



# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA TOR VERGATA

## Corso di Laurea Magistrale in Biotecnologie Mediche

BIOTECNOLOGIE MOLECOLARI E CELLULARI  
Coordinatore: Prof.ssa Silvia Biocca

**DOCENTI:** IMMUNOTECNOLOGIA, PROTEOMICA E CHIMICA DELLE FERMENTAZIONI: Prof.ssa Silvia Biocca (2 CFU), Prof. Sergio Bernardini (2 CFU), Prof.ssa Rossella Menghini (2 CFU). BIOLOGIA APPLICATA: Prof.ssa Silvia Anna Ciafrè (2 CFU)

**RECAPITI** email: [biocca@med.uniroma2.it](mailto:biocca@med.uniroma2.it); [bernards@uniroma2.it](mailto:bernards@uniroma2.it); [menghini@med.uniroma2.it](mailto:menghini@med.uniroma2.it); [ciafre@uniroma2.it](mailto:ciafre@uniroma2.it)

**LUOGO E ORARIO DI RICEVIMENTO:** stanza F118, Edificio F sud, I° piano, su appuntamento (Prof.ssa S. Biocca); per appuntamento mediante email (Prof. S. Bernardini); Facoltà di Medicina, F sud, stanza 241. Martedì 12.00-13.00 (Prof.ssa R. Menghini); stanza E60, edificio E nord, piano 0, lunedì ore 15-17 (Prof.ssa S. A. Ciafrè)

**SSD:** **BIO/12, CHIM/11, BIO/13**

**CFU:** 8

**ANNO DI CORSO:** **I anno**

**PROPEDEUTICITÀ:** nessuna

**MODALITÀ DI FREQUENZA:** Obbligatoria per il 66% delle lezioni frontali.

### OBIETTIVI FORMATIVI

#### Conoscenza e capacità di comprensione

Gli studenti dovranno aver compreso i concetti principali della biosintesi e della modalità di azione dei microRNA, oltre che l'importanza di questi ultimi in fisiologia e nella patologia. Il corso prepara gli studenti alla comprensione teorica e pratica delle principali tecnologie che riguardano la produzione di anticorpi ricombinanti e frammenti anticorpali ad attività diagnostica e terapeutica e le tecniche di separazione in alta risoluzione di proteine da miscele complesse e le loro applicazioni in campo medico. Inoltre il corso mira all'apprendimento di alcuni aspetti di biochimica, biologia molecolare, microbiologia e chimica delle fermentazioni e delle principali metodologie e strategie utilizzate nello sviluppo di processi industriali di interesse biotecnologico.

#### Capacità di applicare conoscenza e comprensione

Le conoscenze apprese si dovranno tradurre nella comprensione di come si possa intervenire biotecnologicamente per misurare i microRNA come marcatori biologici o per modularli come bersagli terapeutici; per comprendere il meccanismo molecolare di produzione e funzione di alcuni anticorpi ricombinanti più utilizzati in clinica sia per uso diagnostico che terapeutico; per comprendere ed utilizzare in campo medico le tecniche di separazione in alta risoluzione di proteine da miscele complesse; per delineare strategie di

utilizzo e manipolazione di microrganismi nella produzione industriale, con particolare interesse allo sviluppo di prodotti farmaceutici.

### **Autonomia di giudizio**

Durante il corso delle lezioni si favorirà l'acquisizione di autonomia di giudizio stimolando domande e discussioni in aula sugli argomenti inerenti la produzione di repertori molecolari e la funzione degli anticorpi ricombinanti in biomedicina e le tecniche di separazione in alta risoluzione di proteine da miscele complesse. Gli studenti dovranno essere in grado di giudicare autonomamente l'applicabilità delle conoscenze apprese in ambito biotecnologico e descrivere strategie volte allo sviluppo di processi di fermentazione industriale con analisi dettagliata dei parametri critici e delle risoluzioni di eventuali problematiche.

