

ANALISI DI ESPRESSIONE GENICA **corso integrato di *Genomica Funzionale***

Codice Disciplina : BT007 Codice Corso integrato : BT006	Settore: BIO/10	N° CFU: 4
Docente: Chiorino Giovanna	Ore : 32	Corso di Laurea : Biotechnologie Mediche Anno : I Semestre : I

Obiettivo del modulo

Apprendimento dell'utilizzo della tecnologia dei microarrays ad oligonucleotidi per analizzare l'espressione genica su vasta scala.

Conoscenze ed abilità attese

Si prevede di formare gli studenti al fine di renderli in grado di comprendere le tematiche inerenti l'analisi dell'espressione genica su vasta scala, incluse le problematiche ad essa connesse (qualità del campione di partenza, necessità di repliche sperimentali, approccio interdisciplinare nella programmazione e nell'analisi degli esperimenti, capacità di archiviazione e di calcolo degli elaboratori, etc).

Programma del corso

Lezione 1: introduzione all'analisi dell'espressione genica su vasta scala

- Background biologico
 - DNA, RNA, retrotrascrizione, ibridazione
 - Dal Northern blot al microarray
- Tipologie di microarray per analisi dell'espressione genica
 - Diverse tipologie di supporto e di target
 - Glass array
 - GeneChip
 - Expression BeadArray
 - Ibridazione comparativa “two color”
 - Procedura “one color”

Lezione 2: qualità del campione, amplificazione e marcatura dell'RNA, ibridazione e scansione

- Scelta del campione e del riferimento
 - Conservazione dei campioni
 - Microdissezione
- Estrazione e controllo qualità RNA
 - Elettroferogrammi per RNA totale
- Amplificazione e marcatura
 - Marcatura diretta, indiretta, con dendrimeri
 - Controllo qualità mRNA amplificato e marcato
 - Elettroferogrammi per mRNA
- Ibridazione e scansione
 - Ibridazione comparativa
 - Scanner a doppio laser, “eXtended Dynamic Range” (XDR)

Lezione 3: workflow sperimentale – analitico, analisi immagine e pre-processing dei dati

- Workflow sperimentale – analitico
 - Problema biologico
 - Disegno dell'esperimento

- Analisi dei dati
- Interpretazione e validazione risultati
- Analisi immagine
 - Feature Extraction
- Pre-processing dei dati
 - Sottrazione background
 - Normalizzazione
 - Intra-array
 - Inter-array

Lezione 4: elaborazione dei dati, annotazione funzionale

- Class discovery
 - Clustering
 - Misure di similarità
- Class comparison
 - Identificazione di geni differenzialmente espressi
 - Fold-change vs significatività statistica
 - Multiple testing
- Annotazione funzionale
 - Gene Ontology, DAVID tools
 - Gene set enrichment analysis
 - Metacore
- Database online di Gene expression
 - GEO, Array Express
 - Oncomine
- Class prediction

Lezione 5: applicazioni in campo oncologico

- Pathways molecolari alterati nelle lesioni melanocitarie
 - Class comparison
 - Analisi non supervisionata
- Profili di espressione genica nel tumore della mammella
 - Rilevanza diagnostica
 - Rilevanza prognostica
 - Fattori predittivi
 - Profili molecolari predittivi di risposta a terapia neo-adiuvante con Anastrozolo

Esercitazioni

Gruppi di 5 studenti per volta frequenteranno il Laboratorio di Farmacogenomica dei Tumori della Fondazione “Edo ed Elvo Tempia Valenta” per due giornate, nella prima delle quali seguiranno le procedure di estrazione dell’RNA totale da campioni di tessuto congelato e/o fissato, ne controlleranno la qualità mediante utilizzo di Bioanalyzer, imparando ad interpretare gli elettroferogrammi da esso prodotti, effettueranno l’amplificazione e la marcatura dei campioni (con Cy3 e Cy5), seguiranno l’ibridazione dei campioni su vetrino a microarray. Nella seconda giornata, tutti gli studenti potranno seguire la scansione del vetrino, l’acquisizione e l’analisi delle immagini, l’analisi dei dati e l’annotazione funzionale dei risultati.

Attività a scelta dello studente

- Presentazione di articoli scientifici inerenti l’utilizzo della tecnologia dei microarrays
- Approfondimento di una metodica sperimentale
- Approfondimento di una metodica di analisi dei dati

Supporti alla didattica in uso alla docenza

Videoproiettore

Strumenti didattici

Diapositive power point, messe a disposizione degli studenti

Materiali di consumo previsti

Reagenti per l'analisi di un vetrino contenente 4 arrays ad oligonucleotidi rappresentanti tutto il genoma umano

Eventuale bibliografia

Verifica dell'apprendimento

Esame scritto con domande aperte
Presentazione di un articolo scientifico a scelta dello studente