

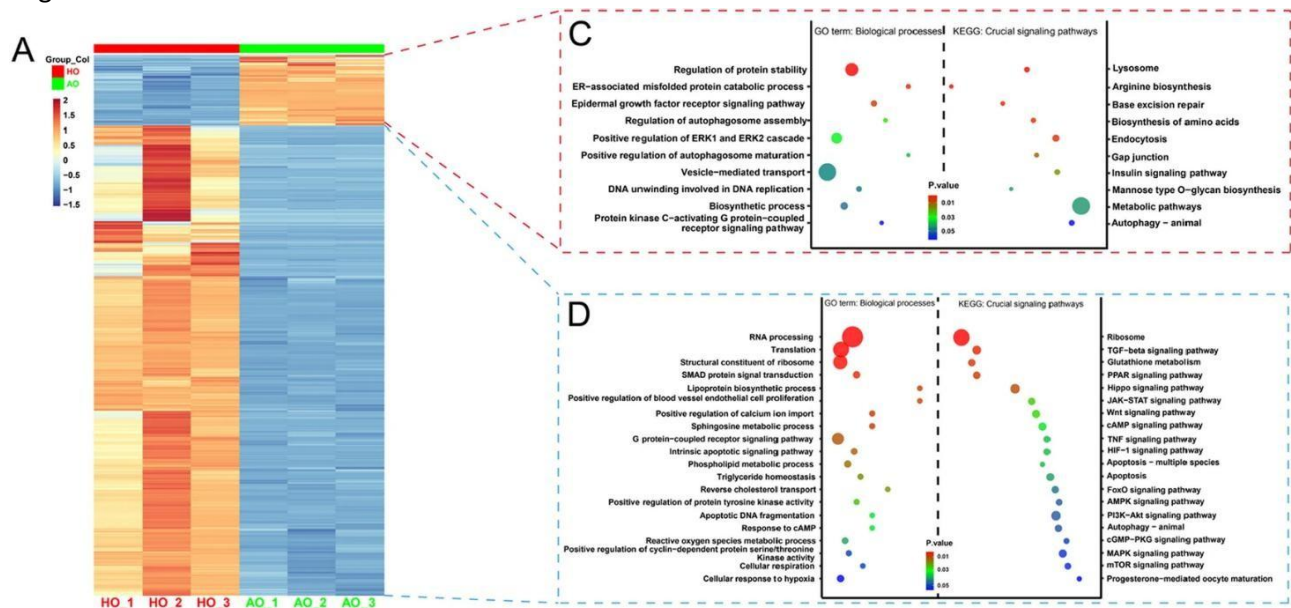
Tipologia di domande ed istruzioni generali

-Domande a risposta multipla: un'unica risposta possibile, nessuna penalizzazione in caso di errore (+1 per risposta corretta)

-Domande vero falso e domande con due possibili alternative: +1 in caso di risposta corretta, -0,5 in caso di risposta errata. Nel caso di due possibili alternative, CANCELLARE la risposta errata o CERCHIARE la risposta corretta

-Domande a completamento: nessuna penalizzazione in caso di errore (+1 per risposta corretta)

1. Osservate la seguente immagine tratta da un recente lavoro scientifico intitolato "Oocyte transcriptomes and follicular fluid proteomics of ovine atretic follicles reveal the underlying mechanisms of oocyte degeneration".



Sapendo che le sigle HO ed AO indicano rispettivamente oociti sani e degenerati, rispettivamente, è possibile dire che:

-ciascuno dei due gruppi ha 3 repliche biologiche ☐ VERO ☐ FALSO

-i profili di espressione degli oociti degenerati sono caratterizzati da una massiccia sottoespressione di un numero molto elevato di geni ☐ VERO ☐ FALSO

-i profili di espressione dei tre campioni di oociti sani mostrano una maggiore omogeneità rispetto ai tre campioni di oociti degenerati ☐ VERO ☐ FALSO

-la scala di colore qui indicata rappresenta i livelli di espressione in TPM ☐ VERO ☐ FALSO

-I grafici nei pannelli C e D sono definibili analisi di arricchimento funzionale ☐ VERO ☐ FALSO

