanti di resistenza agli antibiotici di uso comune*

## **LBB060 DIAGNOSTICA AVANZATA IN PATOLOGIA CLINICA**

*Lo scopo di questa unità è insegnare le seguenti conoscenze:*

- 1) *Applicazioni della cromatografia-spettrometria di massa nel Laboratorio di biochimica clinica*
- 2) *Cromatografia-Spettrometria di massa nell'ambito tossicologico*
- 3) *Analisi a scopo medico-legale e le loro criticità*
- 4) *Gas Cromatografia e la determinazione dell'etanolo*
- 5) *Monitoraggio terapeutico dei farmaci (immunosoppressori, antiepilettici, neurolettici ecc.)*
- 6) *Determinazione dei metalli in traccia*

### **5. prerequisiti/PREREQUISITES**

*Sono richieste le conoscenze di base di biologia, matematica e fisica, fornite nel corso della scuola superiore.*

### **6. metodi didattici/teaching methods**

*La didattica per i quattro moduli si svolgerà mediante lezioni frontali, attraverso l'utilizzo di diapositive e esercizi alla lavagna. Il corso è organizzato in lezioni frontali e diviso in quattro moduli, una prima inerente argomenti di "next generation sequencing", la seconda incentrata sulla proteomica clinica, la terza pertinente la diagnostica avanzata in microbiologia e la quarta incentrata sulla diagnostica avanzata in patologia clinica.*

*Si consiglia sempre l'utilizzo di un libro di testo di riferimento per una preparazione appropriata dell'esame. Inoltre, nell'ipotesi del perdurare dell'emergenza Covid-19 e/o nei casi in cui sia impossibile erogare didattica, le modalità di erogazione del corso e degli esami verrà espletata a distanza ovvero online attraverso delle piattaforme dedicate e autorizzate dall'ateneo (Blackboard Collaborate Ultra), seguendo le disposizioni della facoltà.*

***L'insegnamento di ciascun corso sarà orientato al raggiungimento dei seguenti obiettivi formativi:***

***Conoscenza e capacità di comprensione - Knowledge and understanding (Dublino 1)***  
*Al termine del corso lo studente deve dimostrare di conoscere e aver compreso i contenuti programmatici.*

COME SI VERIFICA: Esame orale o esame scritto.

**Conoscenza e capacità di comprensione applicate – Applying knowledge and understanding (Dublino 2)** Al termine del corso lo studente deve dimostrare di saper progettare e attuare la risoluzione di problemi reali inerenti conoscenza della diagnostica avanzata trattate durante il corso. Lo studente dovrà essere capace di applicare in maniera del tutto autonoma le tecniche apprese durante il corso.

COME SI VERIFICA: Esame orale o esame scritto.

**Autonomia di giudizio - Making judgements (Dublino 3)** Al termine del corso lo studente deve mostrare di essere in grado di formulare giudizi interpretativi motivati sulla base delle conoscenze acquisite, circa attività di ricerca reali o immaginarie legati a scenari realistici.

**Abilità comunicative – Communication skills (Dublino 4)** Al termine del corso lo studente deve dimostrare di saper scegliere e utilizzare appropriatamente la terminologia tecnica, adeguando le sue forme comunicative orali, scritte e visuali al livello richiesto e agli scopi specifici; analogamente, lo studente deve dare prova di saper analizzare e sintetizzare i messaggi in fase di comunicazione passiva, e di saper interloquire con figure professionali di diversi livelli di specializzazione. Alla fine del corso lo studente dovrà essere in grado di esporre in maniera chiara e specifica per ogni modulo i concetti appresi di diagnostica avanzata.

**Capacità di apprendere – Learning skills (Dublino 5)** Al termine del corso lo studente dovrà raggiungere una maturità nell'apprendimento tale da permettergli di mantenere un costante livello di aggiornamento nelle quattro materie trattate nel corso, attraverso l'utilizzo di libri di testo, articoli su riviste scientifiche e utilizzo di piattaforme online.

