

CORSO DI STUDIO Biotecnologie Mediche e Medicina Molecolare (LM-9)

ANNO ACCADEMICO: 2023-2024

DENOMINAZIONE DELL'INSEGNAMENTO Microfertilizzazione Assistita e Preservazione della Fertilità

Principali informazioni sull'insegnamento	
Anno di corso	II Anno
Periodo di erogazione	Primo Semestre (Ottobre 2023- Gennaio 2024)
Crediti formativi universitari (CFU/ETCS):	6
SSD	VET/10
Lingua di erogazione	ITALIANO
Modalità di frequenza	Facoltativa, consigliata dal docente

Docente	
Nome e cognome	NICOLA ANTONIO MARTINO
Indirizzo mail	nicola.martino@uniba.it
Telefono	3383011661
Sede	Università degli Studi di Bari Aldo Moro Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica Polo di Valenzano, Str. Casamassima Km3 70010 Valenzano
Sede virtuale	Piattaforma TEAMS - 14pggm9
Ricevimento	Ricevimento in presenza al LaBobitech oppure online via piattaforma TEAMS previa richiesta degli studenti via mail

Organizzazione della didattica			
Ore			
Totali	Didattica frontale	Pratica (laboratorio, campo, esercitazione, altro)	Studio individuale
150	24	36	90
CFU/ETCS			
6	3	3	

Obiettivi formativi	<p>Obiettivi formativi sintetici: l'insegnamento ha l'obiettivo di offrire una formazione teorico-pratica sulle principali tecniche di microfertilizzazione assistita e di crioconservazione utilizzando gameti ed embrioni di modelli animali oltre ad offrire una panoramica delle applicazioni delle tecniche omiche nella valutazione di qualità anche in modalità non invasiva, di gameti ed embrioni animali ed umani.</p> <p>Obiettivi formativi: Il corso ha i seguenti obiettivi formativi:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) formare la figura professionale dell'embriologo illustrando le principali e più innovative tecnologie inerenti le biotecnologie della riproduzione umana ed animale applicabili nel campo della procreazione assistita. 2) conferire la capacità di allestire e gestire autonomamente colture in vitro di gameti ed embrioni. Condurre procedure micromanipolative avanzate di gameti ed embrioni animali. 3) promuovere l'attitudine alla lettura e interpretazione di testi e articoli di letteratura scientifica internazionale del settore per poterlo avvicinare alle più importanti realtà internazionali della ricerca e della pratica clinica nell'ambito delle biotecnologie riproduttive in una dimensione interculturale comparativa e metodologicamente proficua; 4) sollecitare la propensione ad analizzare dati sperimentali mediante uso di appropriate analisi statistiche; 5) consolidare le competenze espressive nell'ambito della disciplina sia in lingua italiana che inglese; a tal fine verranno dedicate alcune ore di attività all'analisi di articoli scientifici in lingua inglese sugli argomenti del corso.
----------------------------	--