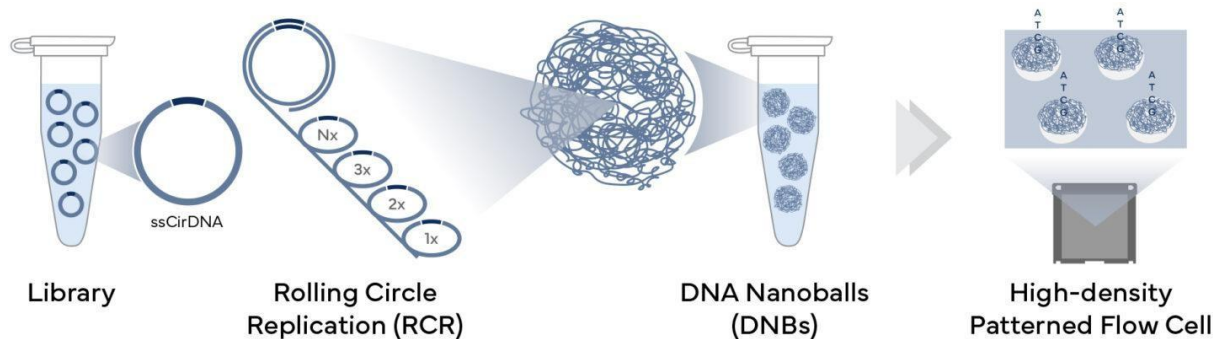
-I grafici nei pannelli C e D potrebbero riportare i risultati di un test ipergeometrico ☐ VERO ☐ FALSO

-I grafici nei pannelli C e D si differenziano perché quello del grafico C analizza i geni _____, mentre quello del grafico D analizza i geni _____

2. Sapendo che i campioni dell'esperimento precedente sono stati sequenziati con un approccio Illumina nella medesima lane e che l'interesse era rivolto esclusivamente all'analisi dell'espressione degli mRNA, quali dei seguenti passaggi devono necessariamente essere stati condotti?

- passaggio di rRNA ribodepletion ☐ VERO ☐ FALSO
- retrotrascrizione del RNA a cDNA ☐ VERO ☐ FALSO
- aggiunta di adattatori contenenti barcode ☐ VERO ☐ FALSO
- rolling circle amplification ☐ VERO ☐ FALSO
- verifica del RIN ☐ VERO ☐ FALSO
- quantificazione delle librerie prima del pooling ☐ VERO ☐ FALSO
- frammentazione degli acidi nucleici prima dell'aggiunta degli adattatori ☐ VERO ☐ FALSO
- Inoltre, qualora non fosse stato possibile congelare immediatamente i campioni a -80° dopo il loro prelievo, indicate una possibile alternativa applicabile per minimizzare il rischio di degradazione del RNA:

4. Questo schema si riferisce alla chimica di sequenziamento:



- a) PacBio SMRT
- b) PacBio Onso
- c) BGI-seq
- d) Ultima Genomics

-Possiamo dire che lo scopo di questa strategia sia l'equivalente della formazione di una colonia con una PCR in emulsione oppure di un cluster di sequenze clonali tramite bridge amplification ☐ VERO ☐ FALSO

-La creazione di questo tipo di librerie richiede/non richiede l'aggiunta di un adattatore

-Le nanoballs si legano ad un oigo complementare che garantisce il legame alla flowcell ☐ VERO ☐ FALSO

-Il sequenziamento che ne segue è un processo di sequencing by synthesis ☐ VERO ☐ FALSO

-La rilevazione dei nucleotidi avviene tramite:

- a) fluorescenza
- b) luminescenza
- c) variazioni di pH
- d) variazioni di impedenza

-Il sequenziamento avviene solo in modalità single end/può avvenire anche in modalità paired-end

