

Insegnamento	Docente	Anno	Periodo	Tecnica	Breve descrizione	Ore
1 Biologia Molecolare degli Eucarioti	Davide Ambrosetti	1	1	Sintesi e marcatura dell'RNA	Sintesi e marcatura in vitro di RNA; RNAi in <i>C.Elegans</i> , saggio trascrizionale e saggio traduzionale; Saggio di processamento del dsRNA, saggio di degradazione dell'mRNA; Saggi di validazione miRNA/mRNA target; Processamento in vitro di pri-miRNA.	5
				Purificazione e clonaggio di piccoli RNA	Retrotrascrizione. Ligazione di adattatori. Amplificazione. Clonaggio. Sequenziamento.	1
				Progettazione di siRNA	Criteri e regole di progettazione ragionata. Programmi on-line per il design di siRNA e shRNA.	1
				Strategie per costruzione di shRNA	primer extension, PCR, PCR sequenziali, alleating oligonucleotidi.	2
				ChIP	ChIP qPCR; ChIP-on-chip; ChIP-seq.	1
				Cross-linking and IP (CLIP)		1
				Formaldehyde assisted isolation of regulatory elements (FAIRE).		1
				Preparazione anticorpi mono- e poli-clonali	Preparazioni Ab in coniglio. Preparazione Ab dal timo di topo.	1
				Yeast Two-hybrid system	Preparazione cDNateca in E. coli. Screening in <i>S.Cerevisiae</i> . Esca e background. Geni reporter.	2
				GST- pull down	sintesi dell'esca in E.coli. Sintesi della preda in sistema TnT. Saggio di interazione.	1
				Tag- immunoprecipitation strategies	FLAG-; TAP-Tags.	1
				Co-immunoprecipitazione	Esperimento e controlli sperimentali.	1
Saggio di Sumoilazione	Co-trasfezione di colture cellulari con vettori plasmidici per l'espressione del substrato e/o di Sumo1, Ubc9, Pias. Estrazione e quantificazione delle proteine. EMSA e analisi dei risultati mediante western blot.	30				
2 Chimica Fisica per Biologia con Laboratorio	Stefania Rapino	1	1	Metodi di elaborazione e trattamento numerico di dati sperimentali	Strumenti informatici e matematici per l'elaborazione quantitativa di dati sperimentali.	18
				Tecniche per la misura dei calori di reazione	Calorimetria per la determinazione dei calori di reazione, delle affinità di legame (antigene/anticorpo), denaturazione di proteine etc	1
				Tecniche di imaging funzionale e microscopia a scansione di sonda	Tecniche per la misura real time e quantitativa di attività cellulari e subcellulari.	1
				Tecniche biosensoristiche e elettrochimiche per la determinazione quantitativa di metaboliti	Tecniche per la misura quantitativa di metaboliti in campioni biologici basate sulla trasduzione elettrochimica.	1+7
				Tecniche di imaging ottica a super-risoluzione	STED, STORM, PALM per l'indagine in microscopia ottica con risoluzione fino a poche decine di nanometri	1
				Tecniche per il modelling delle strutture di proteine e Microscopia Crioelettronica	Tecniche per la determinazione di strutture di proteine e biologia strutturale	2

3	Microbiologia Molecolare	Martina Cappelletti	1	1	Tecniche di sequenziamento di genomi completi	Tecniche di Next-generation Sequencing: prima (Sanger), seconda (Illumina e Roche) e terza (Nanopore Technology) generazione di sequenziamento NGS. Le fasi del sequenziamento e dell'assemblaggio del genoma batterico.	2
4	Neurobiologia	Barbara Monti	1	1	Brain Atlas	Strumenti bioinformatici per lo studio neuroanatomico	1
					Metodi e tecniche per lo studio del SNC	i. Tecniche invasive: metodi biochimici, molecolari, elettrofisiologici e chirurgici; ii. tecniche non-invasive: neuroimaging (EEG, MEG, PET, MRI).	1
					Colture cellulari in neurobiologia	i. Linee cellulari; ii. colture primarie; iii. colture organotipiche; iv. co-culture; v. cellule cerebrali derivate da induced pluripotent stem cells (iPSCs); vi. organoidi cerebrali.	3
					Organismi modello in neurobiologia	i. Caenorhabditis elegans; ii. Drosophila melanogaster; iii. Aplysia californica; iv. Zebrafish; v. Topo e ratto (KO e transgenici); vi. I primati non umani.	2
						Cenni di etica della ricerca scientifica e aspetti bioetici e legali della sperimentazione animale e umana.	1
5	Virologia Molecolare	Renato Brandimarti	1	1	Tecniche di modificazione genetica per ricombinazione omologa mediata dall'espressione di proteine fagiche in batteri	Espressione dell'apparato ricombinogenico fagico in batteri. Introduzione di sequenze genetiche nei batteri ricombinogenici. Isolamento di cellule ricombinanti mediante analisi fenotipica. Separazione in gel di acrilamide (SDS-PAGE) di estratti proteici di cellule parentali e ricombinanti.	
6	Biochimica della segnalazione cellulare	Michela Rugolo	1	2	Misure in vivo di secondi messaggeri intracellulari	Tecniche per misurare in vivo la concentrazione di calcio nel citosol mediante sonde fluorescenti e negli organelli mediante proteine ricombinanti fluorescenti indirizzate. Misure di AMPciclico mediante PKA ricombinante fluorescente.	2
7	Biologia e metodologie morfologiche cellulari	Liliana Milani	1	2	Tecniche di analisi morfologica e di localizzazione di acidi nucleici e proteine	Tecniche di microscopia elettronica a trasmissione (TEM) e a scansione (SEM): dalla preparazione del campione all'utilizzo dei microscopi.	10
						Tecniche di ibridazione in situ: costruzione sonde a DNA ed RNA, ibridazione, osservazione al microscopio.	
						Tecniche di immunostochimica: dalla preparazione del campione, alla produzione di anticorpi e loro applicazione, all'utilizzo dei microscopi a fluorescenza e confocale per il rilevamento e l'analisi.	