Prerequisiti	<p>E' auspicabile benchè non obbligatorio che lo studente possieda conoscenze di base sui seguenti argomenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> - anatomia e istologia dell'apparato riproduttivo; - follicologenesi, ovogenesi, spermatogenesi e regolazione ormonale; - mitosi e meiosi; - principali meccanismi di signalling intracellulare elicitati da ormoni proteici e steroidei; - maturazione in vitro (IVM) dell'ovocita; - capacitazione del seme e valutazione della qualità spermatica.
Metodi didattici	<p>Lezioni frontali con supporto PPT Lezioni frontali con proiezione filmati e commenti Esercitazioni in laboratorio a posto singolo Esercitazioni di laboratorio virtuali con PPT e video commentati</p>
<p>Risultati di apprendimentoDD1 Conoscenza e capacità di comprensione</p> <p>DD2 Conoscenza e capacità di comprensione applicate</p> <p>DD3-5 Competenze trasversali</p>	<p>Il corso si propone di raggiungere i seguenti risultati:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) far comprendere allo studente le principali e le più innovative tecnologie inerenti le biotecnologie della riproduzione umana ed animale applicabili nel campo della procreazione assistita; 2) conferire allo studente la capacità di allestire e gestire autonomamente colture in vitro di gameti ed embrioni. Condurre procedure micromanipolative avanzate di gameti ed embrioni animali; 3) promuovere nello studente l'attitudine alla lettura e interpretazione di testi e articoli di letteratura scientifica internazionale del settore per poterlo avvicinare alle più importanti realtà internazionali della ricerca e della pratica clinica nell'ambito delle biotecnologie riproduttive in una dimensione interculturale comparativa e metodologicamente proficua; 4) sollecitare nello studente la propensione ad analizzare i propri dati sperimentali, avvicinandolo all'uso di appropriate analisi statistiche; 5) consolidare le competenze espressive dello studente nell'ambito della disciplina sia in lingua italiana che inglese. <p>1)Conoscenza delle tecnologie di microfertilizzazione assistita, delle strategie di preservazione della fertilità maschile e femminile, dei sistemi high throughput per la valutazione qualitativa di gameti ed embrioni, dei sistemi colturali innovativi (organoidi e Lab-on-chip) applicabili in riproduzione, delle strategie emergenti di gametogenesi in vitro da cellule staminali, della produzione di animali transgenici/clonati come modello di patologie umane.</p> <p>2) Conoscenza delle metodiche atte ad applicare in vitro le tecnologie sopracitate mediante l'utilizzo di gameti ed embrioni di modelli animali</p> <p>Autonomia di giudizio</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Capacità di valutare, seguendo le linee guida delle società scientifiche internazionali indicate dal docente, la condizione normale o patologica delle cellule riproduttive (ovocita, spermatozoo o embrione) seguendo criteri e parametri morfologici e/o funzionali; 2) Capacità di valutazione dei campioni con metodiche differenti ed integrate, anche non-invasive e in grado di preservare la vitalità del campione; <p>Abilità comunicative</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Abilità ad esporre i contenuti del corso utilizzando terminologia appropriata anche in inglese e collegando i concetti in un percorso completo che, partendo dalle finalità, giunga a descrivere i metodi e i relativi parametri e indici di valutazione; <p>Capacità di apprendere in modo autonomo</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) Capacità di apprendere i contenuti del corso sulla base dell'attenzione dimostrata alle lezioni ed esercitazioni e dell'abilità di studio da testi in italiano e in inglese indicati dal docente.