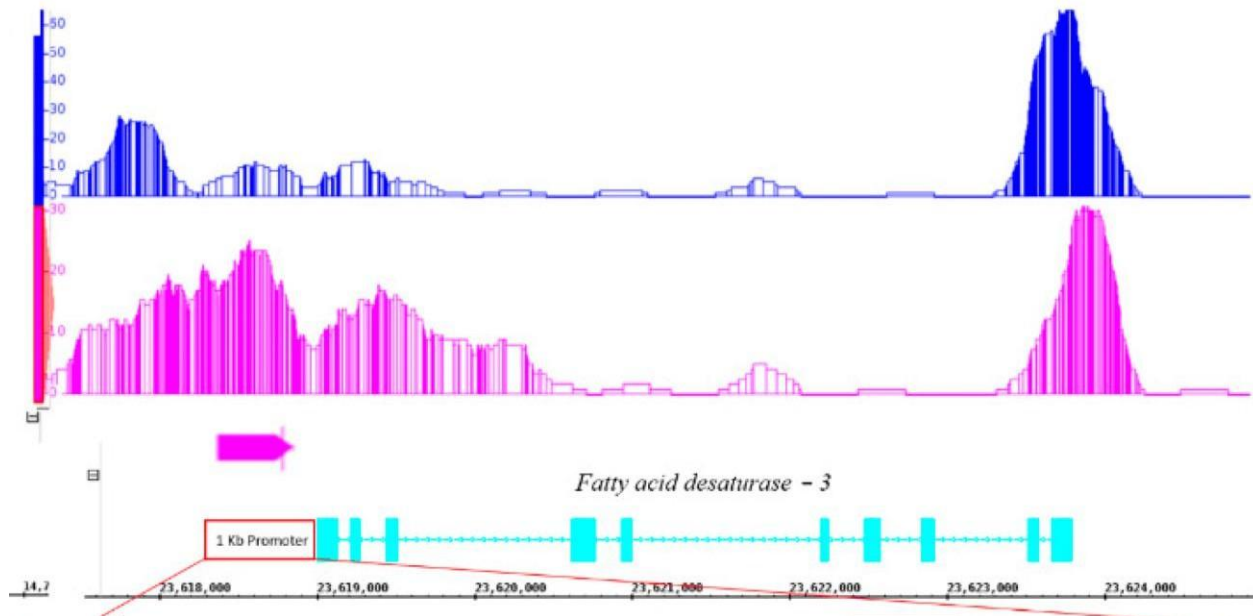
-Il sequenziamento prevede l'utilizzo di nucleotidi coniugati ad un terminatore reversibile ☐ VERO ☐ FALSO

6. Per studiare lo stato di metilazione di proteine istoniche utilizzereste un approccio di tipo _____, con anticorpi diretti contro _____.

Questo procedimento richiede il crosslinking to DNA ed istoni tramite _____.

E' possibile, nel cosiddetto natural ChIP, bypassare lo step di cross-linking, ma in questo caso per la digestione del DNA genomico si sostituisce la sonicazione/la nebulizzazione con una digestione con DNasi/MNasi

8. Osservate la seguente figura, che mostra il profilo di metilazione osservato in un gene presumibilmente coinvolto nella fioritura in due diverse tipologie di ulivo, a fioritura precoce (grafico blu) e tardiva (grafico viola). Tenendo in considerazione che il grafico mostra la distribuzione delle reads mappate sul genoma:



-Il profilo ottenuto è compatibile con un approccio di:

- a) Oxidative bisulfite sequencing
- b) methyl-RAD
- c) MeDIP-seq
- d) enzymatic methyl-seq

-E' possibile capire che non si tratti di un approccio bisulfite sequencing perché

- a) si nota una copertura delle reads molto disomogenea
- b) le reads sono localizzate anche all'interno delle regioni esoniche
- c) le reads sono localizzate anche all'interno delle regioni introniche
- d) i due campioni mostrano profili di mappatura delle reads differenti

-Questa metododica permette di rilevare le 5mC con risoluzione a singolo nucleotide ☐ VERO ☐ FALSO

