



# UNIVERSITÀ DI PISA

## BIOTECNOLOGIE CELLULARI

---

### MARCO ONORATI

Anno accademico	2019/20
CdS	BIOTECNOLOGIE
Codice	323EE
CFU	6

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
BIOTECNOLOGIE CELLULARI	BIO/06	LEZIONI	56	MARCO ONORATI

#### Obiettivi di apprendimento

##### *Conoscenze*

Stiamo entrando in una nuova era in cui l'applicazione delle biotecnologie cellulari avrà un ruolo fondamentale. In questo corso verranno esaminati gli strumenti di base ed innovativi per studi e applicazioni cellulari in termini di potenziali approcci terapeutici. Argomenti come imaging, modificazioni del genoma, isolamento a singola cellula, coltura di cellule staminali e riprogrammazione somatica saranno valutati criticamente. Particolare enfasi sarà data al ruolo unico delle cellule staminali per il modeling della patologia e nelle applicazioni cliniche.

##### *Modalità di verifica delle conoscenze*

Durante l'esame lo studente sarà valutato sulla base delle sue conoscenze e della comprensione critica degli argomenti trattati durante il corso, con particolare attenzione alla capacità di collegare diversi argomenti in una visione organica.

##### *Capacità*

Lo studente sarà in grado di valutare criticamente gli strumenti biotecnologici disponibili al giorno d'oggi. Inoltre, sarà in grado di sviluppare una logica per selezionare la strategia appropriata per progettare un esperimento, indagare su una questione biologica, indurre / modificare un destino specifico della cellula. L'attività pratica durante le sessioni di laboratorio fornirà un'introduzione alla coltura cellulare e alle metodologie di imaging.

##### *Modalità di verifica delle capacità*

Esame orale, con discussione critica degli argomenti analizzati durante le lezioni.

##### *Comportamenti*

Capacità critica di valutare le tecnologie cellulari nello studio della funzione genica, modeling della patologia o approcci terapeutici.

##### *Modalità di verifica dei comportamenti*

Le abilità acquisite saranno valutate durante discussione nelle lezioni e all'esame finale.

##### *Prerequisiti (conoscenze iniziali)*

Si richiede una buona conoscenza della biologia cellulare, molecolare e della genetica.

##### *Indicazioni metodologiche*

Lezioni frontali e attività di laboratorio.

##### *Programma (contenuti dell'insegnamento)*

###### **Introduzione storica alle biotecnologie**

###### **Tecniche di indagine**

Microscopia ottica, in epifluorescenza e confocale. Tecniche di immunorivelazione e bioluminescenza. Geni reporter e marcatori selezionabili. Principi e applicazioni della citometria a flusso. Analisi trascrizionale a singola cellula.

###### **Coltura cellulare e manipolazione**

Colture primarie. Senescenza replicativa. Linee cellulari stabilizzate/immortalizzate. Crioconservazione. Metodi di trasferimento genico. Promotori costitutivi ed inducibili. Vettori virali.

Ingegneria tissutale. Sistemi cellulari innovativi: organoidi.



## UNIVERSITÀ DI PISA

---

### **Tecnologie di genome editing**

Silenziamento genico post-trascrizionale. Gene targeting: knock-in e knock-out genico. Il sistema CRISPR/Cas e applicazioni in modelli cellulari staminali. Medicina di precisione.

Transgenesi condizionale: il sistema Cre/loxP.

### **Cellule staminali**

Generalità sulle cellule staminali e definizioni. Cellule staminali embrionali. Criteri di pluripotenza.

Patterning molecolare verso un destino cellulare specifico. Esempi di differenziamento verso cardiomiociti e isole beta-pancreatiche. Induzione neurale e differenziamento terminale verso sottotipi neuronali. Generazione di neuroni dopaminergici in vitro per terapia cellulare sostitutiva.

Cellule staminali somatiche/adulte, biologia e potenziali applicazioni terapeutiche.

Meccanismi di riprogrammazione: cellule iPS. Riprogrammazione somatica diretta.

### **Laboratorio**

Introduzione alla pratica di laboratorio per la coltura cellulare. Tecniche di fissazione e immunofluorescenza indiretta. Imaging mediante microscopia a fluorescenza.

### **Bibliografia e materiale didattico**

Dato che gran parte del materiale di questa classe sarà contemporaneo, non esiste un libro di testo completo che copra adeguatamente tutti gli argomenti. Di conseguenza, un importante materiale di riferimento è rappresentato dalla Lezione stessa. Le diapositive delle lezioni saranno disponibili sulla piattaforma e-learning insieme a recensioni e articoli selezionati.

Come riferimento generale per la biologia cellulare e le biotecnologie, sono suggeriti i seguenti libri di testo:

- Alberts. Biologia Molecolare della cellula. Zanichelli Ed. Brown.
- Biotecnologie molecolari. Zanichelli Ed.

### **Indicazioni per non frequentanti**

Tutte le informazioni e il materiale didattico saranno forniti sul sito web del corso.

<https://polo3.elearning.unipi.it/course/view.php?id=2880>

### **Modalità d'esame**

Esame orale.

### **Altri riferimenti web**

Unimap: <https://unimap.unipi.it/registri/dettregistriNEW.php?re=2090341:::&ri=032903>

Esami: <https://esami.unipi.it/esami/findcourse.php?id=39555>

Pagina Docente: [https://people.unipi.it/marco\\_onorati/](https://people.unipi.it/marco_onorati/)

*Ultimo aggiornamento 24/02/2020 11:05*