## 7. altre informazioni/other informations

Oltre ad appunti e diapositive, il supporto di un libro di testo è necessario per poter raggiungere gli obiettivi formativi richiesti dal corso, soprattutto per acquisire una maggiore familiarità con il linguaggio tecnico proprio di ognuna delle tre discipline. I Docenti sono a disposizione per informazioni sul corso e per chiarimenti sulle lezioni con appuntamento tramite posta elettronica o, se per una veloce richiesta, alla fine delle lezioni.

## 8. modalità di verifica dell'apprendimento/ methods for verifying learning and for evaluation

Per i quattro moduli gli studenti saranno valutati mediante una prova orale o una prova d'esame scritto in presenza o erogata da remoto utilizzando la piattaforma Blackboard con l'utilizzo del browser Respondus Lockdown e funzionalità Monitoring. La prova scritta consisterà di 31 domande a scelta multipla con una sola risposta esatta. La modulazione delle domande sarà fatta in modo tale da permettere di valutare quanto lo studente sia stato capace di comprendere (Capacità di comprensione - Dublino 1) e applicare le conoscenze e competenze fornite dal Corso (Capacità di comprensione applicate – Dublino 2 e Capacità di apprendere – Dublino 5). In modo particolare, quest'ultimo punto è verificato mediante domande basate su specifiche tecniche di laboratorio da inquadrare in tutti i loro aspetti per poter rispondere correttamente.

Il punteggio sarà espresso in trentesimi e non sarà superato l'esame che riporti un voto inferiore a 18/30. Il voto di 30 e lode sarà ottenuto dallo studente che risponda in modo esauriente a tutte le domande con particolare distinzione nel livello di approfondimento e di competenza senza alcuna svista o imperfezione.

Nel caso perdurasse l'emergenza Covid-19 e le regole di distanziamento, potrebbe rendersi necessaria l'adozione di una forma di esame da remoto anche per la seconda prova di esame

mediante utilizzo della piattaforma Blackboard Collaborate Ultra. Il CFU di ciascun modulo ne definisce il peso nel calcolo del voto medio finale.

## 9. programma esteso/program

### **LBB057 APPLICAZIONE NGS**

- *Einführung in die Molekularbiologie:*
- *Das zentrale Dogma der Molekularbiologie*
- *Replikation, Transkription, Translation*
- *„Reverse“ Transkription*
- *Polymerase-Kettenreaktion (PCR)*

#### *Molekulare Ursachen von Krebs und Erberkrankungen*

- *Zellzyklus Kontrolle*
- *Signaltransduktionswege*
- *Mutationen und deren Auswirkungen*

#### *Genexpressionanalyse*

- *semi-quantitative PCR*
- *quantitative PCR*
- *Chip basierte Genexpressionsanalyse*
- *Chromatin-Immuno-Präzipitation*

#### *Methoden zur DNA Sequenzierung (Grundlagen und Vergleich):*

- *Sanger Sequenzierung*
- *Second Generation Sequenzierung (NGS, massively parallel sequencing)*
  - *Einleitung*
  - *Grundlagen für die Herstellung von „Sequenzier-Libraries“*
  - *Herstellung der „DNA-Cluster“ für die Sequenzierung*
  - *Vorstellung verschiedener Plattformen*
    - *Pyrosequencing Roche*
    - *Sequenzierung durch Synthese (Illuminar)*
    - *Ion-Torrent Sequenzierung (Thermo)*
    - *Sequenzierung durch Ligation (SOLiD, Applied Biosystems)*
- *Ausblick: Third Generation Sequencing*
  - *Single Molecule Sequencing (BioPac RS)*
  - *Oxford Nanopore Technology*

