



CORSO DI LAUREA IN TECNICHE DI LABORATORIO BIOMEDICO

Corso: METODOLOGIE DIAGNOSTICHE DI GENETICA MEDICA

Anno di corso: 2

Periodo di erogazione: 2° SEMESTRE

Crediti: 6

Obiettivi formativi

Al termine del corso lo studente avrà acquisito una conoscenza approfondita dei principi fondamentali della genetica mendeliana, molecolare e della genomica, comprendendo il funzionamento del genoma umano e i meccanismi alla base della trasmissione e variabilità genetica. Saprà descrivere e comprendere le principali tecniche di biologia molecolare, come estrazione e purificazione del DNA, PCR e qPCR, elettroforesi, sequenziamento Sanger e di nuova generazione, tecniche di clonaggio e manipolazione genica, oltre alle applicazioni pratiche di editing genomico, inclusi CRISPR/Cas9, nucleasi ZNF e TALEN.

Lo studente sarà in grado di spiegare i fondamenti teorici e le applicazioni pratiche dell'epigenetica, del rimodellamento cromatinico e della trascrittomico, sia bulk sia single-cell, e avrà familiarità con tecnologie di analisi avanzata come la trascrittomico spaziale. Avrà una solida preparazione sulle applicazioni diagnostiche della genetica medica, inclusi i test genetici clinici, la genetica forense e la terapia genica, conoscendo le differenze tra vettori virali e non virali, i meccanismi di delivery genico e i rischi e benefici delle tecnologie emergenti.

Saprà inoltre comprendere il ruolo degli animali transgenici, dei modelli murini e delle cellule staminali nella ricerca biomedica e nella medicina rigenerativa, fino alle più recenti applicazioni cliniche per patologie degenerative, ematologiche e neurologiche. Rientra tra le conoscenze anche l'uso degli anticorpi monoclonali, policlonali e dei nanobodies, sia a scopo terapeutico sia per applicazioni biochimiche, come western blot, immunoprecipitazione ed ELISA, nonché le basi teoriche e pratiche della proteomica avanzata (spettrometria di massa e sequenziamento proteico).

Dal punto di vista pratico, lo studente sarà in grado di applicare le metodologie di laboratorio acquisite per condurre esperimenti su DNA, RNA, proteine e colture cellulari, realizzare esperimenti di editing genico e produrre proteine ricombinanti. Avrà sviluppato competenze nell'utilizzo degli strumenti bioinformatici per l'analisi di dati genomici, saprà muoversi tra database genetici e genomici pubblici (come NCBI SRA, ClinVar, dbSNP, GenBank) e utilizzare pipeline di analisi per l'annotazione di varianti, gestendo formati file come FASTA, FASTQ, BAM e VCF e utilizzando software di visualizzazione come IGV.



Dal punto di vista delle competenze trasversali, lo studente sarà capace di lavorare in team, partecipando attivamente alle attività pratiche e ai momenti di discussione scientifica, comunicando in modo efficace i risultati e le interpretazioni. Sarà in grado di valutare criticamente dati sperimentali, applicando autonomia di giudizio e consapevolezza etica nella gestione dei dati genetici, e svilupperà capacità di apprendimento autonomo per mantenersi aggiornato rispetto ai continui sviluppi tecnologici e metodologici del settore.

Il superamento dell'esame di Biologia Molecolare ed Elementi di Genetica del I anno è un prerequisito obbligatorio per poter seguire il corso.

Contenuti

GENETICA MEDICA E ANALISI GENOMICA (Prof. Massimiliano Mazzone; Dr.ssa Federica Rubbino- 30 ore)

Email: massimiliano.mazzone@hunimed.eu; federica.rubbino@humanitasresearch.it

1. Introduzione alla genetica medica

- Genoma umano, DNA, RNA, cromosomi
- Ciclo cellulare, mitosi, meiosi, aplo/diploidia
- Mutazioni, alleli, caratteri mendeliani

2. Tecniche di laboratorio per studiare il DNA

- Estrazione e purificazione del DNA
- Enzimi di manipolazione (polimerasi, nucleasi, ligasi)
- Elettroforesi, Southern blot, RFLP, SNP analysis

