

Programma dettagliato del corso di Patologia Molecolare

Relazione struttura-funzione-fenotipo: la Fibrosi Cistica come esempio di patologia complessa con basi molecolari note

- Breve storia della Fibrosi Cistica
- La Fibrosi Cistica: una sindrome complessa. Il fenotipo della fibrosi cistica. Problemi all'apparato respiratorio, digestivo, disfunzioni pancreatiche a livello esocrino ed endocrino, diabete, problemi all'apparato genitale, suscettibilità alle infezioni, steatorrea, avitaminosi, osteoporosi
- Basi genetiche della Fibrosi Cistica: il gene CFTR
- Basi Molecolari della Fibrosi Cistica: la proteina CFTR e il suo ruolo fisiologico di trasportatore del cloro
- Mutazioni nel gene della fibrosi cistica: $\Delta F508$, classi di mutazioni: relazione struttura-funzione-quadro clinico
- Terapia attuale della CF e prospettive future

Banche dati online importanti per la Patologia Molecolare

- Online Mendelian Inheritance in Man: la banca dati OMIM. Tipi di records, ricerche incrociate attraverso l'utilizzo di limits
- Per trovare, con un'unica ricerca, tutti i records su un certo argomento in tutte le banche dati disponibili sul sito dell'NCBI: la pagina ENTREZ

Le proteine non funzionano da sole: cenni sui networks di interazioni proteina-proteina

- Visualizzazione di networks di interazione con la banca dati MINT
- Metodi sperimentali per l'identificazione di networks di interazioni: la strategia TAP
- Flussi di informazione intracellulare basati su networks di interazioni proteiche: le catene di trasduzione del segnale.

Patologia Molecolare dei tumori

- Cos'è il cancro: l'importanza di una definizione 'operativa'
- Natura clonale del cancro
- Stadi della progressione tumorale: Iniziazione, Promozione, Progressione, Invasività e Metastasi.
- Classificazione dei tumori e sua rilevanza nella ricerca e nella clinica.
- Le basi genetiche del cancro: considerazioni generali di tipo statistico sulla frequenza di mutazione rispetto alla frequenza di insorgenza della malattia
- Cenni di Epidemiologia del cancro
- Mutazioni dominanti e recessive: oncogeni e tumor suppressors
- Instabilità genetica delle cellule tumorali
- Predisposizione genetica ereditaria al cancro: BRCA1, RB, p53, difetti multigenici, metabolismo cellulare di agenti cancerogeni.
- Importanza di fattori epigenetici
- Caratteristiche che deve acquisire una cellula per diventare tumorale: il cancro come fenotipo complesso, non limitato ad aspetti che riguardano la regolazione della

proliferazione. Cenni sui pathways molecolari coinvolti nei diversi aspetti dello sviluppo tumorale.

- **Autosufficienza nei segnali di crescita:** diverse strategie molecolari. Loops autocrini, alterazioni del signalling, la cascata di RAS
- L'importanza del microambiente: i tumori come tessuti complessi, non costituiti unicamente da cellule tumorali
- **Mancata risposta a segnali di inibizione della crescita.** RB e E2F. Meccanismi di inattivazione di RB. Sovraespressione di Myc e inibizione del differenziamento: Myc, Mad e Max e i loro eterodimeri
- **Evitare l'apoptosi.** P53, Bcl-2, Bax e Citocromo-C
- **Senescenza e immortalizzazione.** Ruolo dei telomeri
- **Stimolazione dell'angiogenesi.** VEGF
- **Fenotipo invasivo e metastatico.** Secrezione di proteasi, molecole di adesione

Utilizzo di tecnologie high throughput nella ricerca sul cancro

- Rilevanza generale di genomica e proteomica nella pratica clinica
- Identificazione di markers tumorali. Importanza dei markers tumorali nella prevenzione e stadiazione/classificazione dei tumori. Markers semplici (singole proteine) e "signatures" complesse
- SNPs e mappatura dei geni malattia
- Il problema dell'eterogeneità negli esperimenti di profiling. Laser Capture Microdissection.
- Tecniche di Microarrays. Sistema affymetrix e "a c-dna". Applicazioni, l'esempio del DLBCL (Diffused Large B-Cell Lymphoma)
- Il cancro come malattia "proteomica" o di pathways molecolari
- Aspetti tecnici della proteomica. 2D gels, cenni di spettrometria di massa: peptide fingerprinting, identificazione di modificazioni post-traduzionali, SELDI-TOF per l'analisi di misture complesse.
- Ruolo delle modificazioni post-traduzionali nella trasduzione del segnale (esempio della fosforilazione: trasduzione del segnale di fattori di crescita, attivazione di NF-kB)
- Analisi comparativa dei livelli di proteine in 2 campioni: la strategia ICAT

Le basi molecolari dell'immunità innata

- Differenza tra immunità innata o naturale e immunità acquisita o adattativa
- I concetti di specificità, affinità, avidità
- Le molecole dell'immunità naturale
 - Concetti generali: Pattern Recognition Receptors (PRR) e Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMP)
 - Caratteristiche dei PRR
 - Recettori solubili extracellulari. Collettine e pentrassine. La struttura multimerica di MBL come esempio di molecola a bassa affinità ma alta avidità
 - Recettori di membrana. Recettori per i peptidi formilati, Toll-like receptors, CD14. Il dominio TIR (Toll-like IL-1 Receptor domain)
 - Trasduzione del segnale dai Toll-like receptors
 - Meccanismo di attivazione di NF-kB
 - Distinzione tra sensing e meccanismi effettori