

CORSO DI STUDIO (*BIOTECNOLOGIE MEDICHE E MEDICINA MOLECOLARE LM-9*)

ANNO ACCADEMICO (*2023-2024*)

DENOMINAZIONE DELL'INSEGNAMENTO (*"Ingegneria Cellulare e Tissutale-5 CFU" integrato con "Cellule staminali e medicina rigenerativa-3 CFU"*)

Principali informazioni sull'insegnamento	
Anno di corso	<i>1 anno</i>
Periodo di erogazione	<i>Il semestre (01-03-2024/30-06-2024)</i>
Crediti formativi universitari (CFU/ETCS):	<i>5</i>
SSD	<i>FISIOLOGIA BIO/09</i>
Lingua di erogazione	<i>ITALIANO</i>
Modalità di frequenza	<i>CONSIGLIATA</i>

Docente	
Nome e cognome	<i>ANDREA GERBINO</i>
Indirizzo mail	<i>andrea.gerbino@uniba.it</i>
Telefono	<i>0805443334</i>
Sede	<i>Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Ambiente, IV piano</i>
Sede virtuale	<i>Codice teams per attività di tutoraggio y4dybn9</i>
Ricevimento	<i>Il docente riceve previo appuntamento fissato via e-mail.</i>

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

Obiettivi formativi	Il corso ha la finalità di fornire allo studente gli strumenti e le strategie avanzate necessarie alla valutazione degli approcci di ingegneria cellulare e delle opportune matrici extracellulari per l'ingegnerizzazione di tessuti biologici per la medicina rigenerativa e la ricerca biomedica.
Prerequisiti	Conoscenze di base di fisiologia cellulare e dei tessuti oggetto di studio nel corso. Principi di base di biologia cellulare e molecolare.

<p>Metodi didattici</p>	<p><i>Il corso è erogato attraverso lezioni frontali che si svolgono con l'ausilio di presentazioni Power Point e file audiovisivi mirati all'acquisizione di conoscenze inerenti alle tematiche del corso. La partecipazione degli studenti e l'incitamento all'interazione durante le lezioni è stimolata grazie all'utilizzo della lavagna che permetterà di puntualizzare i passaggi più critici. Sono previste attività pratiche di laboratorio in cui si applicheranno alcune metodiche e strategie sperimentali descritte nel corso, stimolando esperienze individuali e discussioni collettive.</i></p>
<p>Risultati di apprendimento previsti</p> <p>DD1 Conoscenza e capacità di comprensione</p> <p>DD2 Conoscenza e capacità di comprensione applicate</p> <p>DD3-5 Competenze trasversali</p>	<p><i>Acquisizione di conoscenze di base sugli approcci biotecnologici finalizzati alla:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> o <i>ingegnerizzazione di cellule al fine di produrre proteine di interesse biotecnologico;</i> o <i>ingegnerizzazione di cellule per ottenere tessuti umani utili per la sperimentazione in vitro;</i> o <i>ingegnerizzazione di cellule per ottenere tessuti umani utili nell'ambito della Medicina rigenerativa;</i> <p><i>- Lo studente deve essere in grado di:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> o <i>applicare le basi teoriche allo sviluppo di opportune strategie mirate alla ingegnerizzazione di diversi tipi cellulari;</i> o <i>applicare le basi teoriche allo sviluppo di opportune strategie mirate alla ingegnerizzazione di tessuti ed organismi interi.</i> <p>- Autonomia di giudizio <i>Al termine dell'insegnamento lo/la studente/studentessa dovrà essere in grado di: valutare in maniera autonoma e critica quale sia l'approccio più vantaggioso in termini di costi e risultati per ripristinare un difetto funzionale a livello cellulare e tissutale.</i></p> <p>- Abilità comunicative <i>Al termine dell'insegnamento lo/la studente/studentessa dovrà essere in grado di</i></p> <ul style="list-style-type: none"> o <i>discutere con patologi e clinici l'approccio biotecnologico più idoneo per produrre proteine e tessuti utilizzabili in ambito medico,</i> <p>- Capacità di apprendere in modo autonomo <i>Al termine dell'insegnamento lo/la studente/studentessa dovrà essere in grado di</i></p> <ul style="list-style-type: none"> o <i>sviluppare capacità di apprendimento ed approfondimento di altre competenze mediante consultazione di materiale bibliografico,</i> o <i>valutare criticamente gli obiettivi, i costi, le difficoltà tecniche e l'applicabilità della ingegneria cellulare in ambito medico.</i>