8	Epigenetica	Giovanni Perini	1	2	Analisi del metiloma	Southern Blotting con impiego di enzimi di restrizione sensibili allo stato di metilazione in citosina. Methylation sensitive PCR. Sequenziamento di brevi regioni di DNA con bisolfito. COBRA: Combined Bisulphite and Restriction Analysis. Methyl-DIP. Global methylome via Bisulfite-seq.							
					Determinazione del tasso di trascrizione e di stabilita degli mRNA	RUN-ON RUN-OFF, uso di actinomicina D, DOT/SLOT Blot.							
					Tecniche di gene inactivation nel topo	Metodo Capecchi, metodo del CRE/LOXP, metodo del Gene trapping, Metodo di CRISPR/CAS9, Produzione di fenocopie attraverso l'uso di ahRNA e siRNA							
					Interazioni DNA proteine	EMSA, Footprinting in vitro, Chromatin-Immunoprecipitation, Chromosome Conformation Capture (3C, 4C, iC), Co-Immunoprecipitazione, GST-Pull down, DNase hyper-sensitivity assay							
					Espressione di proteine con tag per purificazione di complessi via cromatografia per affinità	TAGs: HA, FLAG, HIS6							
					Screening di interazione genica	Uso di librerie di shRNA e gsRNAs, screening di o enhancement sintetico.							
					Analisi del trascrittoma	Northern blotting, qRT-PCR, RNA-seq, chip-array , cDNA array, single cell sequencing con bar-code.							
					analisi di DNA. RNA e proteine su cellule fissate e non fissate	DNA-FISH, RNA-FISH, Immunocitochimica, immunofluorescenza.							
					Veicolazione di materiale genetico nelle cellule	Calcio-fosfato, Lipofectammine, uso di retro- e lenti-virus.							
					Uso di geni reporter per lo studio di promotori	Beta-galattosidasi, CAT, Dual-Luciferase, GFP. RFP							
					9	Fisiologia degli stress e dinamiche redox nelle piante		Paolo Trost	1	2	Produzione di piante transgeniche	Trasformazione genica con <i>Agrobacterium tumefaciens</i> e con il metodo biolistico. Rigenerazione in vitro. Metodo floral dip per <i>Arabidopsis thaliana</i> .	1
											Induzione e detection delle modificazioni di tipo redox a carico delle cisteine proteiche	Trattamento colture cellulari o estratti proteici con molecole ossidanti. Preparazione campioni proteici per identificazione delle modificazioni di tipo redox. Separazione elettroforetica per analisi proteomiche o di western blot.	
Spettrometria di massa	Tecniche di spettrometria di massa MALDI-TOF ed ESI-TOF. Preparazione campioni, analisi degli spettri e identificazione delle proteine.												

