



DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE

Corso di Laurea in Scienze Biologiche per la Diagnostica Clinica

Corso di *Biologia Molecolare per diagnostica di laboratorio*

Anno Accademico 2023/24

Corso di Laurea	Scienze Biologiche per la Diagnostica Clinica
Denominazione insegnamento:	Biologia Molecolare per Diagnostica di Laboratorio
Numero di Crediti:	9
Anno/Semestre:	III anno - I semestre
Docente Titolare:	Massimo Pancione
Dottorandi/assegnisti di ricerca che svolgono attività didattica a supporto del corso:	
Orario di ricevimento:	Gli studenti saranno ricevuti immediatamente dopo la fine di ogni lezione. Oltre all'orario di ricevimento prefissato, per specifiche esigenze è possibile fissare un appuntamento via email.
Indirizzo:	Presidio ASL, via Flammia - Grottole (AV)

PRESENTAZIONE DEL CORSO

La Biologia Molecolare è la disciplina che si occupa di indagare a livello molecolare i fenomeni biologici concentrandosi in particolare sulla struttura, le proprietà e le reazioni delle molecole e macromolecole, ovvero proteine e acidi nucleici (DNA e RNA) e le loro interazioni. Il corso si propone di fornire le conoscenze teoriche e pratiche per lo studio e l'analisi degli acidi nucleici e delle proteine. Durante il corso si affronteranno in maniera critica le tecniche classiche e di più recente introduzione di Biologia Molecolare rivolti alla comprensione dei meccanismi molecolari delle patologie ed alla loro diagnosi in laboratorio.

GLI OBIETTIVI FORMATIVI

Il Corso ha l'obiettivo di consentire allo studente l'acquisizione delle conoscenze delle tecniche e metodologie di base e dei loro ulteriori sviluppi applicativi per lo studio ed analisi degli acidi nucleici e dell'espressione genica, con particolare riferimento alle tecnologie impiegate per la produzione di DNA ricombinante

L'esercitazione pratica darà la possibilità allo studente di concretizzare le conoscenze teoriche acquisite e sarà incentrata su alcune tra le metodiche più utilizzate nei comuni laboratori di ricerca e

contestualmente apprendere l'utilizzo di strumentazioni di base. In particolare, gli studenti impareranno ad usare le pipette e altre comuni strumentazioni di laboratorio, ed affronteranno i diversi passaggi sperimentali volti all'analisi dell'espressione genica, attraverso le tecniche di estrazione dell'RNA, la sua quantificazione tramite spettrofotometro; l'analisi qualitativa mediante elettroforesi su gel d'agarosio e confronto con altri tipi di acidi nucleici; la produzione di cDNA mediante retro-trascrizione e la quantificazione di specifici RNA messaggeri mediante reazione di amplificazione (RT-PCR).

CONOSCENZA E COMPRENSIONE

Lo studente apprenderà:

- la corretta terminologia scientifica
- le tecniche di base per l'estrazione, la quantificazione e l'analisi di acidi nucleici
- le tecniche di base per l'analisi genomica e trascrittomica
- gli elementi di base per costruire un vettore ricombinante
- le differenze tra i diversi tipi di vettori ricombinanti

CAPACITA' DI APPLICARE CONOSCENZA E COMPRENSIONE

Lo studente saprà:

- quale metodo utilizzare per estrarre il DNA, l'RNA da diverse fonti biologiche
- quali tecniche sono impiegate nelle analisi genomica e trascrittomica
- quali strategie utilizzare per effettuare un esperimento di clonaggio genico
- quali vettori usare per produrre una proteina ricombinante
- quali vettori usare per modificare l'espressione genica

PREREQUISITI RICHIESTI

Competenze già acquisite nei corsi di chimica generale, chimica organica e biochimica. Più in dettaglio si suppongono acquisite 1) nozioni e tecniche analitiche di chimica generale ed inorganica; 2) nomenclatura e stereochimica dei composti organici, reazioni e proprietà delle molecole organiche; 3) nozioni sulla struttura e funzione delle proteine ed i suoi costituenti, enzimi e reazioni biochimiche che si svolgono nella materia vivente.

FREQUENZA DELLE LEZIONI

La frequenza è da considerarsi fondamentale in quanto il corso mira ad adattare il materiale di studio specificamente agli studenti di **Biologia Molecolare per diagnostica di laboratorio**. Le sessioni di esercitazione sono inoltre fondamentali per superare le difficoltà concettuali e pratiche dell'apprendimento.