Contenuti di insegnamento (Programma)	<p>Parte I°</p> <p>INGEGNERIA CELLULARE: Definizioni di DNA ricombinante, Ingegneria genetica, Biotecnologie, Ingegneria cellulare. Applicazioni delle proteine ricombinanti. Espressione di proteine ricombinanti in cellule procariotiche ed eucariotiche. Plasmidi di espressione in sistemi procariotici ed eucariotici. Proteine di fusione: (MBP e GST). Strategie di produzione e purificazione da sistemi batterici. Sistemi di espressione basati sull'Epitopo FLAG e His-tagging e purificazione su colonna Ni- Nitroacetic Acid (NTA). Utilizzo di promotori regolabili batterici e fagici in biotecnologia. Proteine di interesse terapeutico prodotte in procarioti: Vantaggi e svantaggi Esempi: insulina umana ricombinante, ormone della crescita umano, Vaccino per l'epatite B in lievito, attivatore plasminogeno tissutale, interferone Beta-1a. Siti di clivaggio per la purificazione di proteine ricombinanti. Produzione di proteine ricombinanti in cellule di lievito. Produzione di proteine ricombinanti in cellule di insetto in coltura ed infezione con baculovirus. Produzione di proteine ricombinanti in cellule di mammifero.</p> <p>Sistemi di trasferimento genico: trasformazione, trasfezione, infezione Trasformazione batterica e metodi di selezione Trasferimento genico in cellule eucariotiche: infezione virale, trasfezione, microiniezione. Trasfezione di cellule in coltura: trasfezione transiente, trasfezione stabilizzata. Uso di geni "reporter" per monitorare l'efficienza di trasfezione. Principali tecniche di trasfezioni per cellule in coltura: DEAE-Destrano, precipitazione del DNA con fosfato di calcio, Elettroporazione, microiniezione, lipidi cationici. Metodi per l'analisi di espressione di proteine eterologhe (tecniche immunochimiche, GFP, RT-PCR). Principi di base della microscopia confocale per l'analisi dell'espressione di proteine eterologhe. Silenziamento genico:</p>

