

Testi del Syllabus

Resp. Did.	SCAGGIANTE BRUNA	Matricola:	009962
Docente	BANDIERA Antonella	Matricola:	005752
Anno offerta:	2015/2016		
Insegnamento:	210SM - LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE		
Corso di studio:	SM51 - SCIENZE E TECNOLOGIE BIOLOGICHE		
Anno regolamento:	2013		
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	Contenuti del corso teorico. Gli acidi nucleici: le strutture e le proprietà chimico-fisiche del DNA e dell'RNA. Concetto di clonazione e DNA ricombinante. Principali campi di applicazione della tecnologia del DNA ricombinante. Strumenti per il clonaggio (ospite e vettore). Gli enzimi utili (nucleasi, polimerasi, ligasi,

etc.). Eso ed endonucleasi. La DNA pol I e il frammento di klenow. Gli enzimi di restrizione, classificazione, restrizione/metilazione, funzione fisiologica, nomenclatura, tipo di estremità e palindromi, isoschizomeri e neoschizomeri. Vettori e loro classificazione (cenni). Fasi principali del clonaggio. Condizioni per la ligazione, l'utilizzo della fosfatasi alcalina per il vettore ricombinante. Estremità incompatibili, creazione di estremità compatibili: protuding e "fill in" delle estremità incompatibili; linker e adapter; omopolimeric tailing. Trasformazione artificiale dei batteri e trasduzione. Trasferimento di geni in cellule di diversa origine (elettroporazione, coniugazione, utilizzo di veicolanti-lipidici e non lipidici). Identificazione della colonia ricombinante, inattivazione inserzionale in geni per resistenza agli antibiotici o su lac Z (alfa complementazione). Limiti del clonaggio in vettori. Librerie genomiche e geniche. Vettori di espressione e loro caratteristiche. Le proteine ricombinanti e loro applicazioni in campo medico e biotecnologico. Espressione genica in sistemi eterologhi (batteri, lieviti, cellule di insetto, cellule vegetali e di mammifero). Scelta della cellula ospite, vantaggi e svantaggi. Espressione in sistemi procariotici e caratteristiche del vettore (sequenza promotrice e shine-dalgarno, terminatori di trascrizione e traduzione, sequenze segnale aggiuntive-secrezione-). Ottimizzazione della stabilità della proteina ricombinante e promotore inducibile. Proteine native e proteine di fusione. Le diverse TAG. Purificazione di proteine di fusione (GST, MBP, His). Vantaggi delle tag. Il problema del folding e delle modificazioni post-traduzionali. Espressione in cellule eucariotiche. Trasfezione stabile e transiente. Espressione in baculovirus e promotore della poliedrina (cenni). Animali transgenici. Animali knock out (cenni). Tecniche per lo studio dei geni e della loro espressione. Elettroforesi mono e bi-dimensionale. Cromatografia (cenni). Sonde ed ibridazione acidi nucleici, marcatura radioattiva e non radioattiva, la nick translation ed il random priming. End labelling e marcatura diretta. Saggi di ibridazione diretti ed indiretti, su supporto solido, in soluzione e in situ. Il southern e northern blotting, la stringenza. Il dot blot. Il western blotting, il south-western e il far-western. Sistemi di amplificazione del bersaglio: la PCR e la Real Time PCR. Sistemi di amplificazione della sonda e del segnale: la LCR e il branched DNA. Amplificazione isoterica del bersaglio: la NASBA. Studio dell'interazione DNA-proteine, il footprinting e l'EMSA. Il DNA fingerprinting. Sequenziamento del DNA secondo Maxam-Gilbert e secondo Sanger (cenni), differenze e vantaggi/svantaggi. Il sequenziamento automatico (cenni). Il sequenziamento epigenetico. I saggi di ibridazione inversa, array di DNA e cDNA. Gli array di proteine.

Programma esercitazioni pratico-teoriche di laboratorio di biologia molecolare
Parte teorica

Acidi nucleici e loro caratteristiche chimico-fisiche per la pratica del laboratorio. Fonti per l'estrazione degli acidi nucleici e fase pre-analitica: preparazione dei campioni e conservazione. Fasi analitiche: isolamento degli acidi nucleici (lisi, purificazione ed estrazione). Problematiche relative alle fasi di estrazione. La purificazione de DNA. Purificazione dell'RNA, problematiche connesse con l'estrazi



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'Donnell-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>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.</p> <p>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.</p> <p>DNA ANALYSIS: DNA features and practical handling, PCR principle and definition, probe preparation</p> <p>AGAROSE GEL ELECTROPHORESIS AND BLOTTING Southern blot</p> <p>LABELED PROBES -HYBRIDIZATION Identification by probes: principle, definition, employment strategy, methodology. Hybridization process by a biotinylated probe.</p> <p>LABELED PROBES -SIGNAL DETECTION Probe detection by biotin-streptavidin affinity system, stringency conditions and enzymatic color development for specific signal detection</p>