<p>Contenuti di insegnamento (Programma)</p>	<p>Parte I (Lezioni frontali)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tecniche di microfertilizzazione assistita Evoluzione delle tecnologie di microfertilizzazione assistita. Iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo (ICSI), Piezo assisted- e Laser assisted-ICSI. Iniezione intracitoplasmatica di spermatozoi morfologicamente selezionati (IMSI). Birifrangenza. Microscopia a luce polarizzata (Polscope). Tecnologie avanzate di microiniezione con cellule progenitrici degli spermatozoi: round spermatid injection (ROSI) ed elongated spermatid injection (ELSI). • High Throughput Screening in riproduzione Imaging morfologico e bioenergetico dell'ovocita: Bright field; Epi-fluorescence; 3D imaging (confocal laser scanning microscopy and high content screening microscopy). Imaging metabolico: microspettroscopia Raman. Imaging morfocinetico: time-lapse monitoring. Tecnologie OMICs (transcriptomics, miRNomics, proteomics, metabolomics) per la valutazione di qualità di ovociti ed embrioni. • Organoidi e Lab-on-chip in riproduzione Sistemi colturali 3D in vitro; bioprinting per gameti ed embrioni. Applicazioni micro e millifluidiche per gameti ed embrioni. Biosensori/microbiosensori per gameti ed embrioni. • Preservazione della fertilità Prelievo, criopreservazione e trapianto di tessuto ovarico/testicolare. Coltura in vitro del follicolo preantrale. Criopreservazione dell'ovocita: applicazioni nel social freezing e freezing endometriosi/esaurimento riserva ovarica. Oocyte ageing, heteroplasmy, mt transfer. Freeze-dried spermatozoa. Applicazioni in oncofertilità. • Preimplantation genetic testing (PGT) Metodologie di prelievo di globuli polari e/o blastomeri di embrioni in diverse fasi dello sviluppo; Non-Invasive PGT (analisi del DNA da terreni di coltura). Dalla citogenetica alla citogenomica: PGT-A (aneuploidy) e PGT-SR (structural rearrangements). Diagnosi delle patologie da alterazioni monogeniche PGT-M. • Cellule staminali e gametogenesi in vitro Cellule staminali embrionali. Cellule staminali da annessi fetali. Gametogenesi in vitro • Produzione di animali transgenici/clonati modelli di patologie umane Dall'embryo splitting al Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT). Dalla microiniezione pronucleare a CRISPR/Cas 9. Clonazione terapeutica. • Tossicologia della riproduzione Effetti di metalli pesanti, micotossine, ftalati e micro/nanoplastiche sullo sviluppo e funzionalità di gameti ed embrioni in modelli animali e nella specie umana. <p>Parte II (Esercitazioni di laboratorio):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Iniezione intracitoplasmatica dello spermatozoo Setting up micromanipolatore e preparazione delle piastre. Montaggio delle micropipette (injection and holding). Prelievo, selezione e IVM di ovociti animali. Analisi e preparazione del liquido seminale per la selezione dello spermatozoo. Selezione di ovociti maturi. Posizionamento dell'ovocita e penetrazione del citoplasma. ICSI convenzionale. Piezo-assisted ICSI. Laser-assisted ICSI. • Oocyte/embryo vitrification Preparazione delle soluzioni di vitrificazione\scongelamento. Procedura di vitrificazione e rapid thawing. Valutazione di qualità pre\post vitrificazione. • Biopsia ovocitaria ed embrionale Selezione delle micropipette. Biopsia di un globulo polare/blastomero/blastocisti. Recupero del frammento bioptico. Hatching assistito
<p>Testi di riferimento</p>	<p>Parti dai seguenti testi:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Talevi R & Gualtieri R (2019) Biologia e Tecnologie della Riproduzione Umana. Piccin (Padova). - Lucia Rocco (2021) Biologia e Tecniche della Riproduzione, Edi Ermes.

	- Elder K and Dale B (2020) In Vitro Fertilization, 4th Ed Cambridge. - Articoli da riviste scientifiche del settore consigliati e consegnati a cura del docente.
Note ai testi di riferimento	Tutte le informazioni riguardanti i testi e gli articoli scientifici inclusi nel programma sono reperibili attraverso il docente o in rete.
Materiali didattici	Disponibile su classe Teams

