

Testi del Syllabus

Resp. Did.	BANDIERA ANTONELLA	Matricola: 005752
Docenti	BANDIERA ANTONELLA, 3 CFU SCAGGIANTE BRUNA, 3 CFU	
Anno offerta:	2016/2017	
Insegnamento:	210SM - LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE	
Corso di studio:	SM51 - SCIENZE E TECNOLOGIE BIOLOGICHE	
Anno regolamento:	2014	
CFU:	6	
Settore:	BIO/11	
Tipo Attività:	B - Caratterizzante	
Anno corso:	3	
Periodo:	Primo Semestre	
Sede:	TRIESTE	



Testi in italiano

Lingua insegnamento	italiano
Contenuti (Dipl.Sup.)	Tecniche e metodiche utilizzate nel laboratorio di biologia molecolare
Testi di riferimento	-Biologia molecolare. Principi e tecniche. Michael Cox, Jennifer A.Doudna, Michael O'Donnel-Zanicchelli -Biotecnologie Molecolari. Principi e tecniche. Terry A.Brown. Zanicchelli
Obiettivi formativi	Prendere confidenza col laboratorio di biologia molecolare
Prerequisiti	basi di biochimica e biologia molecolare
Metodi didattici	teoria ed esercitazioni pratiche
Altre informazioni	frequenza obbligatoria alle esercitazioni
Modalità di verifica dell'apprendimento	elaborati scritti relativi alle esercitazioni e alla teoria.
Programma esteso	Parte teorica. Strutture degli acidi nucleici. Strutture secondarie del DNA e dell'RNA. Studio delle strutture del DNA. I ribozimi, i miRNA e altri ncRNA e gli aptameri. Principali campi di applicazione della tecnologia del

DNA ricombinante. Strumenti per il clonaggio (ospite e vettore). Gli enzimi utili (nucleasi, polimerasi, ligasi, enzimi di restrizione). Vettori e loro classificazione. Plasmidi come vettori e Fasi del clonaggio (cenni). Identificazione della colonia ricombinante. Limiti dei vettori plasmidici. I fagi come vettori (cenni). Selezione dei fagi ricombinanti. Librerie genomiche e geniche. I vettori cosmidici, i PAC, BAC e YAC (cenni). Differenze tra i vettori di clonaggio. Le proteine ricombinanti e loro applicazioni in campo medico e biotecnologico. Vettori di espressione e loro caratteristiche. Scelta della cellula ospite, vantaggi e svantaggi. Espressione in sistemi procariotici ed eucariotici Vantaggi e svantaggi. Ottimizzazione della stabilità della proteina ricombinante. Proteine native e proteine di fusione. Il problema del folding e delle modificazioni post-traduzionali. I vettori virali, animali transgenici e knock out (cenni). Tecniche per lo studio dei geni e della loro espressione. Elettroforesi mono e bi-dimensionale (cenni). Ibridazione acidi nucleici diretta e indiretta, sonde e marcature.. Il southern e northern blotting, e dot blot. Il western blotting, southwestern e farwestern. Sistemi di amplificazione della sonda e del segnale e isotermici. Sequenziamento del DNA. I saggi di ibridazione inversa. Acidi nucleici e loro caratteristiche chimico-fisiche (cenni). Fonti per l'estrazione degli acidi nucleici, fasi pre-analitica, analitica e conservazione.. Problematiche relative alle fasi di estrazione. La purificazione de DNA, dell'RNA totale e mRNA. Valutazione quantitativa degli acidi nucleici. Metodiche per la separazione e visualizzazione degli acidi nucleici su gel. Valutazione qualitativa. La retro trascrizione.. La PCR, principi generali e controlli di qualità. Resa teorica e resa reale. Vantaggi e svantaggi. La RT-PCR. Applicazioni diagnostiche. La Real-Time PCR, principi generali. Il ciclo di threshold. Metodi di rilevazione dell'amplificato: la fluorescenza e la FRET. Vantaggi e svantaggi. PCR competitiva e costruzione del competitore (cenni). Parte Pratica Strategie d'impiego in progetti di ricerca delle tecniche e metodologie trattate nel corso. Norme di comportamento e di sicurezza **TECNICHE E STRUMENTI UTILIZZATI NEL LABORATORIO BIOMOLECOLARE** norme di sicurezza e comportamento, dispositivi di protezione, reagenti e schede di sicurezza, attrezzatura e strumentazione. Prelievo e deposizione di volumi per mezzo di pipette. **ANALISI del DNA:** caratteristiche del DNA e dei metodi di manipolazione, PCR principi generali e preparazione di una sonda. **ELETTROFORESI su GEL di AGAROSIO e TRASFERIMENTO SU MEMBRANA** L'esempio del Southern blot **UTILIZZO DI SONDE MARCATE - IBRIDAZIONE** Riconoscimento con sonde: principi, definizioni, strategie di utilizzo, metodologia. Procedura di ibridazione con utilizzo di una sonda biotinilata **UTILIZZO DI SONDE MARCATE - RILEVAMENTO DEL SEGNALE** Riconoscimento della sonda mediante sistema di affinità, lavaggi in condizioni di stringenza adeguata e reazione enzimatica colorimetrica per evidenziare i segnali specifici. **ESTRAZIONE DI DNA E RNA DA CAMPIONI DI CELLULE** Separazione di DNA e RNA da eucarioti **SEPARAZIONE DNA E RNA TOTALE SU MATRICI: CONTROLLO DI QUALITÀ** Matrici di agarosio in sistemi nativi e denaturanti e su gel di poliacrilamide **RETROTRASCRIZIONE e RT-PCR. ANALISI DEGLI AMPLIFICATI** Distinzione di prodotti genici e genomici Deduzioni sperimentali e commenti sui risultati ottenuti in laboratorio.