#### *Einsatz von NGS in der Medizin*

- *gezielte NGS (Prinzip)*
- *HLA Analyse*
- *Analyse von Tumoren (ACC)*

### **LBB058 PROTEOMICA CLINICA**

#### *Einführung in die Protein Biochemie:*

- *Aufbau und Funktion von Proteinen*
- *Beispiele wichtiger Protein-Komplexe*
- *Methoden zur Untersuchung von Proteinen*
  - *Western Blot*
  - *ELISA*
  - *2D-Gel Elektrophorese*

*Moderne Methoden in der Proteomik:*

- *Protein-Chips*
- *Reverse Phase Protein Array Technologie*

*Untersuchung von Protein-Protein Interaktionen*

- *Gentechnisch basierte Methoden*
  - *Two-hybrid Assays*
  - *Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET)*
  - *Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET)*
- *Biochemische Methoden:*
  - *Immuno-Präzipitation*
  - *Zweistufen-Immuno-Präzipitation*

*Massenspektrometrie:*

- *Physikalische Grundlagen der Massenspektrometrie*
- *Technischen Aufbau moderner („quadropole“) Massenspektrometer*
- *Grundlagen verschiedener Arten der Massenspektrometrie*
  - *Chromatographie Techniken*
  - *MALDI-TOF*
  - *LC-ESI-MS/MS*
- *Interpretation einfacher Spektren*

*Anwendungen der Massenspektrometrie für diagnostische Zwecke.*

*Proteomik in der praktischen Anwendung: Untersuchung von Proteinen und Protein-Modifikationen mittels LC-ESI-MS/MS zur Identifikation neuer Biomarker oder Protein-Protein-Interaktionen*

## **LBB059 DIAGNOSTICA AVANZATA IN MICROBIOLOGIA**

- *Introduzione alla diagnostica Microbiologica;*
- *Diagnostica Avanzata in Batteriologia:*
  - Diagnostica fenotipica*
  - Diagnostica molecolare*
  - Algoritmi diagnostici.*
- *Infezioni da patogeni multiresistenti (MDR-XDR):*
  - protocolli diagnostici,*
  - metodi di genotipizzazione,*
  - sorveglianza*
- *Diagnostica avanzata in Virologia:*
  - Colture cellulari*
  - Tecniche molecolari,*
  - Diagnostica di SARS-CoV2 e sorveglianza epidemiologica*
  - infezioni virali nel paziente immunocompromesso,*
  - Infezioni virali in gravidanza,*
  - HIV*
- *Diagnostica avanzata in Micologia e Parassitologia:*
  - utilizzo di biomarcatori*
  - metodiche molecolari.*
- *Next Generation Sequencing in microbiologia: epidemiologia molecolare e Microbiota*

## **LBB060 DIAGNOSTICA AVANZATA IN PATOLOGIA CLINICA**

1. *Anwendung der Chromatographie-Massenspektrometrie im klinisch-biochemischen Labor:*
  - *Vorteile und Nachteile der LC-MS im klinischen Bereich*
2. *Chromatographie-Massenspektrometrie im toxikologischen Bereich:*
  - *Bestimmung von Suchtmitteln*
  - *Bestimmung im Blut, Harn und keratinische Matrix*
3. *Analysen im Bereich der Rechtsmedizin und deren kritischen Punkte:*
  - *Metabolite der Suchtmittel*
  - *Auswahl der Methode*
  - *Notwendige Dokumentation*
4. *Gaschromatographie und die Bestimmung des Ethanols:*
  - *Bestimmung für rechtsmedizinische Zwecke*
  - *Head-space-Gaschromatographie*
5. *TDM - Therapeutische Bestimmung von Arzneimitteln:*
  - *LC-MS für die Bestimmung von Immunosuppressiva*
  - *Bestimmung vom Serumspiegel der Antiepileptika, Antidepressiva und Neuroleptika mittels LC-MS*
6. *Bestimmung der Metalle mit der Methode ICP-MS:*
  - *Beschreibung von Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma*
  - *Bestimmung von Schwermetallen*
  - *Bestimmung von klinisch relevanten Elementen*