UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

COURSE SYLLABUS

Functional Genomics

2627-1-F0902D001

Obiettivi

Lo Human Genome Project e i successivi sviluppi tecnologici, in particolare le tecnologie di sequenziamento massivo in parallelo del DNA e le tecniche di studio della organizzazione tridimensionale della cromatina hanno modificato lo scenario dei rapporti tra genetica e medicina. L'era della genetica medica, focalizzata sulle anomalie cromosomiche e le malattie monogeniche sta lasciando il passo all'era della genomica clinica e di salute pubblica, e le analisi su scala genomica della variabilità genetica stanno cominciando a collegare in modo comprensibile il genoma al fenoma. I ricercatori hanno quindi spostato l'attenzione verso la comprensione delle funzioni geniche e dei meccanismi regolatori che controllano l'espressione genica. Questo include lo studio delle interazioni gene-gene e gene-ambiente per comprendere meglio i tratti complessi e le malattie.

Obiettivi formativi specifici

1. Conoscenza e capacità di comprensione
   Lo studente acquisirà una conoscenza approfondita delle tecnologie e degli approcci sperimentali propri della genomica funzionale, con particolare attenzione alle tecniche di sequenziamento ad alta processività, all'analisi dell'organizzazione tridimensionale della cromatina e ai meccanismi di regolazione dell'espressione genica. Verranno inoltre acquisite competenze sul ruolo della variabilità genetica e delle interazioni gene-gene e gene-ambiente nella determinazione di fenotipi complessi.

2. Conoscenza e capacità di comprensione applicate
   Al termine del corso lo studente sarà in grado di progettare e interpretare studi sperimentali nell'ambito della genomica funzionale, selezionando in modo critico le metodologie più appropriate. Saprà applicare queste conoscenze alla ricerca biomedica avanzata e a contesti clinici di genomica traslazionale.

3. Autonomia di giudizio
   Lo studente svilupperà capacità critiche nell'analisi dei dati genomici e sarà in grado di valutare in autonomia la qualità e l'affidabilità dei risultati scientifici, formulando ipotesi coerenti e individuando le implicazioni etiche, cliniche e scientifiche delle proprie analisi.

4. Abilità comunicative
   Lo studente acquisirà la capacità di comunicare in modo chiaro, efficace e professionale i contenuti e i risultati di analisi genomiche complesse, sia in ambito accademico che in contesti multidisciplinari, utilizzando la terminologia scientifica appropriata e i principali strumenti di comunicazione scientifica.

5. Capacità di apprendimento
   Lo studente svilupperà un'elevata autonomia nello studio e nell'aggiornamento continuo, acquisendo la capacità di accedere criticamente alla letteratura scientifica e di approfondire in modo indipendente le innovazioni metodologiche e tecnologiche nel campo della genomica funzionale.

Contenuti sintetici

Il corso di Genomica Funzionale offre un percorso formativo avanzato volto a decodificare la complessità strutturale, funzionale ed epigenetica del genoma umano. Nella prima parte, gli studenti approfondiranno l'evoluzione concettuale del gene, l'architettura del DNA non codificante e i meccanismi di duplicazione genica, integrando i più recenti sviluppi dei consorzi internazionali. Successivamente, il programma esamina i codici epigenetici molecolari, tra cui la metilazione del DNA, le modificazioni istoniche e l'organizzazione tridimensionale della cromatina, associandoli a fenomeni complessi come l'imprinting e l'inattivazione del cromosoma X. Particolare rilievo è dato alle piattaforme tecnologiche di ultima generazione, affrontando nel dettaglio il sequenziamento NGS su DNA e RNA, la genomica a singola cellula, lo studio della metilazione del DNA e le tecniche di cattura conformazionale 3D. Infine, il corso fornisce le competenze metodologiche fondamentali per la validazione funzionale in vitro e in vivo, analizzando vettori plasmidici e virali, strategie di gene editing programmabile (CRISPR/Cas9), saggi di interazione molecolare e lo sviluppo di modelli animali transgenici o di silenziamento genico applicati alla ricerca biomedica e alla terapia genica.

Programma esteso

PARTE I: Evoluzione Concettuale e Organizzazione Globale del Genoma (Lezioni 1-5)

• Lezione 1: Dalla Genetica alla Genomica

L'evoluzione concettuale del termine "gene" dal periodo classico e mendeliano fino all'era moderna; polimorfismi; mappe genetiche e fisiche; studi di linkage e GWAS

• Lezione 2: Sequenziamento Sanger e Identificazione dei Geni

Il sequenziamento del DNA a terminazione di catena; strategie storiche di clonaggio posizionale per l'identificazione di geni-malattia; genetica diretta e inversa.

• Lezione 3: Il Progetto Genoma Umano e i Geni Codificanti Proteine

Tappe e metodologie di mappatura fisica e contig clonali del Progetto Genoma Umano (HGP); analisi quantitativa e distribuzione dei geni codificanti proteine.