### **Abilità comunicative**

La capacità di apprendere e di comunicare degli studenti sarà verificata attraverso continue interazioni tra docente e studenti in aula e promuovendo discussioni e domande. Gli studenti dovranno essere in grado di spiegare ad altri ciò che hanno appreso e come impiegherebbero le conoscenze acquisite per esempio per la scelta, utilizzo e manipolazione di microrganismi nella produzione industriale di prodotti biologici e proteine eterologhe di interesse clinico e farmacologico.

### **Capacità di apprendimento**

La capacità di apprendimento degli studenti sarà verificata tramite un elaborato scritto e un colloquio orale, in cui le nuove conoscenze acquisite verranno inserite in un contesto più ampio di conoscenze di biochimica, biologia molecolare, microbiologia e chimica delle fermentazioni e dei meccanismi molecolari delle immunotecnologie.

## **CONTENUTI DEL CORSO**

### **BIOLOGIA APPLICATA**

Rilevanza degli RNA non codificanti nella complessità fenotipica eucariotica.

MicroRNA: la storia della loro scoperta; biogenesi, processamento e loro regolazione; ruolo come regolatori fini dell'espressione genica eucariotica; modalità di riconoscimento dei target e modalità di azione. MicroRNA e cancro: ruolo come oncogeni e oncosoppressori; esempi specifici e meccanismi che portano ad espressione aberrante di specifici microRNA nei tumori; microRNA e processo di metastatizzazione: esempi specifici.

Interazioni tra microRNA e RNA non codificanti: il caso dei ceRNA (competing endogenous RNA).

Applicazioni biotecnologiche dei microRNA: utilizzo di siti target per microRNA per indirizzare l'espressione di transgeni in maniera tessuto-specifica; metodi per inibire l'espressione di microRNA endogeni o per reintegrare l'espressione di microRNA persa in condizioni patologiche.

MicroRNA nei liquidi biologici: origine e utilizzo come marcatori di patologie; metodi per la rilevazione e misurazione; esempi specifici. Classi di piccole molecole di RNA non codificanti che possono essere impiegati in biotecnologia per inibire o modificare l'espressione di geni endogeni: siRNA, antisenso, oligonucleotidi che inibiscono la traduzione, oligonucleotidi che modificano lo splicing ecc.

I sistemi CRISPR-Cas: basi molecolari e impiego in biotecnologie.

## IMMUNOTECONOLOGIA, PROTEOMICA E CHIMICA DELLE FERMENTAZIONI

Le immunotecnologie: verso un sistema immunitario artificiale.

Anticorpi policlonali, monoclonali e ricombinanti. Dagli anticorpi monoclonali alle librerie fagiche: metodi di produzione e selezione di frammenti anticorpali *in vitro*. Il sistema del fago filamentoso M13 e la selezione degli anticorpi dalle librerie fagiche. Diversi tipi di immunità: immunità attiva e passiva. Applicazione degli anticorpi ricombinanti in clinica. Farmacocinetica degli anticorpi e dei frammenti anticorpali. Anticorpi terapeutici nelle patologie umane: terapie anti-virali, in oncologia (esempi tipo il Trasduzumab/Herceptin) e nelle malattie neurodegenerative. Gli anticorpi intracellulari: indirizzamento di anticorpi ricombinanti in differenti compartimenti intracellulari e loro modalità d'azione. Esempi di applicazioni. Immunotossine e immunoconiugati.

Tecniche di separazione in alta risoluzione di proteine da miscele complesse. Spettrometria di Massa, principi di base. Spettrometria di Massa MALDI-TOF-MS, MALDI-TOF/TOF-MS/MS e decadimenti post-sorgente di proteine e peptidi. Spettrometria di Massa LC-MS e MS/MS di proteine e peptidi, analizzatori ibridi Q-TOF, triplo quadrupolo e trappole ioniche. Interpretazione dei dati di MS e MS/MS per sequenze proteiche. Interpretazione dei dati di MS e MS/MS su banche dati di proteine e geni. Sviluppo e disegno di esperimenti con codifica isotopica stabile (SILAC, ICAT, TMT, ITRAQ, etc). Modelli uni- e multivariati di classificazione clinica basati su dati di proteomica. Proteoma del plasma ed urinario relazioni con funzionalità renale. Proteoma liquorale ed indagini di neuroscienze cliniche. Proteomica di sistemi modello in-vitro ed ex-vivo. Correlazione ragionata vie metaboliche ed espressione proteica, ontologie geniche/proteiche.