	<p><i>Definizione del meccanismo di RNA interference. Enzimi intracellulari coinvolti nel processo: DICER, complesso multiproteico RISC (RNA-Induced Silencing Complex).</i></p> <p><i>Lunghezza e scelta della posizione degli siRNA. Vettori di espressione per la produzione di siRNA: strategie, shRNA, vettori plasmidici e virali. Espressione in vitro ed in vivo. Disegno sperimentale dell'utilizzo</i></p> <p>Parte II° INGEGNERIA TISSUTALE E MEDICINA RIGENERATIVA</p> <p><i>Obiettivi dell'ingegneria tissutale: Invecchiamento tessuti, patologie, test in vitro. Terapie impiantabili ed extracorporee. Definizione di impalcature (scaffold). Caratteristiche dello scaffold. Principali molecole utilizzate come scaffold: polimeri sintetici, biopolimeri (collagene, acido ialuronico, poliidrossialcanoato). Scaffolds per tessuti duri: Ceramiche, materiali compositi. L'utilizzo delle cellule staminali in ingegneria tissutale e medicina rigenerativa.</i></p> <p>Pelle Ingegnerizzata: <i>Alcuni esempi di pelle ingegnerizzata: Dermagraft: fibroblasti umani su scaffold biodegradabile di acido polilattico. Integra: Dermal regeneration template. Apligraf: epidermide pluristratificata (derma, epidermide, strato corneo). OrCel: fibroblasti e cheratinociti umani con una matrice di collagene bovino. Controlli di sicurezza, vantaggio della cocultura fibroblasti/cheratinociti. Limiti della pelle ingegnerizzata.</i></p> <p>Cartilagine ingegnerizzata: <i>Danni alla cartilagine e terapie convenzionali. Esempi di cartilagine ingegnerizzata: Impianto di condrociti autologhi senza scaffold. Tecniche per la rigenerazione della cartilagine articolare.</i></p> <p>Tessuto osseo: <i>Danni all'osso e terapie convenzionali. Scaffolds utilizzati per osso ingegnerizzato.</i></p> <p>Vasi sanguigni, struttura e funzione: <i>Requisiti dei vasi sanguigni ingegnerizzati. Esempi di vasi sanguigni ingegnerizzati: Electrospun collagen, scaffold biodegradabile, vasi ingegnerizzati con componente cellulare (fibroblasti e cellule endoteliali) autologa per shunt artero-venosi in emodialisi.</i></p> <p>Pancreas ingegnerizzato: <i>Terapie correnti. Parametri per la progettazione di pancreas ingegnerizzato Esempio: pancreas microincapsulato in foglietti. Epiteli ingegnerizzati per prove tossicologiche in vitro: Colture tissutali organotipiche. Test di tossicità su colture cellulari umane.</i></p> <p>Fegato bioartificiale: <i>Dispositivi di fegato Bio-artificiale. Principi di funzionamento ed esempi.</i></p> <p>Valvole cardiache ingegnerizzate: <i>Valvole meccaniche e valvole tissutali: vantaggi e svantaggi Valvole cardiache tissutali: approcci di progettazione (rigenerazione/ripopolazione).</i></p> <p>Vescica urinaria ingegnerizzata: <i>Patologie che compromettono la funzionalità della vescica. Vescica urinaria ingegnerizzata: protocolli e trials.</i></p> <p>LABORATORI:</p> <p><i>Trasformazione ed estrazione di DNA plasmidico da cellule batteriche; Mantenimento di colture cellulari stabilizzate e metodiche di trasfezione per cellule eucariotiche: lipidi cationici ed elettroporazione; Analisi in video-imaging delle vie di trasduzione intracellulari: uso di sonde codificate geneticamente per il Ca²⁺ e l'AMP; Studio delle proteine di membrana mediante Biotinilazione; Immunofluorescenza e tecniche di microscopia confocale.</i></p>
<p>Testi di riferimento</p>	<p>Biotecnologia Molecolare Autori: Glick e Pasternak, Zanichelli editore Fondamenti Di Ingegneria Dei Tessuti Per La Medicina Rigenerativa, Autori mantero, Remuzzi, Raimondi, Ahluwalia, Pàtron Editore</p>
<p>Note ai testi di riferimento</p>	<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 reagenti e tecnologie</p>

	per l'ingegneria cellulare e tessuti ingegnerizzati.
Materiali didattici	I materiali didattici saranno caricati nel canale Teams e saranno accessibili agli studenti tramite codice di accesso fornito all'inizio del corso
Valutazione	
Modalità di verifica dell'apprendimento	<p>Esame orale focalizzato sui contenuti delle lezioni frontali e delle esperienze di laboratorio. Attraverso il colloquio orale previsto ci si aspetta che lo studente sia in grado di discutere criticamente, con metodo scientifico e con linguaggio tecnico:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Il tipo di microorganismo più idoneo per produrre proteine di interesse biotecnologico - L'approccio più vantaggioso, sicuro e rapido per produrre tali proteine - Le difficoltà tecniche prevedibili e l'approccio per aggirarle - I protocolli tecnici e le strategie di marketing utilizzate da company Biotech impegnate nella produzione di tessuti ingegnerizzati. - La valutazione critica dei limiti di alcuni tessuti ingegnerizzati presenti sul mercato e gli obiettivi della ricerca futura per superarli.

