BIOLOGIA MOLECOLARE E METODOLOGIE BIOINFORMATICHE E CHIMICHE Coordinatore: Prof.ssa Francesca Bernassola

DOCENTI: BIOLOGIA MOLECOLARE E BIOINFORMATICA: Prof.ssa Francesca Bernassola (3 CFU), Dott. Artem Smirnov (2 CFU), Dott.ssa Sara Giovannini (1 CFU), Dott. Lorenzo Antonetti (2 CFU); **SPETTROSCOPIA DI MOLECOLE BIOLOGICHE:** Prof. Paolo Calligari (2 CFU); **CHIMICA ANALITICA:** Prof.ssa Fabiana Arduini (2 CFU)

RECAPITI e-mail: bernasso@uniroma2.it; artem.smirnov@uniroma2.it; sara.giovannini@uniroma2.it; lorenzo.antonetti@alumni.uniroma2.eu; fabiana.arduini@uniroma2.it; paolo.calligari@uniroma2.it

LUOGO E ORARIO DI RICEVIMENTO: su appuntamento con docente specifico via e-mail.

SSD: BIO/11, CHIM/01, CHIM/02

CFU: 12 CFU

ANNO DI CORSO: I anno

PROPEDEUTICITÀ: nessuna

MODALITÀ DI FREQUENZA: La frequenza non è obbligatoria anche se fortemente raccomandata.

OBIETTIVI FORMATIVI E RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI OBIETTIVI FORMATIVI

Il Corso si propone di approfondire le conoscenze di base nell'ambito della Biologia Molecolare, focalizzando sugli aspetti di tipo tecnico-metodologico e sui meccanismi molecolari alla base della Biologia Cellulare. Il Corso ha anche lo scopo di approfondire alcuni aspetti metodologici nell'ambito della Chimica Analitica. Inoltre, intende fornire agli studenti le nozioni fondamentali nel campo della Bioinformatica e della Spettroscopia delle molecole biologiche.

Conoscenza e capacità di comprensione Il Corso intende fornire sia conoscenze teoriche che pratiche. L'acquisizione delle conoscenze e delle capacità di comprensione desiderate viene stimolata durante i corsi, e verificata al termine dei corsi mediante esami finali opportunamente organizzati. Capacità di applicare conoscenza e comprensione. Il corso di studio coniuga in maniera equilibrata l'attenzione dedicata alle acquisizioni teoriche con lo spazio riservato alle attività pratiche. Per l'ambito bioinformatico, lo studente sarà chiamato a risolvere/discutere mediante collaborazione di gruppo su "case studies" tipici della bioinformatica. Lo studente dovrà essere in grado di valutare l'approccio tecnologico più adatto per risolvere alcuni problemi (biologici/biochimici/chimici) associati allo studio di importanti aspetti della ricerca biomedica. Lo studente riceverà formazione per valutare l'accuratezza delle analisi sperimentali e trattare statisticamente il dato analitico. Autonomia di giudizio. L'apprendimento critico costituisce l'obiettivo fondamentale del corso di studio ed è perseguito in modo sistematico mediante

massimizzazione dell'interazione tra docenti e studenti. Abilità comunicative Le abilità comunicative conseguono dall'adeguata conoscenza delle tematiche e problematiche oggetto della comunicazione e dalla consuetudine a scomporre e riassemblare problemi complessi in elementi di informazione semplici e consequenziali. Il confronto e l'interazione con i docenti sviluppano le capacità acquisite nella direzione di una comunicazione con caratteristiche formali e strutturali più impegnative di quelle previste nella comunicazione tra pari. Le capacità comunicative acquisite potranno essere controllate agevolmente nel corso delle prove di esame. Capacità di apprendimento. L'impostazione didattica del corso è tesa a sviluppare le capacità logiche, organizzative e le motivazioni che stimolano e rendono possibile l'apprendimento permanente autogestito. Allo scopo di sviluppare le sue capacità di apprendimento, lo studente sarà chiamato a collaborare con i colleghi nella soluzione di problemi di bioinformatica/biologia molecolare/spettroscopia/chimica proposti nelle esercitazioni o durante le lezioni frontali. Le attività descritte forniranno allo studente il metodo di lavoro e le capacità organizzative che gli consentiranno di affrontare le problematiche scientifiche e che costituiranno le basi del suo apprendimento permanente.

