

Principali informazioni sull'insegnamento	
Denominazione dell'insegnamento	Ingegneria cellulare e tissutale
Corso di studio	Corso di Laurea in Biotecnologie MEDICHE E MEDICINA MOLECOLARE
Anno di corso	
Crediti formativi universitari (CFU) / European Credit Transfer and Accumulation System (ECTS):	5
SSD	BIO/09
Lingua di erogazione	Italiana
Periodo di erogazione	AA 2021-2022, I anno, II semestre
Obbligo di frequenza	

Docente	
Nome e cognome	Francesco Pisani
Indirizzo mail	<a href="mailto:francesco.pisani@uniba.it">francesco.pisani@uniba.it</a>
Telefono	0805442673
Sede	Nuovo Palazzo dei Dipartimenti Biologici, IV Piano, stanza n°48
Sede virtuale	
Ricevimento (giorni, orari e modalità)	Mercoledì ore 10.00

Syllabus	
Obiettivi formativi	Conoscenza dei principi, delle strategie e delle tecniche utili alla ingegnerizzazione di cellule, tessuti, organi ed animali e alla creazione di organoidi e tessuti in vitro. Utilizzo di tali sistemi ingegnerizzati per gli studi funzionali a livello proteico, cellulare e tissutale.
Prerequisiti	Principi di base di fisiologia cellulare, biologia cellulare e molecolare.
<b>Contenuti di insegnamento (Programma)</b>	<p><b>Colture cellulari</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• colture cellulari primarie, secondarie e biobanche</li> <li>• congelamento, scongelamento, semina ed espansione</li> <li>• apparecchiature, terreni, tecniche di coltivazione</li> </ul> <p><b>Trasferimento e silenziamento genico ed applicazioni:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Proteine di fusione e loro applicazioni (FLAG®, His-tagging, ...)</li> <li>• Metodiche per l'espressione inducibile in cellule di mammifero (Tet-On, Tet-Off-system; Riboswitch system)</li> <li>• Transfezione, microiniezione, infezione virale per l'espressione di proteine ricombinanti per la caratterizzazione della funzione di una proteina</li> <li>• Silenziamento genico in modelli cellulari per la caratterizzazione della funzione di una proteina (siRNA, ShRNA CRISPR-Cas9).</li> <li>• Mutagenesi per la caratterizzazione di alterazione della funzione di proteine responsabili di patologie monogeniche.</li> </ul> <p><b>Analisi in vitro di risposte cellulari:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• videoimaging con sonde fluorescenti per l'analisi di secondi messaggeri;</li> <li>• analisi di interazioni proteina/proteina con FRET</li> <li>• analisi di trasporti ionici e fenomeni bioelettrici di membrana (patch-clamp)</li> <li>• sonde specifiche per organelli cellulare</li> <li>• Saggi di citotossicità e fenotipizzazione cellulare (crescita, apoptosi,</li> </ul>



	<p>motilità, invasione)</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Widefield and confocal live-cell microscopy per lo studio della comunicazione intercellulare e la dinamica di organelli in risposta a stimoli esterni.</li><li>• Analisi della migrazione cellulare mediante l'uso di sistemi micro-fluidici.</li><li>• Citofluorimetria per la quantizzazione di processi cellulari in risposta a stimoli esterni.</li></ul> <p><b>Obiettivi dell'ingegneria tissutale:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Imitare la fisiologia di un tessuto o di un organo</li><li>• Sostituire tessuti invecchiati o danneggiati da traumi/patologie,</li><li>• Applicazione nei test in vitro.</li><li>• Prodotti impiantabili e terapie extracorporee.</li></ul> <p><b>Scaffold per la produzione di organi e tessuti funzionali:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Caratteristiche dello scaffold: dimensioni e porosità</li><li>• Principali molecole utilizzate come scaffold: polimeri sintetici (PGA, PLA), biopolimeri (collagene, acido ialuronico, poliidrossialcanoato).</li><li>• Scaffolds per tessuti duri: Ceramiche, materiali compositi.</li><li>• Produzioni e purificazione di polimeri utilizzabili come matrici</li><li>• Tecniche di modellamento: foglietti, schiume, stampa 3D.</li></ul> <p><b>Cellule utilizzate in ingegneria tissutale:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• linee cellulari fenotipiche</li><li>• cellule adulte autologhe, allogene, xenogene</li><li>• cellule staminali embrionali, mesenchimali, Ips</li></ul> <p><b>Bioreattori applicati all'ingegneria tissutale:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• parametri fisiologici di crescita</li><li>• monitoraggio dei parametri vitali</li><li>• stimoli meccanici, fisici, chimici</li></ul> <p><b>Organoidi:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Modelli organoidi per lo studio del sistema nervoso centrale.</li></ul> <p>Organ-on chip e multi-Organ-on chip per lo studio della funzione degli epitelii e degli organi.</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• elementi e principi di soft-litografia</li><li>• funzionalizzazione delle superfici di crescita e biocompatibilità</li><li>• sensoristica integrata per misure di parametri fisiologici (pH, resistenza transepiteliale, impedenza)</li><li>• sistemi microfluidici</li><li>• epitelii e colture dinamiche con interfaccia aria liquido (epidermide, derma, bronchiale, alveolare, intestino, tubulo renale, cornea, gengiva...)</li><li>• applicazioni in studi di fisiologia e patologia</li></ul> <p><b>Protocolli per la fabbricazione e maturazione in vitro di tessuti</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• pelle (derma, epidermide): sostituti bioattivi funzionali nella terapia di ustioni estese e ulcera diabetica;</li><li>• vasi sanguigni: vasi sanguigni da cellule autologhe del paziente per shunt</li></ul>
--	---

