



SELEZIONE PUBBLICA N. 2025N1, PER TITOLI ED ESAMI, PER L'ASSUNZIONE A TEMPO INDETERMINATO E PIENO DI N. 1 PERSONA NELL'AREA DEI FUNZIONARI, SETTORE "SCIENTIFICO-TECNOLOGICO", PRESSO L'UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA - TECNICO DI LABORATORIO DI BIOLOGIA CELLULARE, MOLECOLARE E BIOINFORMATICO.

QUESITI PROVA PRATICA

QUESITO n. 1

Lo "*splitting*" di una coltura cellulare costituisce una procedura generica e frequente, seppur fondamentale, della biologia cellulare.

Preparare la postazione di lavoro ed effettuare lo "*splitting*" di una coltura cellulare in monostrato. Interagire con i Commissari, motivando le proprie scelte e descrivendo i singoli passaggi del procedimento.

QUESITO n. 2

La citotossicità è una condizione di stress cellulare che può essere provocata da fattori diversi, tra cui l'esposizione a xenobiotici. I saggi di citotossicità vengono utilizzati per valutare gli effetti di uno xenobiotico e rappresentano validi saggi di *screening* farmaco-tossicologico.

Allo scopo di eseguire un test di citotossicità, preparare le diluizioni 1 mM, 100 μ M, 10 μ M, 1 μ M e 0,1 μ M di uno xenobiotico nel terreno di coltura, prevedendo una contrazione finale di solvente (DMSO) pari allo 0,1%. Interagire con i Commissari, motivando le proprie scelte e descrivendo i singoli passaggi del procedimento.

QUESITO n. 3

Il sequenziamento dell'RNA (RNA-seq) è una tecnica che fornisce informazioni dettagliate sugli effetti di uno xenobiotico sull'intero trascrittoma di un individuo ad esso esposto in un dato momento e contesto biologico.

A partire da una lista di geni differenzialmente espressi, ottenuti da un esperimento di RNA-seq (controllo vs trattato), proporre un'analisi funzionale completa utilizzando *software* e *repository online* per l'analisi di *pathway* e/o *Gene Ontology* (GO). Interagire con i Commissari, motivando le proprie scelte e descrivendo i singoli passaggi del procedimento.

QUESITO n. 4

La PCR quantitativa (qPCR), nota anche come *Real time* PCR, è una tecnica di biologia molecolare ampiamente utilizzata, anche in ambito farmaco-tossicologico veterinario, per amplificare e quantificare l'espressione di specifici trascritti modulati o meno dall'esposizione a xenobiotici.

Verificare la specificità e l'affidabilità di una coppia di *primers* ottenuti dalla letteratura e necessari per uno studio di espressione genica in qPCR. Interagire con i Commissari, spiegando e giustificando le proprie scelte e descrivendo i singoli passaggi del procedimento eseguiti.

Sequenza primers

Forward: 5'-GTTCCGGCCAGAGAGATTCC-3'

Reverse: 5'-CATGACCTCCCCTATGCACC-3'

Trascritto in analisi

Bos taurus cytochrome P450 family 1 subfamily A member 2 (CYP1A2)

Ensembl Transcript ID

ENSBTAT00000000094

QUESITO n. 5

Analogamente ad altre discipline delle scienze della vita, l'estrazione e la purificazione degli acidi nucleici rappresenta uno *step* fondamentale e prioritario per molte tecniche di biologia molecolare, tra cui la PCR quantitativa *Real time* (qPCR) e la preparazione di librerie per l'esecuzione di indagini di *next generation sequencing* (NGS).

Eseguire un'estrazione di RNA totale da tessuto. Più specificamente: (a) preparare la postazione di lavoro scegliendo i reagenti ed il materiale necessario; (b) procedere con l'estrazione. Interagire con i Commissari, motivando le proprie scelte e descrivendo i singoli passaggi del procedimento.

QUESITO n. 6

L'analisi dell'espressione di geni *target* consente di misurare, tanto *in vitro* quanto *ex vivo* ed *in vivo*, le variazioni nella quantità di RNAm di quel dato gene conseguentemente all'esposizione a xenobiotici in diverse condizioni sperimentali.

Progettare un saggio di espressione genica tramite PCR quantitativa *Real time* (qPCR) per analizzare l'espressione di due geni *target*, i.e. la glutatione perossidasi di tipo 3 (GPX3) ed il *tumour necrosis factor alpha* (TNF α), in due gruppi sperimentali (controllo e trattato), ciascuno composto da 5 campioni. Utilizzare la gliceraldeide-3- fosfato deidrogenasi (GAPDH) come gene *reference* per la normalizzazione. Interagire con i Commissari, motivando le proprie scelte e descrivendo i singoli passaggi del procedimento.