3. PCR e qPCR

- Principi di PCR e PCR quantitativa (qRT-PCR)
- Progettazione primer, ottimizzazione reazione
- Esercitazione pratica in laboratorio

4. Tecniche di sequenziamento

- Sanger sequencing, Maxam & Gilbert
- Whole genome sequencing (WGS), shotgun sequencing
- Next generation sequencing (NGS), emulsion PCR

5. Epigenetica e rimodellamento cromatinico

- Metilazione CpG, modifiche istoniche
- Ruolo di TET1/2/3, complessi SWI/SNF nel cancro
- Analisi epigenetiche in laboratorio

6. Applicazioni diagnostiche e cliniche

- Diagnosi malattie genetiche, genetica forense
- Analisi cariotipica, variabilità genetica
- Terapie geniche, delivery lipid-based (es. Lipofectamine)

7. Tecnologie avanzate e trascrittomico

- RNA-seq: sequenziamento trascrittoma, analisi differenziale, varianti di splicing
- Single-cell RNA-seq: workflow, analisi con 10X Genomics
- Trascrittomica spaziale

8. Animali transgenici e modelli murini

- Topi transgenici
- Gene targeting, knock-in, knock-out, Cre-LoxP
- Tecniche CRISPR/Cas9 per editing genico

9. Gene therapy

- Terapia genica ex vivo e in vivo
- Vettori virali (retrovirali, lentivirali, adenovirali, AAV)
- Vettori non-virali (liposomi, elettroporazione, gene gun)
- Applicazioni cliniche

10. Cellule staminali e medicina rigenerativa

- Cellule staminali embrionali, adulte, iPSC
- Differenziamento, plasticità, applicazioni cliniche
- Terapie cellulari
- Esempi clinici: Epidermolysis Bullosa, Parkinson, Crohn

11. Anticorpi e tecnologie proteiche

- Anticorpi monoclonali, policlonali, nanobodies
- Uso in biochimica: ELISA, western blot, immunoprecipitazione
- Immunoterapia: ADC, BiTE, immunocromatografia, RIA

12. Tecniche avanzate di analisi proteica

- Spettrometria di massa, MALDI, MS/MS
- Sequenziamento proteico (Edman degradation)
- Quantificazione e caratterizzazione proteica in ricerca e diagnostica

BIOTECNOLOGIE RICOMBINANTI E COLTURE CELLULARI (Dr.ssa Estersini Federica – 10 ore)

Email: federica.estersini@humanitas.it



Lezione 1: Introduzione alle biotecnologie ricombinanti e tecniche di clonaggio genico

- Concetti base di ingegneria genetica
- Vettori di clonaggio classici e ingegnerizzati
- Endonucleasi di restrizione e DNA ligasi
- Strategie di costruzione del DNA ricombinante

Lezioni 2 e 3: Espressione genica e produzione di proteine ricombinanti

- Vettori di espressione e produzione di proteine ricombinanti
- Costruzione di librerie genomiche e di cDNA
- Applicazione delle tecniche di ingegneria genetica (ingegneria genetica animale, anticorpi monoclonali, vaccini ricombinanti e terapia genica)

Lezioni 4 e 5: Introduzione alle colture cellulari, applicazioni e aspetti pratici

- Colture cellulari primarie e secondarie, come si realizzano e campi di applicazione
- Colture di cellule in monostato e colture di cellule in sospensione
- Conteggio cellulare, studio della vitalità cellulare e morte cellulare
- Congelamento\crio-conservazione delle cellule e scongelamento delle cellule
- Il ruolo del laboratorio: sterilità e coltivazione

BIOLOGIA MOLECOLARE APPLICATA ALLA GENETICA MEDICA (Dr.ssa Estersini Federica – 10 ore)

Email: federica.estersini@humanitas.it

Lezione 1: Introduzione alla citogenetica e anomalie cromosomiche di numero

- Concetti base (struttura e funzione dei cromosomi e gametogenesi)
- Anomalie cromosomiche di numero (poliploidie, aneuploidie e cromosoma marcatore)
- DSDs

Lezione 2: Anomalie cromosomiche di struttura e citogenetica classica

- Anomalie cromosomiche di struttura (delezioni, duplicazioni, inserzioni, inversioni, traslocazioni e isocromosoma)
- Cariotipo: metodica e applicazioni