• Lezione 4: Duplicazione Genica, Famiglie Geniche e Geni ad RNA

Meccanismi molecolari di duplicazione genica (neofunzionalizzazione, pseudogeni); classificazione delle famiglie geniche ed evoluzione della complessità; introduzione ai geni per RNA non codificanti (rRNA, lncRNA, miRNA, piRNA).

• Lezione 5: Distribuzione dei Geni, DNA Non Codificante (ncDNA) e sviluppi del Progetto Genoma Umano

Eterogeneità della densità genica, deserti genici e modello delle isocore; analisi del ncDNA; innovazioni dei consorzi Telomere-to-Telomere (T2T) e Human Pangenome Project.

PARTE II: Epigenetica Molecolare, Omiche e Topologia 3D (Lezioni 6-11)

• Lezione 6: Struttura Base della Cromatina e Modificazioni Istoniche

Livelli gerarchici di compattamento del DNA e biologia del nucleosoma (ottamero istonico, varianti e istone linker

H1); dinamismo cromatinico, modificazioni istoniche e relativo codice, enzimi readers e writers.

• Lezione 7: Metilazione del DNA: Ruolo Biologico e Meccanismi Epigenetici

Metilazione del DNA e suo significato funzionale; Enzimi DNMT; ruolo della metilazione nella repressione genica e nello sviluppo; eucromatina e eterocromatina costitutiva e facoltativa

• Lezione 7-8: Tecniche Next-Generation Sequencing (NGS) e sue Applicazioni in Genomica Funzionale

Piattaforme NGS di seconda e terza generazione. Sequenziamento dell'RNA e trascrittomica. Applicazioni dell'NGS su DNA e RNA. CHIP-Seq, CUT&Run, Metagenomica.

• Lezione 9: Organizzazione 3D del Genoma e Tecniche per lo studio della Conformazione della Cromatina

Architettura tridimensionale interfasica: territori cromosomici, compartimenti A/B, domini topologicamente associati (TADs) e loop promotore-enhancer. Tecniche di cattura della conformazione (Hi-C, Micro-C, MCC) e metodi indipendenti da ligazione

• Lezione 10: Imprinting Genetico e Inattivazione del Cromosoma X

Espressione monoallelica genitore-specifica ed evidenze da trapianto pronucleare; disomie uniparentali (UPD) e sindromi genetiche umane (Prader-Willi, Angelman, Silver-Russell, Beckwith-Wiedemann); Significato biologico, fasi e meccanismi molecolari dell'inattivazione del cromosoma X.

• Lezione 11: Genomica a Singola Cellula (Single-Cell Genomics)

Principi, tecniche e implicazioni delle analisi genomiche a singola cellula; sequenziamento dell'RNA a singola cellula (Single-cell RNA-Seq) per lo studio dell'eterogeneità trascrizionale; cenni alla trascrittomica spaziale e alle analisi multi-omiche.

PARTE III: Sistemi in Vitro, Ingegneria di Trasduzione e Gene Editing (Lezioni 12-14)

• Lezione 12: Colture Cellulari e Biologia delle Cellule Staminali

Manipolazione e mantenimento in vitro di colture cellulari; biologia, auto-rinnovamento e differenziamento di cellule staminali pluripotenti (ESC, iPSC) e multipotenti come modelli biologici.

• Lezione 13: Tecnologie di Ingegneria Genomica e Vettori Plasmidici

Principi del clonaggio molecolare e i principali vettori plasmidici utilizzati per manipolare l'espressione genica. Metodi di clonaggio del DNA, i diversi tipi di plasmidi (clonaggio, espressione, reporter e knock-down), i promotori, le strategie di trasfezione e i sistemi per ottenere espressione costitutiva o inducibile dei geni nelle cellule eucariotiche. Utilizzo di nucleasi a dita di zinco (ZFN), TALEN e la piattaforma CRISPR/Cas9; sfruttamento delle vie di riparazione del DNA (NHEJ e HDR).

• Lezione 14: Vettori Virali per il Trasferimento Genico

Biologia molecolare e ingegnerizzazione di vettori retrovirali e lentivirali; architettura dei vettori auto-inattivanti (SIN) tramite delezione 3'-LTR; confronto strutturale tra piattaforme di II e III generazione e metodiche di titolazione.

PARTE IV: Saggi Funzionali, Interattomica e Modelli Animali In Vivo (Lezioni 15-18)

• Lezione 15: Studio Funzionale dei Promotori e della Trascrizione

Caratterizzazione biochimica e funzionale delle regioni regolatorie: design di vettori reporter (luciferasi, GFP) e mutagenesi sito-diretta dei motivi di legame trascrizionali.

• Lezione 16: Caratterizzazione delle Interazioni Proteina-Proteina

Metodologie per mappare l'interactoma proteico: saggio del doppio ibrido in lievito (Y2H), co-immunoprecipitazione (Co-IP), saggi biofotonici ad alta risoluzione (FRET/BRET); CHIP.