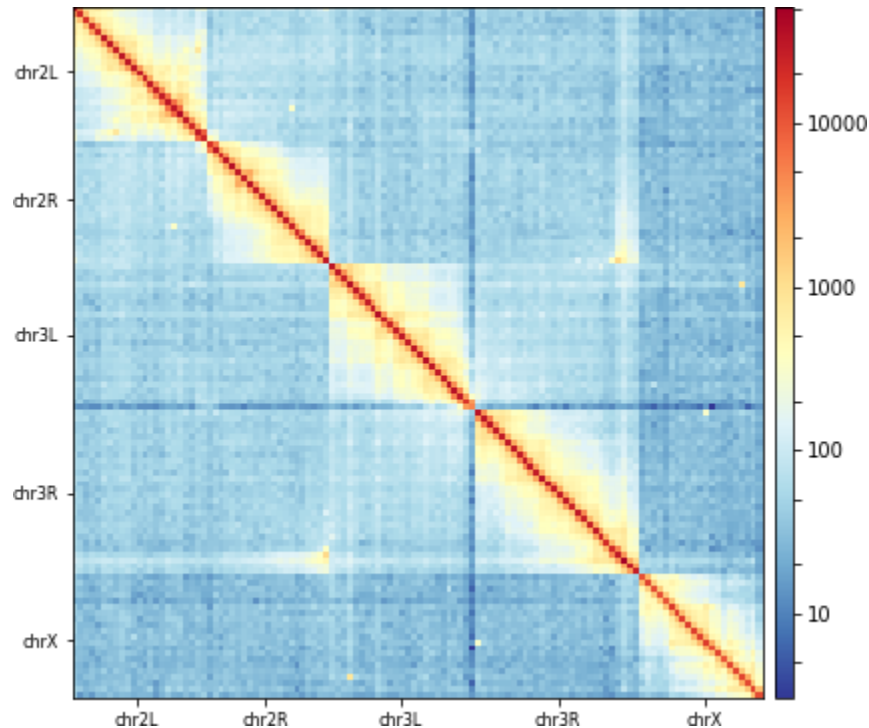
-Per ottenere una libreria di sequenziamento compatibile con questa metodologia di analisi è richiesta una immunoprecipitazione/un trattamento enzimatico

-La freccia viola indica una regione con metilazione più elevata nell'ulivo a fioritura precoce/tardiva

9. Nella valutazione della qualità dell'assemblaggio di un genoma rappresentano indici di buona qualità un L50 alto/basso, un N50 alto/basso, un numero totale di scaffold assemblate alto/basso ed una percentuale di BUSCO frammentati tendente a _____. Inoltre, la dimensione complessiva dell'assemblaggio dovrebbe essere coerente con le stime ricavate dall'analisi della distribuzione dei _____

10. Per ovviare alle difficoltà legate alla grande abbondanza di repeats presenti nei genomi dei procarioti/degli eucarioti, gli approcci più moderni utilizzano delle librerie Hi-C, che vengono sequenziate con short reads in modalità paired-end /con long reads Oxford nanopore e consentono di ottenere delle mappe di contatto per riordinare _____ e portare gli assemblaggi ad una scala cromosomica. Queste particolari librerie portano nello stesso frammento della libreria due porzioni di sequenza fisicamente vicine tra loro nella cromatina, ma localizzate su cromosomi diversi ☐ VERO ☐ FALSO

11. Osservate questo grafico:



-Esso rappresenta un assemblaggio genomico composto da _____ cromosomi

-Sui due assi sono rappresentati i cromosomi di due genomi differenti ☐ VERO ☐ FALSO

-E' possibile affermare che il numero di contatti fisici intercromosomici è mediamente di gran lunga inferiore al numero di contatti intracromosomici ☐ VERO ☐ FALSO

-La scala di colore rappresenta:

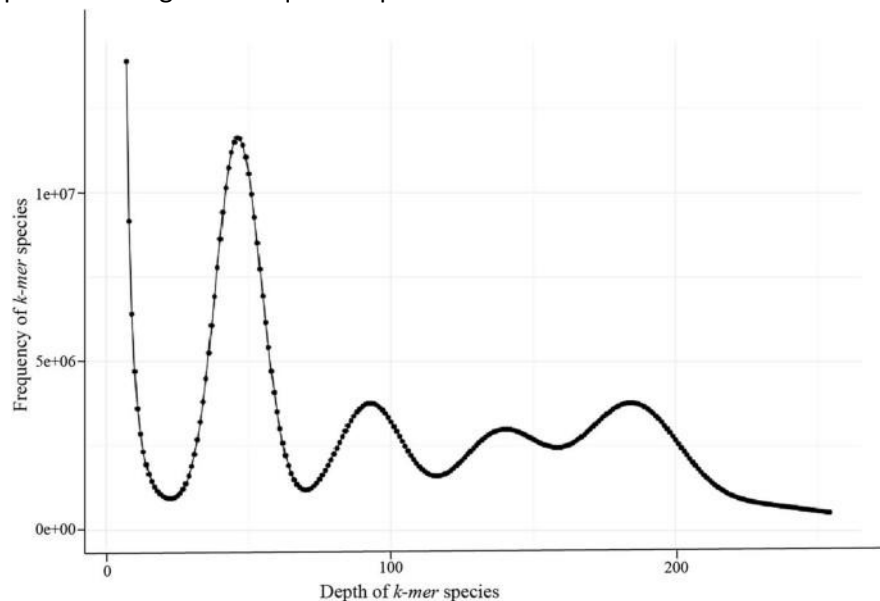
a) il numero di SNPs identificate in ciascuna posizione del genoma di riferimento in seguito all'allineamento delle reads