Valutazione	
Modalità di verifica dell'apprendimento	Esame orale

Criteri di valutazione	<p>Al termine del corso ci si aspetta che lo studente abbia acquisito:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Conoscenza e capacità di comprensione: Conoscenze e capacità di comprensione delle tecnologie inerenti le biotecnologie della riproduzione umana ed animale applicabili nel campo della procreazione assistita • Conoscenza e capacità di comprensione applicate: Conoscenze e capacità di comprensione applicate allo studio delle biotecnologie riproduttive e relative applicazioni cliniche finalizzate alla risoluzione di problemi di infertilità; • Autonomia di giudizio: Capacità di analizzare in modo autonomo dati sperimentali e dati riportati nella letteratura internazionale del settore <p>Abilità comunicative: Capacità di esporre con chiarezza e appropriatezza di linguaggio i contenuti del corso, anche con quesiti e osservazioni, sia durante il corso che durante lo svolgimento della prova di verifica finale;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Capacità di apprendere: Capacità di acquisire concetti, di effettuare aggiornamento continuo e di risolvere problematiche riproduttive che si pongono all'attenzione della figura professionale del biotecnologo della riproduzione.
Criteri di misurazione dell'apprendimento e di attribuzione del voto finale	<p>Da un punto di vista quantitativo ci si aspetta che lo studente abbia acquisito:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) capacità di descrivere: le diverse tecnologie di microfertilizzazione assistita esistenti ed il loro utilizzo per il superamento di specifiche forme di infertilità; le strategie di preservazione della fertilità maschile e femminile; i sistemi high throughput per la valutazione qualitativa di gameti ed embrioni, dei sistemi colturali innovativi (organoidi e Lab-on-chip) applicabili in riproduzione; le strategie emergenti di gametogenesi in vitro da cellule staminali; della produzione di animali transgenici/clonati come modello di patologie umane. 2) abilità alla lettura e interpretazione di testi e articoli di letteratura scientifica internazionale del settore al fine di avvicinare alle più importanti realtà internazionali di ambito riproduttivo; 3) capacità di analizzare dati sperimentali mediante l'uso di appropriate analisi statistiche; 4) competenze espressive sia in lingua italiana che inglese; 5) conoscenze sulla cronologia ed evoluzione delle metodologie presentate, sia in umana che in modelli animali, fino a giungere ai metodi attuali con relativi limiti e

	<p>prospettive di evoluzione e miglioramento.</p> <p>La quantificazione avviene sulla base della rilevazione delle conoscenze degli eventi biologici alla base del processo riproduttivo nel maschio e nella femmina, del numero e complessità di tecnologie descritte, delle loro interazioni, delle loro specifiche applicazioni cliniche, dei loro limiti e possibilità di implementazione.</p>
Altro	<p>Gli studenti possono contattare la docente scrivendo all'indirizzo: nicola.martino@uniba.it</p>

COURSE OF STUDY: Medical Biotechnologies and Molecular Biology (LM-9)

ACADEMIC YEAR: 2023/2024

ACADEMIC SUBJECT: Assisted Microfertilization and Fertility Preservation

General information	
Year of the course	2023/2024
Academic calendar (starting and ending date)	II year, I semester (October 2023- January 2024)
Credits (CFU/ETCS):	6
SSD	VET/10
Language	Italian with slides in English
Mode of attendance	optional, recommended by the teacher

Professor/ Lecturer	
Name and Surname	NICOLA ANTONIO MARTINO
E-mail	nicola.martino@uniba.it
Telephone	3383011661
Department and address	University of Bari Aldo Moro Department of Biosciences, Biotechnologies and Biopharmaceutics Polo di Valenzano, Str. Casamassima Km3 70010 Valenzano
Virtual room	TEAMS platform - 14pggm9
Office Hours (and modalities: e.g., by appointment, on line, etc.)	Reception in presence at Labobiotech or online via the TEAMS platform upon request by students via email

Work schedule			
Hours			
Total	Lectures	Hands-on (laboratory, workshops, working groups, seminars, field trips)	Out-of-class study hours/ Self-study hours
150	24	36	90
CFU/ETCS			
6	3	3	

Learning Objectives	<p>Synthetic training objectives: the course aims to provide theoretical and practical training in the main techniques of assisted microfertilization and cryopreservation using gametes and embryos from animal models as well as to offer an overview of the applications of omics techniques in the quality assessment, including noninvasive methods, of animal and human gametes and embryos.</p> <p>Learning Objectives: The course has the following educational objectives:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) to train the professional figure of the embryologist, by illustrating the main and most innovative technologies inherent to the biotechnologies of human and animal reproduction applicable in the field of assisted reproduction. 2) confer the ability to autonomously set up and manage in vitro cultures of gametes and embryos. Conducting advanced micromanipulative procedures of gametes and animal embryos. 3) to promote the aptitude for reading and interpreting texts and articles of international scientific literature in the sector in order to bring it closer to the most important international research and clinical practice in the field of reproductive biotechnology in a comparative and methodologically profitable intercultural dimension; 4) to confer the ability to analyse experimental data through the use of appropriate statistical analyses; 5) to consolidate expressive skills within the discipline in both Italian and English; to this end, a few hours of activity will be dedicated to the analysis of scientific articles in English on the topics of the course.
Course prerequisites	Although it is not mandatory, it is desirable to possess basic knowledge on following topics: - anatomy and histology of the reproductive system in the human species;