Criteria di valutazione	<ul style="list-style-type: none">• Conoscenza e capacità di comprensione: strategie e metodi utilizzati in ingegneria cellulare e tissutale.• Conoscenza e capacità di comprensione applicate: applicazione delle tematiche trattate nel corso alle principali problematiche biotecnologiche.• Autonomia di giudizio: si valuterà la capacità critica dello studente sia durante l'esame che durante il corso.• Abilità comunicative: qualità della discussione in sede di esame orale (applicazione di terminologia appropriata, fluidità e chiarezza dell'esposizione).• Capacità di apprendere: sarà valutata la capacità di spaziare tra i vari contenuti esposti e di collegare in modo interdisciplinare gli argomenti.
Criteria di misurazione dell'apprendimento e di attribuzione del voto finale	<p>Il voto finale è attribuito in trentesimi. L'esame si intende superato quando il voto è maggiore o uguale a 18. Per poter ottenere una elevata valutazione lo studente dovrà mostrare di aver approfondito le tematiche trattate a lezione, di aver sviluppato autonomia di giudizio e capacità di legare tra loro gli argomenti appresi durante il corso, nonché una adeguata capacità di argomentazione ed esposizione.</p>

Altro	
	.

FAC.SIMILE SCHEDA DI INSEGNAMENTO IN LINGUA INGLESE
COURSE OF STUDY MEDICAL BIOTECHNOLOGIES AND MOLECULAR MEDICINE LM-9
ACADEMIC YEAR 2023/2024
ACADEMIC SUBJECT Cell and tissue engineering

General information	
Year of the course	I year
Academic calendar (starting and ending date)	II semester (01-03-2024/30-06-2024)
Credits (CFU/ETCS):	5
SSD	BIO/09
Language	Italian
Mode of attendance	Recommended

Professor/ Lecturer	
Name and Surname	Andrea Gerbino
E-mail	andrea.gerbino@uniba.it
Telephone	0805443334
Department and address	Department of Biosciences Biotechnology and Environment, 4 th floor, room 36
Virtual room	TEAMS y4dybn9
Office Hours (and modalities: e.g., by appointment, on line, etc.)	Every working day (appointment by email, phone call, or chat on Teams)

Work schedule			
Hours			
Total	Lectures	Hands-on (laboratory, workshops, working groups, seminars, field trips)	Out-of-class study hours/ Self-study hours
125	24	24	77
CFU/ETCS			
5	3	2	

Learning Objectives	The course aims to provide students with advanced tools and strategies necessary for the evaluation of cell engineering approaches and of the use of appropriate extracellular scaffolds for the engineering of biological tissues for regenerative medicine and biomedical research.
Course prerequisites	Basic knowledge of cellular and tissues physiology. Basic principles of cellular and molecular biology.

Teaching strategie	The course is delivered through in person lectures supported by Power Point presentations and audiovisual files aimed at acquiring knowledge related to the topics of the course. Student are encouraged to actively participate during the lectures through an interactive and direct dialogue and, if necessary, the use of diagrams on the whiteboard, which allows for highlighting the most critical steps. Practical laboratory activities are planned, where students will apply some experimental methods and strategies described in the course, fostering individual experiences and collective discussions.
Expected learning outcomes in terms of	