Sviluppo di processi di fermentazione industriale. Produzione di enzimi. Produzione di acidi organici. Produzione di amminoacidi. Produzione di vitamine. Produzione di antibiotici. Produzione di probiotici. Produzione di farmaci biotecnologici.

**METODI DIDATTICI:** lezioni frontali

**MODALITÀ DI VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO:** prova scritta con domande a risposta aperta seguita da colloquio orale

### **TESTI DI RIFERIMENTO:**

Per seguire il corso è necessario conoscere bene le basi della Biologia Molecolare e Cellulare. Gli argomenti trattati sono descritti in articoli selezionati dalla letteratura scientifica più aggiornata, i cui testi verranno forniti agli studenti dal docente.

Chimica e biotecnologia delle fermentazioni industriali. Autore: Michele M. Bianchi Edizioni Nuova Cultura

Biotecnologie microbiche. Autori: Stefano Donadio, Gennaro Marino Casa Editrice Ambrosiana



# UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI ROMA "TOR VERGATA"

## *Master Degree in Medical Biotechnology*

MOLECULAR AND CELLULAR BIOTECHNOLOGIES  
Coordinator: Prof. Silvia Biocca

**TEACHERS:** IMMUNOTECHNOLOGY, PROTEOMICS AND FERMENTATION  
**CHEMISTRY:** Prof. Silvia Biocca (2 CFU), Prof. Sergio Bernardini (2 CFU), Prof. Rossella Menghini (2 CFU). **APPLIED BIOLOGY:** Prof. Silvia Anna Ciafrè (2 CFU)

**E-mail ADDRESS:** [biocca@med.uniroma2.it](mailto:biocca@med.uniroma2.it); [bernards@uniroma2.it](mailto:bernards@uniroma2.it);  
[menghini@med.uniroma2.it](mailto:menghini@med.uniroma2.it); [ciafre@uniroma2.it](mailto:ciafre@uniroma2.it)

**RECEIVING STUDENTS - PLACE AND HOUR:** Room F118, Building F south, 1st floor, by appointment (Prof. S. Biocca); by email appointment (Prof. S. Bernardini); Faculty of Medicine, F south, room 241. Tuesday 12.00-13.00 (Prof. R. Menghini); Room E60, Building E north, floor 0, Monday at 15-17 (Prof. S. A. Ciafrè)

**SSD:** **BIO12, CHIM/11, BIO13**

**CFU:** 8

**YEAR:** 1<sup>st</sup> Year

**PRELIMINARY KNOWLEDGES:** no previous exam needed

**FREQUENCY MODE:** in class attendance to lessons (**required 66% out of total**)

### EDUCATIONAL GOALS

#### **Knowledge and understanding**

At the end of the course, students must have understood the main concepts of the biosynthesis and mode of action of microRNAs, as well as the importance of the latter in the physiology and pathology. The course aims at preparing students for the theoretical and practical understanding of the main technologies concerning the production of recombinant antibodies and antibody fragments for diagnostic and therapeutic activities and the high-resolution separation techniques of proteins from complex mixtures and their applications in the medical field. In addition, the course aims at learning some aspects of biochemistry, molecular biology, microbiology and fermentation chemistry and the main methodologies and strategies used in the development of industrial processes of biotechnological interest.

#### **Applying knowledge and understanding**

The new concepts achieved during this course should lead to the comprehension of how biotechnological action can be taken to measure microRNAs as biological markers or to modulate them as therapeutic targets; to understand the molecular mechanism of production and function of some recombinant antibodies most used in the clinic both for diagnostic and therapeutic use to understand and use the high-resolution separation techniques of proteins from complex mixtures in the medical field; to project strategies for

the use and manipulation of microorganisms in industrial production, with particular interest in the development of pharmaceutical products.

### **Making judgements**

During the period of the lessons, the teacher will favor the acquisition of making judgments by students stimulating questions and discussions in the classroom on topics related to the production of molecular repertoires and the function of recombinant antibodies in biomedicine and the separation techniques of proteins from complex mixture. At the end of this course, students must be able to autonomously judge the possibility of applying the acquired knowledge in a biotechnological context, and to describe strategies aimed at developing industrial fermentation processes with detailed analysis of critical parameters and resolution of any problems.

