

<b>Principali informazioni sull'insegnamento</b>	<b>CORSI DI STUDIO DI BIOLOGIA</b>
Denominazione insegnamento	BIOLOGIA MOLECOLARE DELLE PATOLOGIE UMANE
Corso di studio (classe)	SCIENZE BIOSANITARIE (DIAGNOSTICO) LM-6
Crediti formativi	8
Denominazione inglese	MOLECULAR BIOLOGY OF HUMAN PATHOLOGIES
Obbligo di frequenza	Si
Lingua di erogazione	Italiano
Anno Accademico	2020-21

<b>Docente responsabile</b>		
Nome e Cognome	Guglielmina Alessandra CHIMIENTI	
indirizzo email	Guglielminaalessandra.chimienti@uniba.it	
Luogo e orario di ricevimento	Da concordare tramite mail	
<b>Dettaglio insegnamento</b>	SSD	tipologia attività
	BIO I I	Caratterizzante

<b>Periodo di erogazione</b>	Anno di corso		Semestre	
	I°		I°	
<b>Organizzazione della didattica</b>	Lezioni frontali	Laboratori	Esercitazioni	Totale
CFU	7.5	0.5		8.0
Ore totali	187,5	12,5		200
Ore di didattica assistita	60	6		66
Ore di studio individuale	127,5	6,5		134

<b>Syllabus</b>	
Prerequisiti	
Conoscenze nei settori scientifico-disciplinari BIO ottenute durante il corso di studi della laurea triennale della classe L-13 o affini	
<b>Risultati di apprendimento attesi (declinare rispetto ai Descrittori di Dublino)</b>	
Conoscenza e capacità di comprensione	Conoscere l'informazione contenuta nel genoma e le sue modalità di espressione e comprendere come alterazioni di meccanismi biomolecolari possano essere associati all'insorgenza o al rischio di sviluppare una patologia.
Conoscenza e capacità di comprensione applicate	Conoscere il genoma e la regolazione della sua espressione negli eucarioti, a partire da quelli più semplici quali modello teorico e sperimentale, per arrivare a comprendere ed integrare scienze omiche quali genomica, trascrittomica, epigenomica, per lo studio di organismi più complessi, con particolare attenzione all'uomo, nelle sue condizioni fisiologiche e patologiche.
Autonomia di giudizio	Comprensione dei meccanismi biomolecolari, al fine di effettuare ed

	analizzare correttamente ed autonomamente i dati ottenuti mediante diagnostica molecolare.
Abilità comunicative	Acquisizione del lessico e della terminologia relativi alla diagnostica molecolare per poter comprendere eventuali approfondimenti tramite bibliografia specifica.
Capacità di apprendere	Capacità di valutare il ruolo dell'informazione genica nella insorgenza o nel rischio di sviluppare una patologia.

### Programma

Contenuti di insegnamento	<p><b>Le scienze omiche.</b> Definizioni e obiettivi</p> <p><b>Genomica.</b> Struttura ed organizzazione dei genomi: dimensione e numero dei geni; paradosso del valore C. Come si sono aggiunti nuovi geni lungo l'evoluzione: teoria del rumore di fondo. Composizione dei genomi eucariotici: sequenze in singola copia, sequenze mediamente e altamente ripetute. Copy Number Variations: il gene CCL3L1 e suscettibilità a HIV/AIDS. Ibridazione genomica comparativa (CGH). Caratteristiche dei geni eucariotici.</p> <p><b>NGS.</b> Piattaforme di sequenziamento high-throughput. Piattaforme di seconda generazione: 454 e pirosequenziamento, Illumina, Ion Torrent. Piattaforme di terza generazione: SMRT (single molecule Real-time sequencing), Oxford nanopore.</p> <p><b>Cenni di bioinformatica e Metagenomica.</b> Le banche dati biologiche, interrogazione delle banche dati, allineamenti e multiallineamenti di bio-sequenze, ricerca di similarità in banche dati: FASTA e BLAST. Cenni di evoluzione molecolare. Analisi di comunità procariotiche ed eucariotiche: Metagenomica Target-oriented (Meta-barcoding), shotgun e funzionale.</p> <p>Il microbiota intestinale: ruolo fisiologico e patologico.</p> <p><b>Farmacogenomica.</b> Dalla farmacogenetica alla farmacogenomica. Farmacocinetica e farmacodinamica. Geni che influenzano la risposta ai farmaci: enzimi del metabolismo degli xenobiotici e polimorfismi. Interazione genetica-ambiente (GxE): polimorfismi del gene NAT2 e cancro alla vescica. Personalizzazione delle cure, un esempio: sindrome neurolettica maligna e polimorfismo del gene per il recettore D2 della dopamina.</p> <p><b>Epigenetica.</b> Meccanismi epigenetici: modificazione degli istoni e</p>
---------------------------	---

metilazione del DNA. La sesta base del genoma: 5-idrossimetil citosina . Codice istonico, bromodomini e cromodomini. Struttura della cromatina e silenziamento genico. Imprinting: ruolo (teoria del conflitto genetico) e meccanismo di instaurazione. Patologie da deregolazione dell'imprinting : Sindrome di Prader Willi, Sindrome di Angelman, Sindrome di Rett. Silenziamento epigenetico del cromosoma X: long ncRNA. Metodo del bisolfito per lo studio dello stato di metilazione del DNA. Analisi ChIP-Seq per la determinazione delle modificazioni istoniche.