	<ul style="list-style-type: none"> - folliculogenesis, oogenesis, spermatogenesis and hormonal regulation; - mitosis and meiosis in human; - main intracellular signaling mechanisms elicited by protein and steroid hormones. - in vitro maturation (IVM) of the oocyte; - semen capacitation and sperm quality assessment.
Teaching strategie	<ul style="list-style-type: none"> - Frontal lessons with PPT support - Frontal lessons with video projection and comments - Single seat laboratory exercises - Virtual laboratory activities with PPT and commented videos
Expected learning outcomes in terms of	
Knowledge and understanding on:	<p>The course aims to achieve the following results of knowledge and understanding:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) make the student understand the main and most innovative technologies inherent the biotechnologies of human and animal reproduction applicable in the field of assisted procreation; 2) to give the student the ability to autonomously set up and manage in vitro cultures of gametes and embryos. Conducting advanced micromanipulative procedures of gametes and animal embryos; 3) to promote in the student the aptitude for reading and interpreting texts and articles of international scientific literature in the sector in order to bring him closer to the most important international realities of research and clinical practice in the field of reproductive biotechnologies in a comparative and methodologically profitable intercultural dimension ; 4) to solicit in the student the propensity to analyze his own experimental data, bringing him closer to the use of appropriate statistical analyzes; 5) to consolidate the student's expressive skills within the discipline in both Italian and English.
Applying knowledge and understanding on:	<ol style="list-style-type: none"> 1) Knowledge of assisted microfertilization technologies, strategies for the preservation of male and female fertility, high throughput systems for the qualitative evaluation of gametes and embryos, innovative cultural systems (organoids and Lab-on-chip) applicable in reproduction, emerging strategies on in vitro gametogenesis from stem cells, of the production of transgenic/cloned animals as model of human pathologies. 2) Knowledge of the methods for applying the aforementioned technologies in vitro through the use of gametes and embryos of animal models.
Soft skills	<ul style="list-style-type: none"> • Making informed judgments and choices - Ability to evaluate, by following the guidelines of the international scientific societies indicated by the professor, the normal or pathological condition of reproductive cells (oocyte, sperm or embryo) by means of morphological and/or functional parameters; - Ability to evaluate samples with different and integrated methods, even non-invasive and able to preserve sample viability; • Communicating knowledge and understanding - Ability to present the contents of the course using appropriate terminology also in English and linking the concepts in a complete path that, starting from the aims, comes to describe the methods and related parameters and evaluation indices • Capacities to continue learning - Ability to learn the contents of the course based on the attention shown to the lessons and exercises and the ability to study from texts in Italian and English indicated by the professor.

