



UNIVERSITÀ DI PISA

BIOTECNOLOGIE GENETICHE

ROBERTO GIOVANNONI

Academic year	2021/22
Course	BIOTECNOLOGIE MOLECOLARI
Code	364EE
Credits	6

Modules	Area	Type	Hours	Teacher(s)
BIOTECNOLOGIE GENETICHE	BIO/18	LEZIONI	56	ALVARO GALLI ROBERTO GIOVANNONI

Obiettivi di apprendimento

Conoscenze

Il corso fornisce agli studenti una conoscenza di base sulle principali tecniche ed applicazioni di biologia e genetica molecolare basate su meccanismi o processi genetici. Gli studenti acquisiranno conoscenze tecniche e teoriche su modelli sperimentali rilevanti e relative applicazioni nelle biotecnologie genetiche.

Modalità di verifica delle conoscenze

Preparazione di una relazione finale sugli esperimenti svolti nei laboratori ed esame orale con voto finale in trentesimi.

Capacità

Gli studenti acquisiranno competenze tecniche e teoriche su modelli sperimentali rilevanti e relative applicazioni nelle biotecnologie genetiche

Modalità di verifica delle capacità

Preparazione di una relazione finale sugli esperimenti svolti nei laboratori ed esame orale con voto finale in trentesimi.

Comportamenti

Gli studenti acquisiranno capacità di disegnare appropriati esperimenti che utilizzino meccanismi e processi genetici in ambito biotecnologico

Modalità di verifica dei comportamenti

La verifica dei comportamenti acquisiti dagli studenti avverrà mediante colloquio orale sugli argomenti discussi a lezione e mediante una relazione scritta sulle attività di laboratorio

Prerequisiti (conoscenze iniziali)

Biologia Molecolare e Genetica di base

Indicazioni metodologiche

La parte di didattica frontale prevede lezioni, discussione di specifici articoli scientifici anche in forma seminariale. La parte di laboratorio prevede attività pratica/sperimentale da parte degli studenti e discussione di risultati scientifici pubblicati nella letteratura specializzata di settore.

Programma (contenuti dell'insegnamento)

Il corso integrato in Biotecnologie Genetiche è focalizzato sull'analisi dei principali meccanismi, processi e modelli genetici alla base delle biotecnologie in applicazioni di diversi contesti delle scienze della vita. Il programma del corso integrato prevede la discussione di meccanismi ed applicazioni sperimentali inerenti le biotecnologie genetiche (Prof. Giovannoni) con particolare riferimento ad un organismo modello di estremo interesse nelle biotecnologie quale il lievito (Prof. Galli). Gli argomenti trattati sono riportati di seguito:

- Manipolazione e ingegnerizzazione dell'espressione genica. Dai sistemi di produzione di proteine ricombinanti negli organismi viventi allo studio delle patologie genetiche umane, dalla sintesi di farmaci peptidici alla modellizzazione di patologie neoplastiche. Meccanismi molecolari ed applicazioni sperimentali (Prof. Giovannoni)
- La genetica al servizio delle biotecnologie, dai vettori di clonaggio dei geni alla manipolazione del DNA, dal DNA ricombinante all'assemblaggio di vettori multi-cistronici per cellule ed organismi eucariotici. Esempi applicativi del ruolo del clonaggio dei geni



UNIVERSITÀ DI PISA

nelle scienze biologiche (Prof. Giovannoni)