10	Fisiologia degli stress e dinamiche redox nelle piante (Modulo 2)	Francesca Sparla	1	2	Produzione di proteine ricombinanti	Confronto tra i diversi sistemi d'espressione disponibili: dai sistemi d'espressione cell-free ai sistemi d'espressione in pianta.	1
					Tecniche cromatografiche di purificazione	Processi di purificazione per macromolecole biologiche: le tecniche cromatografiche. I principali meccanismi di separazione impiegati in cromatografia.	1
					Applicazioni della spettrofotometria	Spettri d'assorbimento per analisi qualitative e quantitative dirette ed indirette. Analisi spettrofotometriche risolte nel tempo per la misurazione di cinetiche enzimatiche.	1
11	Genetica molecolare dello sviluppo	Valeria Cavaliere	1	2	Sondaggi mediante mutagenesi	Tecniche di mutagenesi chimica e strategie genetiche per l'identificazione di individui mutanti. Tecnica del Tilling. Mutagenesi inserzionale mediata da elementi trasponibili P, P-enhancer trap, P-gene trap e EP. Utilizzo del plasmid-rescue e della iPCR per il clonaggio genico.	1
					Produzione di ceppi transgenici di <i>Drosophila</i>	Trasformazione della linea germinale mediata da elementi trasponibili P. Trasferimento di transgeni in localizzazioni genomiche predeterminate oppure random. Sistemi di selezione e relativi geni reporter.	1
					Espressione mirata di transgeni <i>in vivo</i>	Tecniche di controllo dell'espressione stadio- e tessuto- specifica di transgeni di interesse. Utilizzo di promotori endogeni e del sistema UAS-Gal4-Gal80 di <i>S. cerevisiae</i> . Tecnica "Flp out" per controllare l'espressione di specifici transgeni in cloni cellulari mediante uso del sistema di ricombinazione sito specifica FRT-Flp di <i>S. cerevisiae</i> .	1
					Analisi <i>in vivo</i> del profilo di distribuzione di specifici trascritti.	La tecnica dell'ibridazione <i>in situ</i> . La tecnica MS2-MCP applicata allo studio della localizzazione intracellulare dei trascritti di transgeni di interesse.	1
					Produzione di mosaici genetici	Tecniche per indurre in maniera stadio- e tessuto- specifica la formazione di cloni cellulari omozigoti per mutazioni di interesse mediante uso del sistema di ricombinazione sito specifica FRT-Flp di <i>S. cerevisiae</i> . Tecnica MARCM per indurre in maniera stadio- e tessuto- specifica la formazione di cloni cellulari portanti multiple alterazioni genetiche.	1
12	Biologia dello sviluppo delle piante	Stefania Biondi	2	1	Colture in vitro di tessuti e cellule vegetali. Tecniche istochimiche e di fluorescenza.	Preparazione dell'espianto e del terreno di coltura; tipi di espanti e colture (callo, strati sottili, espanti nodali, sospensioni cellulari), protocolli di organogenesi/embriogenesi somatica e relative applicazioni. Geni reporter (GUS, GFP). Il promotore auxina-inducibile DR5.	
13	Biologia Molecolare dei Procarioti	Davide Roncarati	2	1	Tecniche per l'analisi quantitativa e/o qualitativa di trascritti	Northern Blot; Trascrizione in vitro; Run-off assay; Primer Extension; S1-mapping; 5'-RACE (Rapid Amplification of cDNA Ends); Real Time PCR (qRT-PCR); RNA-sequencing; Differential RNA-sequencing (dRNA-seq); RNA-RNA footprinting.	2
					Tecniche per lo studio delle interazioni Proteina-DNA	Filter Binding Assay; EMSA (Electrophoretic Mobility Shift Assay); DNase I footprinting; Hydroxyl-radical footprinting; Chromatin Immunoprecipitation abbinata a diversi metodi di analisi dei frammenti di DNA immunoprecipitato (ChIP-qRT-PCR; ChIP-to-chip; ChIP-sequencing).	1

14	Cellule Staminali modulo 1	Laura Bonsi	2	1	Generazione modelli organoidi in vitro	Tecniche di co-cultura di popolazioni cellulari derivate da diversi lineage ottenute attraverso procedure di differenziamento specifico. Modelli tridimensionali in vitro per la creazione di strutture cellulari complesse.	2
15	Cellule Staminali modulo 2	Francesco Alviano	2	1	Allestimento e mantenimento in vitro di colture cellulari primarie isolate da tessuti umani	Tecniche di isolamento di popolazioni cellulari di origine epiteliale e mesenchimale derivate da tessuti umani. Mantenimento in vitro delle colture cellulari primarie isolate. Osservazione microscopica per verificare il fenotipo morfologico delle popolazioni cellulari ottenute.	2
16	Metodi chimico-molecolari per lo studio delle proteine	Barbara Zambelli	2	1	Produzione di proteine ricombinanti e analisi delle proprietà biofisiche	Metodi di clonaggio per la sovraespressione di proteine. Tecniche cromatografiche per la separazione di proteine. Studio del "folding" delle proteine attraverso dicroismo circolare e fluorimetria a scansione differenziale. Studio delle proprietà idrodinamiche con la diffusione della luce. Calorimetria.	
17	Metodi spettroscopici in Biologia	Giovanni Venturoli	2	1	Tecniche di spettroscopia ottica e di risonanza magnetica	Spettrofotometria, spettrofluorimetria, spettroscopia FTIR, EPR, NMR.	
18	Tossicologia	Donatella Canistro	2	2	Test di mutagenesi in vitro, in vivo.	Test di Ames (OECD 471), test HGPRT (OECD 476), test aberrazione cromosomica (OECD 473-475), test micronucleo (OECD 487-474), Primary DNA damage test (OECD 479), test UDS (OECD 486), Comet test (OECD 489), MutaMouse.	4
					Test di cancerogenesi in vivo.	OECD 451-453	
					Test di tossicità di sviluppo e riproduttiva in vivo.	OECD 421-414-443. ICHS5(R3)	
					Test di tossicità acuta in vivo.	OECD 401-420-423-425.	
					Test di tossicità subcronica in vivo.	OECD 408-409	
Test di tossicità cronica in vivo	OECD 452						