b) La percentuale di omologia di sequenza osservata nel confronto tra i due aplotipi

c) la copertura di sequenziamento ottenuta in diverse posizioni del genoma

d) la densità delle reads mappate in coppia in diverse posizioni del genoma

13. Avendo a disposizione un grafico di questo tipo:



-Per stimare la dimensione del genoma è necessario conoscere

- a) il numero di reads ottenute
- b) la lunghezza delle reads ottenute
- c) entrambe le precedenti
- d) non è possibile stimare la dimensione del genoma

-La ploidia di questa specie è _____ ed il grafico evidenzia un elevato numero di repeats/un elevato tasso di eterozigosi

-La copertura di sequenziamento ottenuta è circa 90X/180X

-Se l'assemblaggio di questo genoma fosse sottoposto ad un accurato polishing, questa procedura non avrebbe alcun effetto sul grafico ☐ VERO ☐ FALSO

-Se le reads utilizzate per assemblare questo genoma fossero sottoposte ad un accurato trimming, questa procedura non avrebbe alcun effetto sul grafico ☐ VERO ☐ FALSO

14. In un'analisi RNA-seq classica di un campione biologico, un trascritto A con 4000 TPM lungo 2Kb è più espresso di un trascritto B con 1000 TPM lungo 300 bp ☐ VERO ☐ FALSO

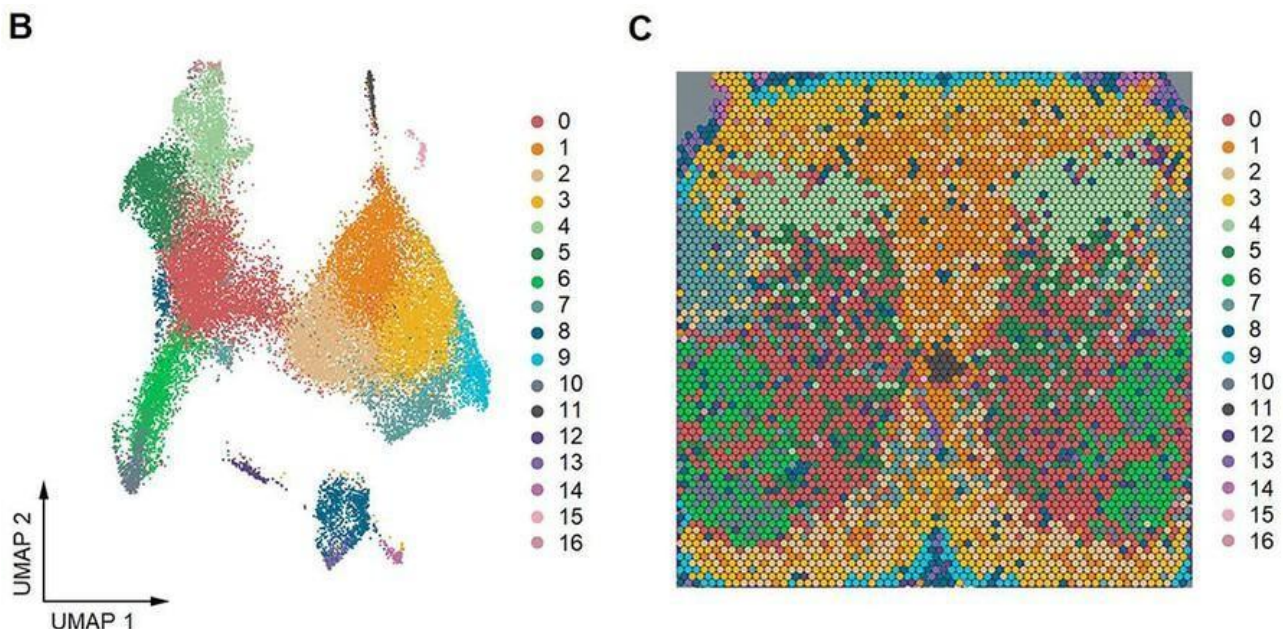
-In un'analisi 3'tag RNA-seq di un campione biologico, un trascritto A con 2000 reads mappate lungo 1Kb è più espresso di un trascritto B con 3000 reads mappate lungo 2Kb ☐ VERO ☐ FALSO