Syllabus	
Content knowledge	<p>Part I (Lectures)</p> <ul style="list-style-type: none"> • Assisted microfertilization techniques Evolution of assisted microfertilization technologies. Intracytoplasmic sperm injection (ICSI), piezo-assisted and laser-assisted ICSI. Intracytoplasmic injection of morphologically selected spermatozoa (IMSI). Birefringence. Polarized light microscopy (Polscope). Advanced microinjection technologies with sperm progenitor cells: round spermatid injection (ROSI) and elongated spermatid injection (ELSI). • High Throughput Screening in reproduction Morphological and bioenergetic imaging of the oocyte: Bright field; Epi-fluorescence; 3D imaging (confocal laser scanning microscopy and high content screening microscopy). Metabolic imaging: Raman microspectroscopy. Morphokinetic imaging: time-lapse monitoring. OMICs technologies (transcriptomics, miRNomics, proteomics, metabolomics) for the quality assessment of oocytes and embryos. • Organoids and Lab-on-chip in reproduction 3D in vitro culture systems; bioprinting for gametes and embryos. Micro and millifluidic applications for gametes and embryos. Biosensors / microbiosensors for gametes and embryos. • Fertility preservation Collection, cryopreservation and transplantation of ovarian / testicular tissue. In vitro culture of the preantral follicle. Cryopreservation of the oocyte: applications in social freezing and freezing endometriosis / ovarian reserve depletion. Oocyte aging, heteroplasmy, mt transfer. Freeze-dried spermatozoa. Applications in oncofertility. • Preimplantation genetic testing (PGT) Methods for polar bodies and/or blastomeres from embryos at different stages of development; Non-Invasive PGT (DNA analysis from culture media). From cytogenetics to cytogenomics: PGT-A (aneuploidy) and PGT-SR (structural rearrangements). Diagnosis of pathologies from PGT-M monogenic alteration • Stem cells and in vitro gametogenesis Embryonic stem cells. Stem cells from fetal adnexa. In vitro gametogenesis. • Production of transgenic/cloned animal models of human diseases From embryo splitting to Somatic Cell Nuclear Transfer (SCNT). From pronuclear microinjection to CRISPR / Cas 9. Therapeutic cloning. • Reproductive toxicology Effects of heavy metals, mycotoxins, phthalates and micro / nanoplastics on the development and functionality of gametes and embryos in animal models and in the human species. <p>Part II (Laboratory activities):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Intracytoplasmic sperm injection Setting up micromanipulator and preparation of the plates. Assembly of micropipettes (injection and holding). Collection, selection and IVM of animal oocytes. Semen analysis and preparation for sperm selection. Selection of mature oocytes. Positioning of the oocyte and penetration of the cytoplasm. Conventional ICSI. Piezo-assisted ICSI. Laser-assisted ICSI. • Oocyte/embryo vitrification Preparation of the vitrification/thawing solutions. Vitrification procedure and rapid thawing. Pre/post vitrification quality assessment. • Oocyte and embryo biopsy Selection of micropipettes. Polar body/blastomer/blastocyst biopsy. Recovery of the biopsy fragment. Assisted hatching
Texts and readings	<p>Parts from following books: - Talevi R & Gualtieri R (2019) <i>Biologia e Tecnologie della Riproduzione Umana</i>.</p>

	<p>Piccin (Padova).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Lucia Rocco (2021) <i>Biologia e Tecniche della Riproduzione</i>, Edi Ermes. - Elder K and Dale B (2020) <i>In Vitro Fertilization</i>, 4th Ed Cambridge. - Slides and scientific articles of the sector suggested by the professor.
Notes, additional materials	All information concerning the texts and scientific articles included in the program is available from the professor or online.
Repository	

Assessment	
Assessment methods	Oral examination
Assessment criteria	<ul style="list-style-type: none"> • Knowledge and understanding: Knowledge and understanding of the technologies inherent the biotechnologies of human and animal reproduction applicable in the field of assisted procreation • Applied knowledge and understanding: Knowledge and understanding applied to the study of reproductive biotechnologies and related clinical applications aimed at solving infertility problems or genetic improvement or increasing reproductive efficiency; • Autonomy of judgment: Ability to independently analyze experimental data and data reported in the international literature of the sector • Communication skills: Ability to explain the course contents with clarity and language appropriateness, also with questions and observations, both during the course and during the final assessment test; • Ability to learn: Ability to acquire concepts, to carry out continuous updating and to solve reproductive problems that are brought to the attention of the professional figure of the reproductive biotechnologist.
Final exam and grading criteria	<p>Minimum grade: 18</p> <p>Highest grade: 30 cum laude</p>
Further information	<p>Students can always contact Prof. NA Martino at the following mail address: nicola.martino@uniba.it</p>