### **Communication skills**

Students' ability to learn and communicate will be verified through continuous interactions between teacher and students in the classroom and promoting discussions and questions. Students must be able to explain to others what they have learnt and how they would employ the acquired knowledge for example for the selection, use and manipulation of microorganisms in the industrial production of biological products and heterologous proteins of clinical and pharmacological interest.

### **Learning skills**

Students' learning skills will be judged by a written text followed by an oral exam, where the newly achieved knowledge will be discussed in a wider context of knowledge of biochemistry, molecular biology, microbiology and fermentation chemistry and of the molecular mechanisms of immunotechnologies.

## **PROGRAM**

### **IMMUNOTECHNOLOGY, PROTEOMICS, AND FERMENTATION CHEMISTRY**

The immunotechnology: toward an artificial immune system. Polyclonal, monoclonal and recombinant antibodies. From monoclonal antibodies to phage libraries: methods for in vitro production and selection of antibody fragments. The phage display system. Different types of immunity: active and passive. Application of recombinant antibodies in therapy. Pharmacokinetic of antibodies and antibody fragments. Examples of therapeutic use of antibodies in different pathologies: Infectious, tumors and neurodegenerative diseases. The intracellular antibodies: recombinant antibody targeting to different intracellular compartments; their mode of action and examples of applications. Immunotoxins and immunoconjugates.

High resolution protein separation techniques from complex mixtures. Mass spectrometry, basic principles. MALDI-TOF-MS, MALDI-TOF / TOF-MS / MS mass spectrometry and post-source decay of proteins and peptides. LC-MS and MS / MS mass spectrometry of proteins and peptides, Q-TOF hybrid analyzers, triple, quadrupole and ionic traps. Interpretation of MS and MS / MS data for protein sequences. Interpretation of MS and MS / MS data on protein and gene databases. Development and design of experiments with stable isotopic coding (SILAC, ICAT, TMT, ITRAQ, etc). Uni- and multivariate models of clinical classification based on proteomic data. Protein of plasma and urinary relations with renal function. Liquor proteome and clinical neuroscience investigations. Proteomics of in-vitro and ex-vivo model systems. Reasoned correlation of metabolic pathways and protein expression, gene / protein ontologies.

Development of industrial fermentation processes. Enzyme production. Production of organic acids. Production of amino acids. Vitamin production. Production of antibiotics. Probiotic production. Production of biotechnological drugs.

### **APPLIED BIOLOGY**

Relevance of non-coding RNAs in eukaryotic phenotypic complexity.

MicroRNAs: the story of their discovery, biogenesis, processing and their regulation; role as fine regulators of eukaryotic gene expression; target recognition methods and modes of action.

MicroRNAs and cancer: role as oncogenes and tumor suppressor genes, specific examples and mechanisms that lead to aberrant expression of specific microRNAs in tumors; microRNAs and metastasis processes: specific examples.

Interactions between miRNAs and non-coding RNAs: the case of ceRNAs (competing endogenous RNAs).

Biotechnological applications of microRNAs: use of target sites for microRNAs to target the expression of transgenes in a tissue-specific manner; methods to inhibit the expression of endogenous microRNAs or for the restoration of the expression of microRNA lost in pathological conditions.

MicroRNAs in biological fluids: origin and use as markers of disease; methods for the detection and measurement; specific examples.

Classes of small non-coding RNA molecules that can be employed in biotechnology to inhibit or modify the expression of endogenous genes: siRNAs, antisense oligonucleotides that inhibit translation, oligonucleotides that change the splicing etc.

CRISPR-Cas systems: molecular basis and use in biotechnology.

### **TEACHING METHODS**

The course includes lectures

### **LEARNING ASSESSMENT**

Written and oral exams

### **BIBLIOGRAPHY**

To attend the course it is necessary to know well the basics of Molecular and Cellular Biology. The topics of the lectures are described in articles selected from the most updated scientific literature, the texts of which will be provided to students by the teacher.