CONTENUTI DEL CORSO BIOLOGIA MOLECOLARE

Biologia Molecolare: Il programma dell'insegnamento comprende i seguenti argomenti suddivisi in due gruppi principali: (1) Tecniche di Biologia Molecolare: cenni di Biologia Molecolare e richiami di tecniche di base. Principi di base della PCR, RT-PCR e le sue applicazioni, tecniche di clonaggio, tecniche di trasfezione. Tecniche per lo studio di un promotore. Trascrittomica (RNA-seq , single cell RNA-seq, spatial transcriptomics) e tecniche per lo studio delle modificazioni epigenetiche (ChIP-seq, sequenziamento bisolfito, DNAse-seq/ATAC-seq). Silenziamento genico. Editing del DNA. Generazione di animali transgenici. (2) Meccanismi molecolari dei processi biologici: Terapia genica e sue applicazioni. Struttura della cromatina e modificazioni epigenetiche. Gli RNA non codificanti. La famiglia genica di p53. Meccanismi di morte cellulare programmata (apoptosi, necroptosi, ferroptosi). Meccanismi molecolari alla base della senescenza e del differenziamento cellulare. Cellule staminali ed utilizzi terapeutici.

BIOINFORMATICA

Fondamenti di informatica. Banche dati di acidi nucleici, proteine, letteratura. Metodi esaustivi e euristici di allineamento tra sequenze e ricerca di sequenze in banche dati. Fondamenti di Genomica. Tecniche di sequenziamento dei genomi (Sanger, NGS, tecnologie di sequenziamento di terza generazione). Analisi della qualità dei dati di sequenziamento. Assemblaggio di genomi: algoritmi Overlap-Layout-Consensus e Grafo di De Bruijn. Trascrittomica. Metagenomica.

SPETTROSCOPIA DI MOLECOLE BIOLOGICHE

Richiami generali di spettroscopia. La radiazione elettromagnetica. Velocità di propagazione, lunghezza d'onda, frequenza ed energia della radiazione. Quantizzazione dell'energia: fotoni e livelli energetici. Lo spettro elettromagnetico ed i gradi di libertà elettronici, vibrazionali e rotazionali. Richiami di spettroscopia di assorbimento. La legge di Lambert-Beer. Scelta delle condizioni sperimentali. Cromofori di interesse biologico. Solvatocromismo ed ipocromismo. Dicroismo circolare (CD). Luce Polarizzata circolarmente. Chiralità. Fenomeno del dicroismo

circolare. Ellitticità ed ellitticità molare. Descrizione schematica di un dicografo. Scelta delle condizioni sperimentali. Dicroismo circolare e conformazioni di biopolimeri. Determinazione della struttura secondaria di proteine. CD di acidi nucleici. CD indotto. Spettroscopia IR (accenni).
Spettroscopia di fluorescenza. Il fenomeno della luminescenza. Distinzione tra fluorescenza e fosforescenza. Diagramma di Jablonski. Tempo di vita di fluorescenza. Fluorofori. Schema di un fluorimetro. Intensità di emissione. Resa quantica. Il fenomeno del filtro interno. Sensibilità della fluorescenza. Spettri di emissione. Rilassamento del solvente. Spettri di eccitazione. Soppressione della fluorescenza. FRET. Teoria. Efficienza di trasferimento. Applicazioni: GFP e altri metodi di marcatura delle proteine. Anisotropia di fluorescenza. Fotoselezione. Dinamica

CHIMICA ANALITICA

Cifre significative, accuratezza, precisione ed esattezza di un'analisi, Test Q, Test F. Concentrazione di soluzioni: Concetto di Molarità, Normalità, numero di equivalenti. Equilibri acido-base, di precipitazione, di complessazione, di ossido-riduzione, e relative titolazioni. Misure elettrochimiche: potenziometria. Misura pratica del pH. Elettrodi ioni selettivi. Amperometria: Elettrodo ad Ossigeno (Clark) ed elettrodo ad acqua ossigenata, principi di funzionamento. Biosensori, definizione ed esempi, immobilizzazione di enzimi. Biosensori enzimatici, immunosensori, sensori a DNA. Applicazioni dei biosensori nel settore biomedicale.