• Lezione 17: Strategie di Gene Targeting In Vivo

Principi biologici della ricombinazione omologa in cellule staminali embrionali (ES) e design di vettori di targeting; generazione di knockout e knockout condizionali mediante sistemi Cre-Lox. Costruzione e selezione di cellule e animali geneticamente modificati. Tecnologie di genome editing in vivo: trasposoni, Zinc Finger Nucleases (ZFNs) e CRISPR/Cas9. Applicazioni del genome editing nella ricerca biologica e nella terapia genica.

• Lezione 18: Strategie di Gene silencing In Vivo

Principi del silenziamento genico mediante antisense oligonucleotidi (ASO); RNA interference (RNAi), siRNA e shRNA. Strategie di delivery e vettori per il silenziamento genico. Biogenesi e funzione dei microRNA (miRNA). Applicazioni dei piccoli RNA nello studio della funzione genica e nello sviluppo di nuove terapie.

**• 5 tra lezioni interattive ed esercitazioni saranno dedicate alla presentazione e discussione critica di articoli scientifici **

Prerequisiti

Per affrontare con successo i contenuti specialistici di questo corso di Genomica Funzionale, è essenziale che lo studente abbia già acquisito solide competenze di base nei seguenti ambiti:

Biologia Molecolare: Struttura degli acidi nucleici (DNA e RNA), meccanismi di replicazione, trascrizione, maturazione dell'RNA e traduzione sia nei procarioti che negli eucarioti; regolazione classica dell'espressione genica.

Genetica Generale: Leggi dell'ereditarietà mendeliana, struttura e anomalie dei cromosomi, concetti di mutazione, ricombinazione, linkage genetico e mappatura.

Biochimica e Biologia della Cellula: Struttura e funzione delle proteine, compartimentazione cellulare, ciclo cellulare, vie di segnalazione intracellulare e tecniche di base per la manipolazione di colture cellulari in vitro.

Tecniche di Base del DNA Recombinante: Principi fondamentali del clonaggio molecolare, enzimi di restrizione, elettroforesi su gel e reazione a catena della polimerasi (PCR).

Lo Human Genome Project e i successivi sviluppi tecnologici sono da ritenersi strumento indispensabile per la comprensione delle strategie di studio.

Modalità didattica

- 12 lezioni da 2 ore svolte in modalità erogativa in presenza;
- 2 lezioni da 2 ore svolte in modalità interattiva in presenza;
- 6 lezioni da 2 ore svolte in modalità erogativa da remoto;
- 6 esercitazioni da 2 ore svolte in modalità interattiva in presenza.

L'insegnamento sarà erogato in lingua italiana. Il materiale didattico fornito sarà in lingua inglese.

Materiale didattico

- Diapositive delle lezioni

- Reviews e articoli pubblicati su riviste internazionali indicati durante il corso.

Libri di testo consigliati:

- "Genetica & Genomica nelle scienze mediche"; Tom Strachan, Anneke Lucassen. Seconda Edizione Italiana - Zanichelli
- "Genetica Molecolare Umana"; Tom Strachan, Andrew Read. Seconda edizione italiana condotta sulle 5 edizione inglese - Zanichelli
- "Functional Genomics: Methods and Protocols" (Methods in Molecular Biology); Michael Kaufmann, Christine A. Wells, Athanasios Alexiou.

Periodo di erogazione dell'insegnamento

I Semestre

Modalità di verifica del profitto e valutazione

La verifica del profitto avverrà nelle previste sessioni d'esame, mediante un esame scritto composto da TEST A RISPOSTE CHIUSE (quiz a scelta multipla), riguardanti l'intero programma, per la valutazione della preparazione generale dello studente, e una DOMANDA APERTA a scelta dello studente tra tre diversi quesiti proposti, per valutare le capacità di comprensione e approfondimento.

Durante lo svolgimento del corso sarà inoltre proposto agli studenti di preparare una presentazione orale facoltativa basata su un articolo scientifico originale su un argomento pertinente al programma, per valutare le capacità di presentazione e sintesi. Questa presentazione fungerà da base per una discussione interattiva in aula sui temi scientifici presentati.

La valutazione finale sarà ottenuta dalla media ottenuta dai punteggi ottenuti nei quiz a scelta multipla e nella domanda aperta. L'esame si considererà superato solo se si raggiungerà un punteggio sufficiente sia nei quiz a scelta multipla, sia nella domanda aperta. La presentazione orale facoltativa potrà contribuire al voto finale fino ad aggiungere un massimo di 3 punti.
Su richiesta del docente e/o dello studente, potrà inoltre essere effettuata una breve prova orale, che consisterà di un colloquio sugli argomenti svolti a lezione e/o un colloquio di discussione sullo scritto.

Orario di ricevimento

su appuntamento, previa e-mail al docente (emanuele.azzoni@unimib.it)

Sustainable Development Goals

SALUTE E BENESSERE | ISTRUZIONE DI QUALITÁ | PARITÁ DI GENERE