

FACOLTÀ	Scienze MM.FF.NN.
ANNO ACCADEMICO	2014-2015
CORSO DI LAUREA	Biotechnologie (cod.2075)
INSEGNAMENTO	TECNOLOGIE RICOMBINANTI
TIPO DI ATTIVITÀ	Caratterizzanti
AMBITO DISCIPLINARE	Discipline Biologiche
CODICE INSEGNAMENTO	07363
SETTORI SCIENTIFICO DISCIPLINARI	BIO/11
DOCENTE RESPONSABILE (MODULO 1)	Raffaella Melfi Ricercatore confermato Università di Palermo
CFU	6
NUMERO DI ORE RISERVATE ALLO STUDIO PERSONALE	94
NUMERO DI ORE RISERVATE ALLE ATTIVITÀ DIDATTICHE ASSISTITE	56
PROPEDEUTICITÀ	Biologia Molecolare
ANNO DI CORSO	Secondo anno
SEDE DI SVOLGIMENTO DELLE LEZIONI	Aula 7, Dip. STEBICEF, Viale delle Scienze Edificio 16, Palermo
ORGANIZZAZIONE DELLA DIDATTICA	Lezioni frontali (32 ore) e attività di laboratorio laboratorio(24 ore).
MODALITÀ DI FREQUENZA	Facoltativa per lezioni frontali Obbligatoria per le attività di laboratorio
METODI DI VALUTAZIONE	Prova orale
TIPO DI VALUTAZIONE	Voto in trentesimi
PERIODO DELLE LEZIONI	Secondo semestre
CALENDARIO DELLE ATTIVITÀ DIDATTICHE	Consultare il calendario didattico sul sito del CdL: (http://www.scienze.unipa.it/biotechnologie/biotechno/cdl_calendari.php)
ORARIO DI RICEVIMENTO DEGLI STUDENTI	Su appuntamento contattando il docente (Tel: 091/23897402, e-mail: raffaella.melfi@unipa.it)

RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI

Lo studente apprenderà molte delle tecniche di base comunemente utilizzate nei laboratori di Biologia molecolare, conoscerà nel dettaglio le tappe del clonaggio molecolare, dall'inserimento di frammenti di DNA in vettori plasmidici e fagici, al trasferimento di queste molecole chimeriche nelle cellule batteriche, fino alla selezione di cloni ricombinanti. Apprenderà le basi molecolari e alcune possibili applicazioni delle tecniche di laboratorio che metterà in pratica durante il corso. Lo studente sarà in grado di interpretare il risultato di una esperienza di laboratorio, di trovare l'approccio più appropriato per la risoluzione di problematiche legate all'isolamento e alla caratterizzazione di specifiche sequenze di DNA codificanti proteine o regolative.

OBIETTIVI FORMATIVI DEL CORSO

Lo studente saprà valutare, cosciente delle motivazioni, l'approccio generale e quali tecniche applicare, tra quelle acquisite, per la risoluzione di una problematica di base di un laboratorio di biologia molecolare legata ad un clonaggio molecolare o all'amplificazione di sequenze di DNA ed avrà le basi per metterle in pratica autonomamente.

Lo studente sarà in grado, mettendo in pratica le conoscenze teoriche acquisite nel modulo, di effettuare un clonaggio molecolare in vettori plasmidici, di preparare gel ed effettuare la migrazione elettroforetica di

molecole di DNA, di montare reazioni di digestione e ligasi di molecole di DNA, di montare e rivelare una reazione di ibridazione molecolare con sonde a DNA marcate con sistemi non radioattivi, di montare reazioni di PCR su campioni di DNA purificato o direttamente su colonie batteriche.

ORE	LEZIONI FRONTALI
32	<p>Sistemi biologici per la ricerca biomolecolare Endonucleasi di restrizione (di I, II e III tipo), restrizione del DNA. Plasmidi e vettori da essi derivati (pBR e serie pUC). Inserzione di frammenti in vettori plasmidici. Metodi di trasformazione dei batteri. Selezione ed analisi di cloni ricombinanti (inattivazione inserzionale, alfa-complementazione). Estrazione del DNA plasmidico da batteri. Tecniche di risoluzione degli acidi nucleici (gel d'agarosio, gel di acrilammide). Vettori basati sul batteriofago lambda (vettori di sostituzione e vettori di inserzione). Fago M13. Costruzione e screening di genoteche genomiche e di cDNA. Metodi di marcatura, con isotopi radioattivi e con sistemi non radioattivi (DIG ossigenina, biotina), lungo tutta l'elica di DNA o alle estremità della molecola. Ibridazione molecolare con sonde radioattive e non radioattive. Sistemi di rivelazione delle sonde marcate. Vettori di espressione. Proteine di fusione, costruzione dei cloni per l'espressione e la purificazione (immunocromatografia e cromatografia per affinità). Screening immunologico di una genoteca di espressione. Tecniche di sequenziamento: Maxam e Gilbert, Sanger, automatico con l'impiego di fluorocromi. Valutazione dell'espressione di singoli geni: RT-PCR, Northern blot, RNAsi protection Caratterizzazione di sequenze regolative: Costruzioni plasmidiche con geni reporter, DNA Binding assay, Footprinting Amplificazione in vitro di sequenze di DNA: PCR (nested, colony, asimmetrica, RT-PCR)</p>
ORE	LABORATORIO
24	<p>Restrizione del DNA ed analisi dei prodotti su gel di agarosio Reazione di ligasi e trasformazione in cellule batteriche Selezione dei cloni ricombinanti Colony hybridization Minipreps Southern blotting ed ibridazione con sonda marcata con DIG ossigenina PCR</p>
TESTI CONSIGLIATI	
	<p>Dale J.W., Von Schants M. – Dai geni ai genomi, principi e applicazioni della tecnologia del DNA ricombinante – seconda edizione - Edises. Glick B.R., Pasternak J.J. - Biotecnologia molecolare, principi e applicazioni del DNA ricombinante - Zanichelli. Watson J.D., Gilman M., Witkowski J., Zoller M. – DNA ricombinante – Zanichelli. Vari testi di biologia molecolare</p>