Contenuti del Corso

PRIMA PARTE:

- 1) Analisi degli acidi nucleici e loro espressione e/o modulazione:
 - Isolamento e purificazione di DNA, quantificazione ed analisi: elettroforesi in gel d'agarosio e poliacrilamide, elettroforesi capillare;
- 2) Tecniche per studio del genoma: impiego di enzimi per la manipolazione del DNA (enzimi di restrizione, polimerasi, ligasi, etc.), Southern Blotting, reazione di Polimerizzazione a Catena (PCR) e sue varianti, qPCR, sequenziamento genico classico e Next Generation Sequencing;
 - Isolamento, purificazione, quantificazione di RNA e microRNA;

- 3) Tecniche di base per studio dell'espressione genica: retro-trascrizione e produzione di cDNA, Real Time PCR quantitativa, digital PCR, cenni sulle tecniche per analisi trascrittomiche: gene expression array ed RNA sequencing.

SECONDA PARTE:

- 4) Tecniche di manipolazione del DNA, vettori di clonaggio, vettori di espressione, metodologie di trasfezione, proteine ricombinanti;
 5) Impiego di enzimi per clonare il DNA; Tipi di vettori di clonaggio e loro applicazioni (plasmidi, batteriofagi, cosmidi, ecc); Tecniche per l'introduzione di vettori ricombinanti nelle cellule; Introduzione ai vettori virali per terapia genica;
 6) Metodi per la produzione di proteine ricombinanti: vettori e sistemi di espressione delle proteine ricombinanti, pharming, produzione di animali transgenici.

TERZA PARTE:

- 7) Tecniche per studio dell'espressione e della funzione dei geni. Tecniche per individuazione di sequenze geniche, di promotori genici e del loro legame con fattori di trascrizione;
 8) Immunoprecipitazione della cromatina (ChIP), Saggi mediante geni reporter;
 9) Analisi della metilazione del DNA; Mutagenesi in-vitro; Impiego di RNA interference e altri approcci (CRISPR/CAS9) per il gene silencing; Tecniche di studio dei microRNA.

Ciascuno di questi punti corrisponde approssimativamente ad 1 CFU (4 lezioni) di didattica erogata 9 punti per 9 CFU.

SYLLABUS

Argomenti	Materiale didattico	Tipo lezione	CFU
Parte 1	Dispense e slide.	Frontale	1
Parte 2	Dispense e slide, tracce per esercitazioni.	Frontale/Lab	1
Parte 3	Dispense, slide .	Frontale	1
Parte 4	Dispense, slide.	Frontale	1
Parte 5	Dispense, slide.	Frontale	1
Parte 6	Dispense, slide.	Frontale	1
Parte 7	Dispense, slide , tracce per esercitazioni	Frontale/Lab	1
Parte 8	Dispense, slide.	Frontale	1
Parte 9	Dispense, slide, tracce per esercitazioni.	Frontale/Lab	1

METODI DIDATTICI

Il corso prevede lezioni frontali con l'ausilio di slide presentazioni e video tutorial (7 CFU) e sessione di esercitazioni di laboratorio (2 CFU). Altro materiale di supporto alla didattica è distribuito all'indirizzo <http://dstunisannio.it/it>

TESTI DI RIFERIMENTO

Dato l'alto livello di personalizzazione del corso, il docente fornisce dispense, lucidi ed esercizi mirati.

Testo consigliato: Lizabeth A. Allison, Fondamenti di Biologia Molecolare, Zanichelli.

ESAME DI PROFITTO

La verifica consiste in una prova orale. La prima domanda riguarderà un lavoro scientifico nell'ambito della **Biologia Molecolare per diagnostica di laboratorio** scelto e presentato dallo studente durante il corso. Il resto dell'esame viene condotto formulando, in linea generale, altre tre domande basate sui quattro argomenti principali del programma in modo da verificare la conoscenza degli argomenti trattati. Il superamento dell'esame e la votazione vengono stabiliti in funzione del livello di conoscenza di ciascun argomento.

ALTRE INFORMAZIONI

Per studenti con comprovate specifiche esigenze (studenti lavoratori, diversamente abili, in maternità, con figli, ecc..) il docente garantisce flessibilità, ad esempio: cambio di orario di appelli di esami, di esercitazioni, di ricevimento e tutorato. Tali variazioni devono essere richieste con debito anticipo. Il docente inoltre assicura supporto e assistenza agli studenti Erasmus tenendo, se necessario, tutorato ed esami in lingua inglese.

CALENDARIO ESAMI

Il calendario degli esami è disponibile sulla piattaforma Esse3.

PRENOTAZIONE ESAMI

Gli esami sono prenotabili attraverso la piattaforma Esse3.