<p>Knowledge and understanding on:</p>	<p>Upon completion of the theoretical and laboratory activities, the student will be expected to have knowledge of the following: engineering of cells to produce proteins of biotechnological interest. engineering of cells to recapitulate human tissues useful for in vitro experimentation. engineering of cells to obtain human tissues useful in the field of regenerative medicine.</p>
<p>Applying knowledge and understanding on:</p>	<p>The student must be able to: apply the theoretical bases to the development of appropriate strategies aimed at the engineering of different cell types. apply the theoretical bases to the development of appropriate strategies aimed at the engineering of tissues and whole organisms.</p>
<p>Soft skills</p>	<p><i>Making informed judgments and choices</i> Upon completion of the course, the student will be able to: - • autonomously and critically evaluate the most advantageous approach in terms of costs and deliverables to restore a functional defect at a cellular and tissue level.</p> <p>- • Communicating knowledge and understanding At the end of the course the student will be able to discuss with pathologists and clinicians the most suitable biotechnological approach to produce proteins and tissues that can be used in the medical field.</p> <p>- • Capacities to continue learning Upon completion of the course, the student will be able to: develop learning skills by consulting bibliographic material, critically evaluate goals, costs, technical difficulties and applicability of cell engineering in the medical field.</p>

Syllabus	
Content knowledge	<p>Part I</p> <p>CELL ENGINEERING: Definitions of recombinant DNA, genetic engineering, biotechnology, cell engineering. Applications of recombinant proteins. Expression of recombinant proteins in prokaryotic and eukaryotic cells. Expression plasmids in prokaryotic and eukaryotic systems. Fusion proteins: (MBP and GST). Production and purification strategies from bacterial systems. Expression systems based on the FLAG Epitope and His-tagging and purification on a Ni-Nitroacetic Acid (NTA) column. Use of bacterial and phage tunable promoters in biotechnology. Proteins of therapeutic interest produced in prokaryotes: Advantages and disadvantages Examples: recombinant human insulin, human growth hormone, yeast hepatitis B vaccine, tissue plasminogen activator, interferon Beta-1a. Cleavage sites for the purification of recombinant proteins. Production of recombinant proteins in yeast cells. Production of recombinant proteins in cultured insect cells and infection with baculovirus. Production of recombinant proteins in mammalian cells.</p> <p>Gene transfer systems: transformation, transfection, infection Bacterial transformation and selection methods Gene transfer in eukaryotic cells: viral infection, transfection, microinjection. Transfection of cultured cells: transient transfection, stabilized transfection. Use of reporter genes to monitor transfection efficiency. Main transfection techniques for cultured cells: DEAE-Dextran, precipitation of DNA with calcium phosphate, electroporation, microinjection, cationic lipids. Methods for the expression analysis of heterologous proteins (immunochemical techniques, GFP, RT-PCR). Basic principles of confocal microscopy for the analysis of heterologous protein expression. Gene silencing: Definition of the mechanism of RNA interference. Intracellular enzymes involved in the process: DICER, RISC (RNA-Induced Silencing Complex) multi-protein tablet. Length and choice of location of siRNAs. Expression vectors for siRNA production: strategies, shRNA, plasmid and viral vectors. In vitro and in vivo expression. Experimental design of use</p> <p>Part II</p> <p>TISSUE ENGINEERING AND REGENERATIVE MEDICINE Objectives of tissue engineering: Tissue aging, pathologies, in vitro tests. Implantable and extracorporeal therapies. Definition of scaffolding (scaffold). Scaffold characteristics. Main molecules used as scaffolds: synthetic polymers, biopolymers (collagen, hyaluronic acid, polyhydroxyalkanoate). Scaffolds for hard tissue: Ceramics, composite materials. The use of stem cells in tissue engineering and regenerative medicine. Engineered Skin: Some examples of engineered skin: Dermagraft: human fibroblasts on biodegradable polylactic acid scaffold. Integra: Dermal regeneration template. Apligraf: multilayered epidermis (dermis, epidermis, stratum corneum). OrCel: human fibroblasts and keratinocytes with a bovine</p>

