

Programma di **“Tecniche biochimiche e biomolecolari con laboratorio”** (6 CFU)
Corso di Laurea Magistrale in **“Scienze Chimiche”**
Curriculum **Chimica Biomolecolare**
a.a. 2020/2021
Prof. Vincenza Barresi

Teoria (3 CFU) + Esercitazioni (1 CFU) + Attività di Laboratorio (2 CFU)

Colture cellulari: colture cellulari primarie e linee cellulari. Terreni di coltura.

Saggi per l'analisi del ciclo cellulare, proliferazione cellulare, vitalità e morte cellulare.

Reazione di polimerizzazione a catena (PCR), sintesi di cDNA tramite Trascrizione inversa.
Parametri e programmi bioinformatici per la progettazione di primers per PCR (primer 3 NCBI).

Analisi qualitativa e quantitativa di trascritti.

Valutazione di polimorfismi tramite PCR quantitativa o “real-time PCR”

Reazione di digestione con enzimi di restrizione. Reazioni con enzimi di modificazione.

Estrazione e dosaggio spettrofotometrico di acidi nucleici e proteine.

Elettroforesi di acidi nucleici e di proteine.

Tecniche di ibridazione. Preparazione di filtri tramite la tecnica del Southern blot, del Northern blot e del Western blot.

Preparazione di campioni di DNA o di RNA per l'analisi globale del genoma e dell'espressione mediante microarrays.

Tecniche di Sequenziamento degli acidi nucleici di I, II e III generazione

Analisi delle modificazioni epigenetiche (metilazione)

Tecniche di trasfezione transitoria e stabile e di soppressione dell'espressione genica mediante “RNA interference”

La tecnologia del DNA ricombinante e il clonaggio: preparazione di un vettore plasmidico ricombinante; trasformazione batterica ed estrazione di DNA plasmidico

Valutazione di attività enzimatica in campioni biologici.

Banche dati.

Le tecniche di laboratorio biochimico e biomolecolare nella diagnostica molecolare medica.

Esperienze di laboratorio

Esp 1 Colture Cellulari appartenenti a linee continue umane
Esp 2 Dosaggio di acidi nucleici
Esp 4 Elettroforesi in gel d'agarosio
Esp 3 Estrazione DNA da colture cellulari continue
Esp 5 Sintesi cDNA
Esp 9 Trasfezioni e Silenziamento
Esp 7 Digestione con enzimi di restrizione
Esp 6 Reazione a catena delle polimerasi (PCR)
Exp 8 PCR quantitativa/qRT Discriminazione Allelica
Exp 9 Saggi di Vitalità cellulare

Testi consigliati

- 1) Metodologie biochimiche e biomolecolari, Strumenti e Tecniche per il laboratorio del nuovo millennio, Mauro Maccarrone, Zanichelli
- 2) Fondamenti di biologia molecolare, L. A. Allison, Zanichelli.
- 3) Biologia molecolare, F. Amaldi, et al. Casa Editrice Ambrosiana – Zanichelli.
- 4) Metodologie biochimiche. Principi e tecniche per l'espressione, la purificazione e la caratterizzazione delle proteine, M. L. Di Salvo, et al. CEA.
- 5) Lavori scientifici e materiale didattico fornito dalla docente del corso,
- 6) Video-corso online di "Biotecnologie Diagnostiche" composto da 3 lezioni ed una esercitazione di laboratorio prodotto all'interno di un progetto didattico europeo (D.F. Condorelli, V. Barresi) <http://www.dsf.unict.it/index.php?page=progetto-phar-in>,
- 7) Video-corso online "Riparazione del Dna e mutagenesi nel cancro" (D.F. Condorelli): Mismatch repair (MMR) instabilità dei microsatelliti (V. Barresi),
- 8) Video-lezione "Tecnologie avanzate per la Bio-Medicina Genomica" (Vincenza Barresi).

ALTRO MATERIALE DIDATTICO

Video-corso online su piattaforma Eduopen (<https://learn.eduopen.org/>): "Riparazione del Dna e mutagenesi nel cancro" (D.F. Condorelli)