Testi in inglese

Lingua insegnamento	Italian
Contenuti (Dipl.Sup.)	Materials and methods of Molecular Biology Laboratory
Testi di riferimento	-Biologia molecolare. Principi e tecniche. Michael Cox, Jennifer A.Doudna, Michael O'Donnel-Zanicchelli -Biotecnologie Molecolari. Principi e tecniche. Terry A.Brown. Zanicchelli

Obiettivi formativi	Learning molecular biology applications
Prerequisiti	Biochemistry and Molecular biology skills
Metodi didattici	Theory and practice
Altre informazioni	Compulsory attendance
Modalità di verifica dell'apprendimento	written test on theory and practice
Programma esteso	<p>Theoretical part The nucleic acid structures. secondary structures of DNA and RNA. Study of DNA structures. The ribozymes, miRNAs and other ncRNA and aptamers. Main fields of application of recombinant DNA technology. Tools for cloning (host and vector). Useful enzymes (nucleases, polymerases, ligases, restriction) .Vettori enzymes and their classification. Plasmids as vectors and steps of cloning (notes). Identification of recombinant colony. Limits of plasmid vectors. The phages as vectors (outline). Selection of recombinant phages. Genomic and gene libraries. The cosmid vector, PAC, BAC and YAC (notes). Differences between the cloning vectors. The recombinant proteins and their applications in medicine and biotechnology. Expression Vectors and their characteristics. Choice of the host cell, advantages and disadvantages. Expression in prokaryotic and eukaryotic systems Advantages and disadvantages. Optimizing the stability of the recombinant protein. native proteins and fusion proteins. The problem of folding and post-translational modifications. Viral vectors, transgenic animals and knock out (notes). Techniques for the study of genes and their expression. One- and two-dimensional electrophoresis (introduction). Nucleic acid hybridization direct and indirect, probes and markings .. The southern and northern blotting, and dot blots. The western blotting, Southwestern and farwestern. systems of amplification of the probe and the signal and isothermici. DNA sequencing. The reverse hybridization assays. Nucleic acids and their chemical and physical properties (outline). Sources for the extraction of nucleic acids, the pre-analytical phase, analytical and conservation .. Issues relating to extraction phases. The purification of DNA, RNA and mRNA total. Quantitative evaluation of nucleic acids. Methods for the separation and visualization of nucleic acids on the gel. qualitative assessment. Retro .. transcription PCR, general principles and quality controls. theoretical yield and actual yield. Advantages and disadvantages. The RT-PCR. diagnostic applications. The Real-Time PCR, general principles. The threshold cycle. Detection of the amplification methods: fluorescence and FRET. Advantages and disadvantages. Competitive PCR and construction of the competitor (notes). Introduction to Molecular biology lab course, practical part and reports, evaluation criteria. Techniques and methods in biochemistry and molecular biology as research projects strategic tools. Rule of conduct and safety in the lab. BIOMOLECULAR LAB EQUIPMENT AND TECHNIQUES Molecular biology lab: rule of conduct and safety, hazardous reagents and material safety data sheet; equipment and lab instrumentation. The use of automatic lab pipettes. DNA ANALYSIS: DNA features and practical handling, PCR principle and definition, probe preparation AGAROSE GEL ELECTROPHORESIS AND BLOTTING Southern blot LABELED PROBES -HYBRIDIZATION Identification by probes: principle, definition, employment strategy, methodology. Hybridization process by a biotinylated probe. LABELED PROBES -SIGNAL DETECTION Probe detection by biotin-streptavidin affinity system, stringency conditions and enzymatic color development for specific signal detection</p>