	<p>collagen matrix. Safety controls, advantage of fibroblast/keratinocytes coculture. Limits of engineered leather.</p> <p>Engineered Cartilage: Cartilage damage and conventional therapies. Examples of engineered cartilage: Autologous chondrocyte implant without scaffold. Techniques for the regeneration of articular cartilage.</p> <p>Bone tissue: Bone damage and conventional therapies. Scaffolds used for engineered bone.</p> <p>Blood vessels, structure and function: Requirements of engineered blood vessels. Examples of engineered blood vessels: Electrospun collagen, biodegradable scaffold, engineered vessels with autologous cellular component (fibroblasts and endothelial cells) for arteriovenous shunts in hemodialysis.</p> <p>Engineered Pancreas: Current Therapies. Parameters for engineered pancreas design Example: Microencapsulated pancreas in leaflets.</p> <p>Epithelia engineered for in vitro toxicological testing: Organotypic tissue cultures. Toxicity test on human cell cultures.</p> <p>Bioartificial Liver: Bio-artificial liver devices. Operating principles and examples.</p> <p>Engineered Heart Valves: Mechanical Valves and Tissue Valves: Advantages and Disadvantages Tissue Heart Valves: Design Approaches (Regeneration/Repopulation).</p> <p>Engineered urinary bladder: Pathologies that compromise bladder function. Engineered urinary bladder: protocols and trials.</p> <p>Laboratories:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Transformation and extraction of plasmid DNA from bacterial cells; • Maintenance of stabilized cell cultures and transfection methods for eukaryotic cells: cationic lipids and electroporation; • Video-imaging analysis of intracellular transduction pathways: use of genetically encoded probes for Ca²⁺ and cAMP; • Study of membrane proteins by Biotinylation; • Immunofluorescence and confocal microscopy techniques.
Texts and readings	<p>Biotechnologia Molecolare Authors: Glick e Pasternak, Zanichelli editore</p> <p>Fondamenti Di Ingegneria Dei Tessuti Per La Medicina Rigenerativa, Authors Mantero, Remuzzi, Raimondi, Ahluwalia, Pàtron Editore</p>
Notes, additional materials	<p>All the material used to deliver the lectures during the course will be made available to students. Students will have access to numerous bibliographic references included in the PowerPoint files to further explore the topics discussed during the lectures</p>
Repository	<p>The teaching materials will be uploaded to the Teams room and will be accessible to students using an access code provided at the beginning of the course.</p>

Assessment	
Assessment methods	<p>Oral exam focused on the contents of the course and laboratory experiences. During the oral exam the student is expected to be able to discuss critically, using scientific method and with a technical language:</p> <ul style="list-style-type: none"> - The most suitable type of microorganism to produce proteins of biotechnological interest - The most convenient, safe, and rapid approach to produce such proteins - The foreseeable technical difficulties and the approach to circumvent them - The technical protocols and marketing strategies used by Biotech Companies engaged in the production of engineered tissues. - Critical assessment of the limitations of some engineered tissues on the market and future research approaches to overcome such limitations.

Assessment criteria	<ul style="list-style-type: none"> • Knowledge and understanding: understanding strategies and methods used in cell and tissue engineering. • Applied knowledge and understanding: application of the topics covered in the course to major biotechnological issues. • Autonomy of judgment: assessment of the student's critical thinking skills both during the exam and throughout the course. • Communication skills: quality of the discussion during the oral exam (use of appropriate terminology, fluency and clarity of presentation), and the quality of any accompanying PowerPoint presentation (if applicable). • Ability to learn: evaluation of the student's ability to navigate through various course contents and to make interdisciplinary connections among the topics.
Final exam and grading criteria	<p>The final grade is assigned on a scale of thirty. The exam is considered passed when the grade is equal to or greater than 18. In order to achieve a high evaluation, the student should demonstrate the development of autonomy of judgment and the ability to connect the topics learned during the course. Additionally, adequate skills in argumentation and presentation are expected</p>
Further information	