	<p>arterovenosi da utilizzare in dialisi. Possibili utilizzi in bypass coronarici.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• pancreas microincapsulato: foglietti bioattivi con cellule allogeniche in configurazione stratificata alginato-polilisina-alginato per insulinoterapia</li> <li>• impianto di condrociti autologhi per la rigenerazione della cartilagine: protocollo ACI e impianto di scaffold di acido ialuronico esterificato colonizzato da cellule staminali mesenchimali autologhe</li> <li>• fegato bioartificiale: terapie extracorporee con cartucce di epatociti e circuito di detossificazione del plasma per il trattamento della insufficienza epatica cronica/acuta</li> <li>• valvole cardiache: approcci di rigenerazione/ripopolazione per la sostituzione di valvole atrioventricolari</li> <li>• vescica urinaria: vescica ingegnerizzata con scaffold biodegradabile e cellule autologhe del paziente nella risoluzione di patologie neurogeniche o oncologiche.</li> </ul> <p><b>Animali transgenici come modello per studi di fisiologia e patologia</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• generazione mediante il metodo delle cellule staminali embrionali</li> <li>• generazione mediante il gene editing (CRISPR-Cas9)</li> <li>• modelli costitutivi e condizionali (Cre-Lox) di patologie</li> </ul>
<b>Testi di riferimento</b>	<p>Biotecnologia Molecolare Autori: Glick e Pasternak, Zanichelli editore            Fondamenti Di Ingegneria Dei Tessuti Per La Medicina Rigenerativa, Autori mantero, Remuzzi, Raimondi, Ahluwalia, Pàtron Editor.</p>
<b>Note ai testi di riferimento</b>	<p>Lo studente potrà supportare lo studio mediante materiale didattico direttamente fornito dal docente (ppt, video, pubblicazioni scientifiche).</p>

<b>Organizzazione della didattica</b>			
<b>Ore</b>			
Totali	Didattica frontale	Pratica (laboratorio, campo, esercitazione, altro)	Studio individuale
<b>125</b>	<b>24</b>	<b>24</b>	<b>77</b>
<b>CFU/ETCS</b>			
<b>5</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	

<b>Metodi didattici</b>	<p>Lezioni effettuate con l'ausilio di proiezione di schemi e tabelle forniti al docente insieme al testo di riferimento e contenuti multimediali (video e pubblicazioni scientifiche di approfondimento). Verrà inoltre analizzato il materiale divulgativo multimediale fornito da Company italiane ed estere coinvolte nella progettazione, produzione e distribuzione di reagenti e tecnologie per l'ingegneria cellulare e tessuti ingegnerizzati.</p>

<b>Risultati di apprendimento previsti</b>	
<b>Conoscenza e capacità di comprensione</b>	<p>Capacità di disegnare in modo autonomo strategie mirate alla ingegnerizzazione di cellule, tessuti, organi e animali interi per studi funzionali.</p>
<b>Conoscenza e capacità di comprensione applicate</b>	<p>Ingegnerizzare cellule, tessuti e organi. Produrre modelli organoidi e di tessuti on-chip. Disegnare e applicare tecniche opportune per indagare la funzionalità cellulare e tissutale.</p>

<b>Competenze trasversali</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>Autonomia di giudizio</i> Capacità di valutare autonomamente ed esprimere la propria opinione sulle problematiche trattate</li> <li>• <i>Abilità comunicative</i> Capacità di esposizione logica degli argomenti trattati e utilizzo di un linguaggio scientifico appropriato</li> <li>• <i>Capacità di apprendere in modo autonomo</i> Capacità di analizzare testi e di approfondire problematiche attraverso bibliografia specifica</li> </ul>
-------------------------------	---

<b>Valutazione</b>	
Modalità di verifica dell'apprendimento	<i>Esame orale con particolare riferimento a casi reali di studio.</i>
Criteri di valutazione	<i>Lo studente sarà valutato principalmente sulla base delle conoscenze acquisite, sulla capacità critica di argomentazione e sulla autonomia di giudizio e progettazione.</i>
Criteri di misurazione dell'apprendimento e di attribuzione del voto finale	Il voto finale è attribuito in trentesimi. L'esame si intende superato quando il voto è maggiore o uguale a 18
<b>Altro</b>	