METODI DIDATTICI

Lezioni frontali Esercitazioni teorico pratiche Partecipazione a seminari selezionati dai docenti

MODALITÀ DI VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO

L'impostazione didattica del corso è tesa a sviluppare le capacità logiche, organizzative e le motivazioni che stimolano e rendono possibile l'apprendimento permanente autogestito. Lo studente viene valutato in base alla sua capacità di apprendere e approfondire gli argomenti trattati attraverso una verifica scritta con domande a risposta aperta. Allo scopo di sviluppare le sue capacità di apprendimento, lo studente sarà chiamato a proporre la soluzione di problemi bioinformatici esaminati nelle esercitazioni, unitamente alla verifica della teoria. Nella valutazione sarà tenuto conto del peso di ciascun modulo in accordo ai CFU assegnati al Modulo. La prova di esame sarà valutata secondo i seguenti criteri: Non idoneo: importanti carenze e/o inaccuratezza nella conoscenza e comprensione degli argomenti; limitate capacità di analisi e sintesi, frequenti generalizzazioni.

18-20: conoscenza e comprensione degli argomenti appena sufficiente con possibili imperfezioni; capacità di analisi sintesi e autonomia di giudizio sufficienti.

21-23: Conoscenza e comprensione degli argomenti routinaria; Capacità di analisi e sintesi corrette con argomentazione logica coerente.

24-26: Discreta conoscenza e comprensione degli argomenti; buone capacità di analisi e sintesi con argomentazioni espresse in modo rigoroso.

27-29: Conoscenza e comprensione degli argomenti completa; notevoli capacità di analisi, sintesi. Buona autonomia di giudizio.

30-30L: Ottimo livello di conoscenza e comprensione degli argomenti. Notevoli capacità di analisi e di sintesi e di autonomia di giudizio. Argomentazioni espresse in modo originale.

TESTI DI RIFERIMENTO

Materiale fornito dal Docente Testi consigliati per argomenti selezionati: • Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani; Tecniche e Metodi per la Biologia molecolare. CEA, casa editrice ambrosiana• Manuela Helmer Citterich, Fabrizio Ferrè, et al. Fondamenti di bioinformatica. Editore Zanichelli ISBN: 9788808621122 • Peter Jomo Walla Modern Biophysical Chemistry. Wiley ISBN 9783527337736

MOLECULAR BIOLOGY AND BIOINFORMATIC AND CHEMICAL METODOLOGIES Coordinator: Prof.ssa Francesca Bernassola

TEACHERS: MOLECULAR BIOLOGY AND BIOINFORMATIC: Prof.ssa Francesca Bernassola (4 CFU), Dott. Artem Smirnov (2 CFU), Dott.ssa Sara Giovannini (1 CFU), Dott.ssa Adelaide Teofani (2 CFU); **SPECTROSCOPY OF BIOLOGICAL MOLECULES**: Prof. Paolo Calligari (2 CFU); **ANALYTICAL CHEMISTRY:** Prof.ssa Fabiana Arduini (2 CFU)

RECAPITI e-mail: bernasso@uniroma2.it; artem.smirnov@uniroma2.it; sara.giovannini@uniroma2.it; Adelaide.Teofani@uniroma2.it; fabiana.arduini@uniroma2.it; paolo.calligari@uniroma2.it

RECEIVING STUDENTS - PLACE AND HOUR: by e-mail appointment with specific teacher.

