

<b>Principali informazioni sull'insegnamento</b>	<b>CORSI DI STUDIO DI BIOTECNOLOGIE</b>
Denominazione insegnamento	Ingegneria Cellulare e Laboratorio di Tecnologie Cellulari
Corso di studio (classe)	Biotecnologie Industriali e Agro-Alimentari (L-2)
Crediti formativi	6
Denominazione inglese	Cellular engineering and laboratory of cellular technologies
Obbligo di frequenza	SI
Lingua di erogazione	Italiano
Anno Accademico	2020/2021

<b>Docente responsabile</b>		
Nome e Cognome	Rosa Angela Cardone	
indirizzo email	rosaangela.cardone@uniba.it	
numero di telefono	+39 080 544 3385	
Luogo e orario di ricevimento	Nuovo Palazzo dei Dipartimenti Biologici, IV Piano. Stanza N. 47. Campus dell'Università degli Studi di Bari "Aldo Moro". Via Orabona, 4, Bari (BA). Lunedì 10.00-12.00	
<b>Dettaglio insegnamento</b>	SSD	tipologia attività
	BIO/09	Caratterizzante

<b>Periodo di erogazione</b>	Anno di corso		Semestre	
	3°		2°	
<b>Organizzazione della didattica</b>	Lezioni frontali	Laboratori	Esercitazioni	Totale
CFU	3	3		6
Ore totali	75	75		150
Ore di didattica assistita	24	36		60
Ore di studio individuale	51	39		90
<b>Syllabus</b>				
Prerequisiti	Nozioni di Biochimica, Biologia Molecolare, Fisiologia			
<b>Risultati di apprendimento attesi (declinare rispetto ai Descrittori di Dublino)</b>				
Conoscenza e capacità di comprensione	Lo studente dovrà dimostrare di aver acquisito nozioni relative alla manipolazione cellulare (batteri, lieviti, cellule di mammifero staminali e differenziate) per lo studio di proteine di interesse, sia per scopi di ricerca che per scopi industriali.			
Conoscenza e capacità di comprensione applicate	Lo studente dovrà dimostrare di comprendere e di affrontare specifiche problematiche inerenti ai punti di cui sopra, con l'obiettivo finale di progettare autonomamente l'intero processo di manipolazione di cellule e animali in toto.			
Autonomia di giudizio	Lo studente dovrà dimostrare di possedere tutti gli strumenti necessari alla valutazione di casi di ricerca e di casi di attività industriali. Dovrà progettare autonomamente ogni fase, dalla progettazione delle strategie di manipolazione genica, fino alla valutazione della funzionalità della proteina espressa.			

Abilità comunicative	Lo studente deve dimostrare di aver acquisito la corretta terminologia tecnica necessaria alla comunicazione e alla costruzione di una rete di collaborazioni.
Capacità di apprendere	Lo studente dovrà essere capace di analizzare e comprendere testi e di approfondire problematiche attraverso bibliografia specifica.
<b>Programma</b>	
Contenuti di insegnamento	<p><b>Lezioni Frontali:</b></p> <p>Introduzione all'ingegneria cellulare Definizioni. Obiettivi. Definizione di DNA ricombinante e proteine ricombinanti</p> <p>Le proteine ricombinanti I sistemi di espressione in E.Coli, in cellule di lievito e in cellule di mammifero. Produzione e purificazione delle proteine di fusione. Le applicazioni biotecnologiche del clonaggio: la produzione di principi farmaceutici con la tecnologia del DNA ricombinante. La produzione di insulina ricombinante. La sintesi di ormoni della crescita umani in E. coli. La produzione di fattore VIII ricombinante. La sintesi di prodotti commerciali mediante i microrganismi ricombinanti.</p> <p>Le colture cellulari Le colture primarie e secondarie. Colture bidimensionali (2D). Colture tridimensionali (3D) scaffolds-free e in scaffolds naturali e sintetici. Gli organoidi.</p> <p>La trasfezione mediante metodi fisici e chimici di cellule eucariotiche per l'espressione di proteine ricombinanti L'elettroporazione, la microiniezione, la tecnica del Ca<sup>2+</sup>/fosfato, del DEAE-dextrano, dei liposomi dei vettori virali.</p> <p>Silenziamento genico Meccanismo di RNA interference (RNAi). Complessi enzimatici coinvolti nel processo: DICER, complesso multiproteico RISC (RNA- Induced Silencing Complex). Lunghezza e scelta della posizione degli siRNA. Vettori di espressione per la produzione di siRNA: strategie, shRNA, vettori plasmidici e virali. RNAi in vitro ed in vivo: strategie sperimentali.</p> <p>L'analisi delle proteine ricombinanti cellulari <i>in vitro</i> (saggi qualitativi e quantitativi) Estrazione e purificazione delle proteine, analisi delle proteine mediante SDS-PAGE e Western Blotting, immunoprecipitazione, saggi di attività chinasi. Studi di interazione proteina-proteina: il "pull-down". Saggi di vitalità cellulare, di apoptosi, di migrazione e invasione cellulare.</p> <p>L'analisi delle proteine ricombinanti cellulari <i>in vivo</i> (localizzazione, dinamiche subcellulari e funzioni) Microscopia ottica convenzionale e confocale. Tecniche di immunofluorescenza ed immunocitochimica. L'uso delle proteine</p>

	<p>di fusione per l'analisi delle funzioni delle proteine: la "Fluorescence Resonance Energy Transfer" (FRET).</p> <p>Cellule staminali Definizione di rigenerazione e riparazione. Definizione e classificazione in totipotenti, pluripotenti, multipotenti Tipi di cellule staminali: embrionali, fetali, cellule staminali del cordone e della placenta, cellule staminali adulte. Derivazione e coltura delle cellule staminali embrionali. Riprogrammazione di cellule differenziate in cellule staminali pluripotenti indotte.</p> <p><b>Laboratori</b> (da definire in funzione delle attività di ricerca in corso)</p> <p>Mantenimento di colture cellulari (2D) umane stabilizzate Allestimento di colture cellulari 3D Trasfezione di proteine ricombinanti in cellule eucariotiche mediante lipidi cationici. Caratterizzazione biochimica dell'espressione proteica di proteine ricombinanti Caratterizzazione funzionale (crescita, citotossicità, motilità) delle proteine ricombinanti Caratterizzazione dell'espressione <i>in situ</i> e dell'interazione di proteine ricombinanti mediante Proximity Ligation Assay Analisi di proteine ricombinanti mediante tecniche di Imaging (Epifluorescenza e/o Confocale e/o FRET)</p>
Testi di riferimento	T.A. Brown. "Biotecnologie Molecolari" –Zanichelli. Dispense e power point forniti dal docente.
Note ai testi di riferimento	
Metodi didattici	Lezioni frontali con l'utilizzo del PowerPoint ed esercitazioni di laboratorio a posto singolo svolte in laboratorio.
Metodi di valutazione (scritto, orale, prove in itinere)	Esame Orale
Criteri di valutazione (per ogni risultato di apprendimento atteso su indicato, descrivere cosa ci si aspetta lo studente conosca o sia in grado di fare e a quale livello al fine di dimostrare che un risultato di apprendimento è stato raggiunto e a quale livello)	Per il superamento dell'esame è necessario che lo studente dimostri di aver raggiunto i risultati attesi (descritti sopra) ad un livello che gli permetta di discutere agevolmente, avendo buone capacità di integrare i vari argomenti trattati durante il corso, essendo questi strettamente collegati tra loro.
Altro	