- Le biotecnologie genetiche per l'ingegnerizzazione di cellule, tessuti e organi per lo xenotrapianto: dal suino knocked-out per il gene GT al suino multi-transgenico dagli organi umanizzati, fino all'animale dal genoma ingegnerizzato per fungere da bioreattore per la coltivazione di organi umani. Tecniche, meccanismi molecolari ed applicazioni sperimentali (Prof. Giovannoni)
- Le biotecnologie genetiche e la manipolazione del genoma: verso una nuova classe di medicine ad azione specifica contro differenti patologie, dalle malattie genetiche al potenziamento di terapie antineoplastiche (Prof. Giovannoni)
- Il lievito come organismo unicellulare modello, ciclo vitale fase aploide e diploide, Mating type e switching del mating Il lievito come sistema genetico per studiare l'invecchiamento e le malattie umane. Parkinson, Alzheimer e Chorea di Huntington: Effetto della espressione dell'alfa sinucleina e dell' Huntingtina (HTT) in lievito (Prof. Galli)
- Ricombinazione omologa e non omologa, meccanismo e proteine Ricombinazione meiotica e mitotica, definizioni e significato biologico, Modello di Holliday, Meselson e Szostak. Formazione dell'Heteroduplex, conversione genica e segregazione post meiotica.. Ricombinazione sito specifica con endonucleasi I-Sce1, ruolo del ciclo cellulare ed ricombinazione nelle fasi specifiche del ciclo cellulare (G1 e G2) (Prof. Galli)
- Organizzazione del genoma del lievito, library di ceppi di lievito per effettuare screening genetici (Yeast deletion pool library). Esempi di utilizzo di queste library per identificare interattori funzionali e soppressori di fenotipi, Screening Biologia sintetica: genoma sintetico e cromosoma sintetico (Prof. Galli)
- Trasformazione lievito: esperimento di Gene targeting, cenni sui tipi di vettori: episomici, integrativi, centromerici e Meccanismo del Gene Targeting (GT): strategie per aumentare il GT nelle cellule umane, Zn finger nucleasi, sistema TALEN and Cas9/CRISPR (Prof. Galli)
- La proteina p53 come "tumor suppressor": ruolo fisiologico nel controllo del ciclo cellulare: saggio di espressione in Two hybrid assay: cenni e significato. Saggi funzionali in lievito: esempi di BRCA1, BRCA2, geni del mismatch repair e della polimerasi delta (Prof. Galli)

Programma dell'attività di laboratorio:

- Esperimento di Gene targeting: conta delle colonie e calcolo della efficienza di trasformazione
- Replica plating dei cloni URA3 in terreno -uracile-lisina per calcolare la frequenza del gene targeting
- Controllo e conta degli eventi di gene targeting, calcolo definitivo della frequenza
- Trasformazione lievito per effettuare il saggio funzionale (Yeast small colony assay) con Uso dei plasmidi pYES2, pYES2-BRCA1 e pYES2-BRCA1mutato
- Controllo dell'esperimento e valutazione dei risultati: inoculo in terreno liquido
- Diluizioni e piastramento delle colture in terreno contenente glucosio o galattosio
- Osservazione delle piastre e discussione dei risultati

Bibliografia e materiale didattico

Reviews ed articoli scientifici selezionati saranno discussi e forniti agli studenti tramite la piattaforma e-learning dedicata del corso. Tutte le slides presentate dai docenti saranno disponibili sulla piattaforma e-learning dedicata del corso.

Libro di testo suggerito per consultazione: Brown TA, Biotecnologie Molecolari. Principi e tecniche ZANICHELLI editore. II Edizione italiana (VII edizione inglese)

Indicazioni per non frequentanti

Le slides degli argomenti trattati a lezione e la relativa bibliografia saranno disponibili agli studenti mediante la piattaforma e-learning del corso. Le videoregistrazioni delle lezioni saranno disponibili sulla piattaforma MS Teams, nel canale dedicato del corso

Modalità d'esame

Preparazione di una relazione finale sugli esperimenti svolti nei laboratori ed esame orale con voto finale in trentesimi.

Pagina web del corso

<https://teams.microsoft.com/team/19%3aU6c-gGu-0xLlmr3EmYamNOg1ASfZ7NnBTZWWX8l0JT41%40thread.tacv2/conversations?groupId=2922bce7-6efb-4e12-bca1-7aef92c155fc&tenantId=c7456b31-a220-47f5-be52-473828670aa1>

Ultimo aggiornamento 11/09/2021 09:24