SSD: BIO/11, CHIM/01, CHIM/02

CFU: 12

YEAR: 1st Year

PRELIMINARY KNOWLEDGES: none

FREQUENCY MODE: Attendance is not compulsory even if it is strongly recommended.

LEARNING OUTCOMES AND EXPECTED LEARNING SKILLS LEARNING OUTCOMES

The educational goal of this Course is to expand upon the basic knowledge on Molecular Biology, focusing on technical and methodological topics as well as on the molecular mechanisms underlying Cell Biology. This Course also aims to deepen some methodological aspects of Analytical Chemistry. Lastly, it is aimed at providing fundamental concepts in the fields of Bioinformatics and Spectroscopy of biological molecules. Knowledge and understanding The course will deeply focus on several aspects of the molecular biology, bioinformatics, spectroscopy and analytical chemistry. The acquisition will be carried on through the 6 support of texts and theoretical e/o practical exercises. The acquisition of the desired knowledge and comprehension skills is stimulated during the courses, and verified, after the courses have been completed, through a properly organized final exam. Applying knowledge and understanding The course combines in a balanced way the theoretical acquisitions with the space reserved for practical activities, in order to train students able to apply the acquired methods. For bioinformatics, practical exercises will be proposed on case studies, that the student will be asked to solve / discuss through group collaboration. The student will gain skill to decide the more suitable methodological approach to use to solve problems (biological/chemical/biochemical) linked to study important aspects of biomedical research. The student will gain skills to evaluate the accuracy of the experimental measurements and statistics and data handling in analytical chemistry. Making judgements Critical learning is the

fundamental objective of the course of study and is pursued in a systematic way by maximizing the interaction between teachers and students. Communication skills Communication skills derive from an adequate knowledge of the issues and problems that are the subject of communication and from the practice of breaking down and re-assembling complex problems into simple and consequential information elements. The comparison and interaction with the teachers develop the skills acquired in the direction of a communication with more formal and structural characteristics than those foreseen in peer communication. The acquired communication skills can be easily controlled during the exam. Learning skills The didactic approach of the course is aimed at developing the logical and organizational skills and motivations that stimulate and make self-managed lifelong learning possible. In order to develop his learning skills, the student will be asked to collaborate with colleagues in solving bioinformatics/molecular biology/spectroscopy/analytical chemistry problems proposed in the exercises and/or during frontal lessons. The activities described will provide the student with the working method and organizational skills that will enable him to face the scientific problems and which will be the basis of his lifelong learning.

Principi di base della PCR, RT-PCR e le sue applicazioni, tecniche di clonaggio, tecniche di trasfezione. Tecniche per lo studio di un promotore. Tecniche per lo studio delle modificazioni epigenetiche (ChIP-seq, sequenziamento bisolfito, DNAse-seq/ATAC-seq).

PROGRAM MOLECULAR BIOLOGY

The teaching program includes the following topics divided in two main sub-groups: (1) Molecular biology techniques: Brief hints of basic molecular biology and basic molecular biology techniques. Cloning methods. Transcriptomics technologies (RNA-seq , single cell RNA-seq, spatial transcriptomics) and methods to study epigenetic modifications (ChIP-seq, bisulfite sequencing, DNAse-seq/ATAC-seq). Techniques to study a promoter region (single gene and wide genomic approach). Techniques for cell transfection, gene silencing. Real-time PCR and its applications. DNA editing and its applications. Generation of transgenic mice. (2) Molecular mechanisms underlying relevant biological processes: Basic concept of gene therapy and its applications. Role of noncoding RNA (microRNA, eRNA, circRNA, lncRNA) in controlling gene expression. Chromatin structure and epigenetic modifications. Role of p53 and its family members in development and diseases. Molecular mechanisms of cell death (apoptosis, necroptosis, ferroptosis). Molecular mechanisms of cell differentiation and senescence. Stem cells and therapeutic applications.