-Nel confronto tra due campioni diversi sottoposti a RNA-seq classico, un trascritto A con 600 TPM, lungo 6Kb (in un campione sequenziato con 10 milioni di reads totali) è più espresso di un trascritto B con 1000 TPM, lungo 1Kb (in un campione sequenziato con 1 milione di reads) ☐ VERO ☐ FALSO

-In un RNA-seq classico, un trascritto su cui sono mappate 100 reads, lungo 1Kb, in un campione sequenziato con 1 milione di reads totali sarà espresso con _____ CPM e _____ RPKM

-Quando le reads di un esperimento RNA-seq vengono mappate su un genoma di riferimento è opportuno permettere la presenza di alcune SNP/è necessario non tollerare alcuna SNP

16. Osservate questa immagine:



-Sapendo che il pannello B rappresenta schematicamente i risultati di un risultato di single-cell RNA-seq, ogni punto rappresenta una singola cellula/un singolo gene

-I 16 colori rappresentano 16 tipi cellulari/16 diversi UMI

-Sapendo che il pannello C rappresenta il risultato di un'analisi ottenuta tramite uno strumento Visium, il grafico mostra la sezione di un tessuto ☐ VERO ☐ FALSO

-Il pannello C è suddiviso in piccoli esagoni, ciascuno dei quali corrisponde ad una singola cellula/area di indagine

-Questo approccio prevede l'utilizzo di oligonucleotidi complementari ad un numero definito di molecole di mRNA target ☐ VERO ☐ FALSO

-La risoluzione spaziale di questo tipo di indagine è _____ rispetto a quella di un'analisi ottenuta con una piattaforma Xenium

-Aree colorate nello stesso modo nel pannello C indicano una predominanza di cellule con simile profilo di espressione tra loro ☐ VERO ☐ FALSO

17. Abbinare questi termini alle seguenti tecnologie di sequenziamento, e indicate se si tratta o meno di metodi di sequenziamento di seconda generazione: nanopori / cold nucleotides / ionogramma / ZMW / DNA nanoballs / sequencing by binding / reads Hi-fi / pirosequenziamento

-Illumina: _____ ☐ VERO ☐ FALSO

-IonTorrent: _____ ☐ VERO ☐ FALSO

-PacBio SMRT: _____ ☐ VERO ☐ FALSO

-PacBio Onso: _____ ☐ VERO ☐ FALSO

-Sequencing by Expansion: _____ ☐ VERO ☐ FALSO

-BGI-seq: _____ ☐ VERO ☐ FALSO

-454 Life Sciences: _____ ☐ VERO ☐ FALSO

Tra le tecnologie nella lista sopra, ce ne sono 3 che potrebbero essere applicabili al sequenziamento di librerie Hi-C. Queste sono _____

-Due di queste hanno invece notevoli problemi nel corretto sequenziamento di stretch di sequenza omopolimerici: _____

-Un metodo che utilizza anticorpi coniugati ad un fluoroforo per la rilevazione dei nucleotidi è _____, mentre le variazioni di pH sono alla base delle piattaforme _____

20. Tra ATAC-seq, DNase-seq, MNase-seq e FAIRE-seq, solo uno di questi metodi determina la presenza di picchi in corrispondenza di regioni di cromatina chiusa: _____

-Uno solo di questi metodi richiede il cross-linking tra proteine e DNA: _____

-La tagmentazione viene invece utilizzata nell' _____, che è anche la tecnica che meglio si presta ad approcci _____ basati sulla microfluidica.

-La copertura di sequenziamento richiesta per ottenere un profilo di apertura della cromatina per genoma è comparabile/inferiore rispetto ad un whole genome resequencing

-Nel FAIRE seq la frammentazione del DNA non è necessaria ☐ VERO ☐ FALSO

-I picchi di mappatura delle reads ottenute tramite un ChIP-seq focalizzato su un fattore di trascrizione dovrebbero rappresentare un subset di quelli ottenuti con FAIRE-seq ☐ VERO ☐ FALSO