Lezione 3: Citogenetica molecolare

- Ibridazione in situ fluorescente (FISH): metodica e applicazioni
- Ibridazione genomica comparativa (Array-CGH): metodica e applicazioni



- Confronto tra citogenetica classica e molecolare

Lezione 4: Esempi di patologie genetiche

- Fibrosi cistica
- Patologie da difetti dell'imprinting genomico
- Patologie da mutazioni dinamiche o da espansione di triplette

Lezione 5: Cancro come malattia genetica

- Inquadramento patologia
- Cause genetiche e meccanismi molecolari
- Ereditarietà e predisposizione genetica
- Diagnosi molecolare e ruolo del laboratorio

ANALISI BIOINFORMATICA DI DATI GENOMICI (Dr Paolo Kunderfranco – 10 ore)

Email: paoletto.kunderfranco@humanitasresearch.it

Lezione 1: Storia e fondamenti della Bioinformatica

- Evoluzione storica e impatto delle tecnologie di sequenziamento
- Principali aree di applicazione in laboratorio biomedico
- Figure professionali e ruolo della bioinformatica

Lezione 2: Strumenti Digitali e Piattaforme Bioinformatiche

- Introduzione a database pubblici e risorse digitali: NCBI SRA, ClinVar, dbSNP, GenBank, Ensembl, UCSC Genome Browser
- Introduzione ai formati file biologici principali: FASTA, FASTQ, BAM, VCF
- Visualizzazione dati con IGV
- Accesso ai dati e navigazione da terminale (comandi base per analisi file biologici)

Lezione 3: Tecniche di Analisi di Sequenze e Varianti Genomiche

- Algoritmi di allineamento (pairwise, multiple) e mapping
- Chiamata e annotazione di varianti genomiche
- Controllo qualità e gestione errori nei dati di sequenziamento

Lezione 4: Pipeline Bioinformatica per Analisi Varianti

- Struttura di una pipeline bioinformatica: definizione, automazione e standardizzazione



- Esempio di pipeline per analisi di varianti genomiche: dal raw data all’annotazione funzionale
- Introduzione agli ambienti di lavoro (Galaxy, strumenti da terminale)

Lezione 5: Esercitazioni pratiche su risorse digitali

- Navigazione e interrogazione database ClinVar, dbSNP, SRA
- Uso di BLAST e Clustal Omega per allineamenti e ricerca similitudini
- Annotazione varianti con Galaxy e strumenti dedicati
- Visualizzazione dati con IGV
- Esplorazione file biologici da terminale: uso di comandi Unix per analisi file FASTA, FASTQ, BAM e VCF

Attività pratiche

- Analisi guidata di dati genomici reali e simulati
- Annotazione varianti su dati di sequenziamento
- Visualizzazione e interpretazione dati con IGV
- Navigazione e download dati da SRA, ClinVar, dbSNP
- Utilizzo di comandi da terminale per gestione file biologici

Metodologia didattica

Lezioni frontali integrate con esercitazioni pratiche al computer e sessioni di laboratorio digitale. Materiali didattici e datasets forniti per lo studio individuale.

Attività di apprendimento previste e metodologie di insegnamento

Il corso si svolgerà attraverso lezioni frontali in presenza, integrate con momenti di lavoro di esercitazione di gruppo. Le attività hanno lo scopo di raggiungere gli obiettivi formativi legati alla conoscenza e alla comprensione dei contenuti del corso e di stimolare la comunicazione scientifica.

Modalità di verifica dell'apprendimento

L'esame consiste di un journal club (attività di gruppo) in cui i ragazzi descrivono e spiegano un articolo scientifico. Questo viene valutato in decimi. Verrà poi eseguito un compito scritto, composto da 1 domanda aperta (fino a 3 punti) e 19 domande a risposta multipla (1 punto). Il voto finale sarà dato da 1/3 dal journal club, e 2/3 dal test.

Testi di riferimento

Genome (Terry A. Brown, Ed. 3/4, Edises)

Introduction to Genomics (Arthur Lesk, Oxford)

Articoli e link forniti a lezione