BIOINFORMATIC

Computer science basics. Biological databases: nucleic acids, proteins and literature. Exhaustive and euristic algorithms to compare biological sequences. Search biological sequences in public databases. Genomic basics. DNA Sequencing Technologies (Sanger, NGS, third generation sequencing). Sequencing quality control. Genome assembly: Overlap-Layout-Consensus alghoritms and De Bruijn Graph. Transcriptomics. Metagenomics.

SPECTROSCOPY OF BIOLOGICAL MOLECULES

Fundamentals of spectroscopy: Electromagnetic radiation. Velocity of light, wavelength, frequency and photon energy. Energy quantization: photons and energy levels. Electromagnetic

spectrum and molecular degrees of freedom. UV-Vis Absorption spectroscopy. Lambert Beer law. Optimization of experimental conditions. Choice of experimental conditions. Biological chromophores. Solvatochromism and hypochromism. Circular dichroism. Circularly polarized light. Chirality. Circular Dichroism. Experimental setup. Optimization of experimental conditions. CD and biopolymer conformations. Determination of protein secondary structure. CD of nucleic acids. Induced CD. IR Absorption spectroscopy IR spectra of proteins. IR and secondary structure. IR spectra as molecular fingerprints. Fluorescence spectroscopy. Luminescence. Fluorescence and phosphorescence. Jablonski diagram. Fluorescence lifetime. Fluorophores. Fluorimeters. Emission intensity. Quantum yield. Inner filter effect. Fluorescence sensitivity. Emission spectra. Solvent relaxation. Excitation spectra. Fluorescence quenching. FRET. Protein labeling. GFP. Fluorescence anisotropy.

ANALYTICAL CHEMISTRY

Accuracy, precision, trueness, Test Q, Test F. Molarity, Normality. Acid-base titrations, precipitation titrations, complexometric titrations, redox titrations. Electrochemical measurements. Potentiometry: pH sensor, sensors for sodium, potassium, fluoride and ammonia detection. Amperometry: sensors for oxygen and hydrogen peroxide measurement, Biosensors: enzymatic biosensors for glucose and lactate measurement, inhibitive biosensors. Immunosensors. DNA sensors. Examples of biosensors applied in biomedical fields**.**

TEACHING METHODS

Frontal lessons 8 Practical and theoretical exercises Seminars suggested by the teachers.

LEARNING ASSESSMENT

The didactic approach of the course is aimed at developing the logical and organizational skills and motivations that stimulate and make self-managed lifelong learning possible. The student will be evaluated on the basis of her/his capabilities to learn and elaborate on the teaching topics through a written exam with open questions. In order to develop his learning skills, the student will be asked to solve bioinformatics problems similar to those proposed in the practical exercises. The evaluation will take into account the weight of each module according to the credits assigned to the module. The exam will be assessed according to the following criteria: Not suitable: important deficiencies and / or inaccuracies in knowledge and understanding of the topics; limited capacity for analysis and synthesis, frequent generalizations.

18-20: knowledge and understanding of the topics just sufficient with possible imperfections; sufficient capacity for synthesis analysis and autonomy of judgment.

21-23: Routine knowledge and understanding of topics; Ability to correct analysis and synthesis with coherent logical argumentation.

24-26: Fair knowledge and understanding of the topics; good analysis and synthesis skills with rigorously expressed arguments.

27-29: Complete knowledge and understanding of the topics; remarkable skills of analysis, synthesis. Good autonomy of judgment.

30-30L: Excellent level of knowledge and understanding of the topics. Remarkable capacity for analysis and synthesis and autonomy of judgment. Arguments expressed in an original way.

BIBLIOGRAPHY

Materials provided by the teachers. Selected textbook: • Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani; Tecniche e Metodi per la Biologia molecolare. CEA, casa editrice ambrosiana • Manuela Helmer Citterich, Fabrizio Ferrè, et al. Fondamenti di bioinformatica. Editore Zanichelli ISBN: 9788808621122 • Peter Jomo Walla Modern Biophysical Chemistry. Wiley ISBN 9783527337736