**Trascrittomica.** Regolazione dell'espressione genica a livello di trascrizione negli eucarioti: caratteristiche dei promotori eucariotici. Fattori di trascrizione generali, il ruolo di TFIID nel riparo del DNA. Fattori di trascrizione specifici: geni per le metallothioneine e la risposta ai metalli pesanti. Complessi di rimodellamento della cromatina. LCR, Sensibilità alla DNasi I, talassemia ispanica.

**Tecniche per lo studio delle interazioni DNA-proteine:** EMSA, DNA footprinting. Proteine di fusione: sintesi, espressione, purificazione e applicazioni: saggi di pull-down e del doppio ibrido, FRET. Geni reporter.

**Tecniche per lo studio dell'espressione.** Microarray di EST, studio dell'espressione differenziata. Sequenziamento del trascrittoma: RNA-Seq. RT-PCR: studio della cinetica della reazione di PCR, efficienza della reazione. Chimiche per la real time: sybr green, sonde lineari e dotate di struttura secondaria, q-RT-PCR: quantizzazione di trascritti assoluta (generazione della curva standard) e relativa (metodo del deltaCt e del delta-delta Ct).

**Regolazione post-trascrizionale dell'espressione genica.** Capping e poliadenilazione per il controllo della efficienza della traduzione: oociti di Xenopus. Meccanismi di editing: inserzione/delezione o modificazione di basi. Funzione e meccanismi di regolazione dello splicing alternativo, il caso della caspasi 2. Esportazione, stabilità e degradazione dell'mRNA, non sense- e non stop-mediated decay. RNA regolatori: miRNA, siRNA. Applicazioni dell'interferenza a RNA. miRNA nel cancro: ruolo come oncogeni e oncosoppressori, interazioni con p53, sponge RNA. Tecnologia CRISPR-Cas9. Prime editing.

**Regolazione post-traduzionale dell'espressione genica:** la

	<p>fosforilazione del fattore di inizio della traduzione eIF2a. La risposta all'ipossia mediata dalla idrossilazione dei fattori di trascrizione HIF.</p> <p><b>Mitocondri:</b> origine e somiglianza con i batteri. Dinamica mitocondriale, fusione e fissione. Alterazioni del metabolismo mitocondriale nella malattia di Parkinson. mtDNA nei metazoi, struttura, organizzazione, contenuto genico. Principio del Muller ratchet. Replicazione, trascrizione, particolarità del codice genetico mitocondriale.</p> <p><b>Patologie mitocondriali:</b> Trasmissione materna del mtDNA; omoplasmia, eteroplasmia, effetto soglia. Definizione della patogenicità delle varianti mitocondriali. Patologie determinate da mutazioni del mtDNA. Difetti intergenomici: varianti mendeliane che controllano il mantenimento, la replicazione e l'integrità del mtDNA. Atassia di Friedrich. Metodi di diagnosi e indagine delle patologie mitocondriali: istochimici, qPCR, analisi della singola fibra mediante droplet PCR, ibridi. Terapia genica mitocondriale.</p> <p><b>Virus degli animali:</b> caratteristiche generali, meccanismi di risposta da parte dell'ospite: interferoni. Virus a DNA: SV40; virus a RNA+: poliovirus, coronavirus; virus epatite B; virus a RNA-: influenza. Retrovirus: HIV e virus oncogeni.</p> <p><b>Laboratori:</b></p> <p>Ottenimento di sequenze genomiche tramite banche dati e utilizzo di ClustalW per analisi di multiallineamento.</p> <p>Espressione della Green Fluorescent Protein in batteri trasformati: un gene reporter espresso in maniera regolata. Purificazione cromatografica della proteina.</p>
Testi di riferimento	BIOLOGIA MOLECOLARE, Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani, CEA TECNICHE E METODI PER LA BIOLOGIA MOLECOLARE. Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani, CEA.
Note ai testi di riferimento	Sono disponibili come supporto i power point delle lezioni.
Metodi didattici	Lezioni con utilizzo di supporti audiovisivi
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	Oltre all'acquisizione delle singole e necessarie nozioni, viene valutata la capacità di integrare tali nozioni al fine di ottenere una visione completa dell'informazione genica e del suo utilizzo in un sistema così complesso quale l'uomo. Mediante una relazione scritta prodotta

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)	dallo studente, viene valutata la capacità dello stesso di cogliere le esercitazioni pratiche come un vero e proprio “esperimento” da inserire nel proprio bagaglio culturale per approfondire la conoscenza del metodo scientifico di indagine.
Altro	