



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

<b>DIPARTIMENTO</b>	Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche		
<b>ANNO ACCADEMICO OFFERTA</b>	2019/2020		
<b>ANNO ACCADEMICO EROGAZIONE</b>	2020/2021		
<b>CORSO DILAUREA</b>	BIOTECNOLOGIE		
<b>INSEGNAMENTO</b>	TECNOLOGIE RICOMBINANTI		
<b>TIPO DI ATTIVITA'</b>	B		
<b>AMBITO</b>	50078-Discipline biotecnologiche comuni		
<b>CODICE INSEGNAMENTO</b>	16130		
<b>SETTORI SCIENTIFICO-DISCIPLINARI</b>	BIO/11		
<b>DOCENTE RESPONSABILE</b>	MELFI RAFFAELLA	Ricercatore	Univ. di PALERMO
<b>ALTRI DOCENTI</b>			
<b>CFU</b>	6		
<b>NUMERO DI ORE RISERVATE ALLO STUDIO PERSONALE</b>	94		
<b>NUMERO DI ORE RISERVATE ALLA DIDATTICA ASSISTITA</b>	56		
<b>PROPEDEUTICITA'</b>	01639 - BIOLOGIA MOLECOLARE		
<b>MUTUAZIONI</b>			
<b>ANNO DI CORSO</b>	2		
<b>PERIODO DELLE LEZIONI</b>	2° semestre		
<b>MODALITA' DI FREQUENZA</b>	Obbligatoria		
<b>TIPO DI VALUTAZIONE</b>	Voto in trentesimi		
<b>ORARIO DI RICEVIMENTO DEGLI STUDENTI</b>	<b>MELFI RAFFAELLA</b> Mercoledì 10:00 12:00 studio 402, Dip. STEBICEF, edificio 16, viale delle Scienze		

**DOCENTE:** Prof.ssa RAFFAELLA MELFI

<b>PREREQUISITI</b>	Per il raggiungimento degli obiettivi formativi sono richieste buone conoscenze relative al funzionamento di una cellula, alla struttura e funzione degli acidi nucleici, delle proteine e degli elementi regolativi della trascrizione e traduzione che gli studenti acquisiscono grazie ai corsi di Biologia, Genetica e Biologia Molecolare previsti nel primo e nel secondo anno del Corso di Laurea.
<b>RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI</b>	Conoscenza e comprensione di molte delle tecniche di base comunemente utilizzate nei laboratori di Biologia molecolare tra cui 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. Capacita' di applicare le conoscenze acquisite per la risoluzione in laboratorio di semplici problematiche. Capacita' di interpretare in maniera critica ed autonoma il risultato di una esperienza di laboratorio e di trovare l'approccio piu' appropriato per la risoluzione di problematiche legate all' isolamento e alla caratterizzazione di specifiche sequenza di DNA codificanti o regolative. Capacita' di utilizzare il linguaggio specifico proprio della disciplina per comunicare le proprie conoscenze ad un'audience di specialisti e non. Capacita' di rendersi progressivamente autonomo dal docente per approfondire le proprie conoscenze ed applicare le competenze acquisite.
<b>VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO</b>	L'apprendimento viene valutato mediante un colloquio individuale. Durante tale prova orale lo studente dovra' rispondere ad almeno tre domande, inerenti gli argomenti sviluppati durante il corso, dimostrando di possedere un'adeguata conoscenza e competenza interpretativa dei contenuti generali e specifici, capacita' di collegamento ed elaborazione dei contenuti, nonche' capacita'espositiva pertinente, chiara e corretta. L'acquisizione di capacita' tecniche viene rilevata mediante l'osservazione diretta in laboratorio, cosa che non influenza il voto finale. La valutazione della prova viene espressa in trentesimi ed e' ritenuta insufficiente nel caso in cui lo studente dimostri: difficolta' a focalizzare gli argomenti proposti, conoscenza fortemente lacunosa degli argomenti ed estrema limitatezza nell'esposizione. All'aumentare del grado di dettaglio delle conoscenze dimostrate dallo studente aumentera' proporzionalmente la positivita' della valutazione. Il punteggio massimo si ottiene in caso di eccellente padronanza e competenza critico-interpretativa dei contenuti oggetto del corso, associata a buona abilita' espositiva attestata dall'uso di una appropriata terminologia scientifica
<b>OBIETTIVI FORMATIVI</b>	Lo studente sapra' valutare, cosciente delle delle basi molecolari, l'approccio generale e quali tecniche applicare, tra quelle acquisite, per la risoluzione di una problematica biologica di base legata ad un clonaggio molecolare, all'amplificazione di sequenze di DNA e al loro sequenziamento. Lo studente acquisira' familiarita' e capira' come generare ed utilizzare una genoteca. Sara' in grado, grazie alle conoscenze teoriche acquisite, e la pratica fatta in laboratorio, di effettuare un clonaggio molecolare in vettori plasmidici, di preparare gel di agarosio ed effettuare la migrazione elettroforetica di molecole di DNA, di assemblare reazioni di digestione e ligasi di molecole di DNA, di effettuare screening mediante reazioni di ibridazione molecolare con sonde a DNA marcate con sistemi non radioattivi, di assemblare reazioni di PCR su campioni di DNA purificato o direttamente su colonie batteriche
<b>ORGANIZZAZIONE DELLA DIDATTICA</b>	4 cfu lezioni frontali 2 cfu attivita' di laboratorio
<b>TESTI CONSIGLIATI</b>	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.

## PROGRAMMA

ORE	Lezioni
32	<p>Sistemi biologici per la ricerca biomolecolare</p> <p>Endonucleasi di restrizione (di I, II e III tipo), restrizione del DNA.</p> <p>Plasmidi e vettori da essi derivati (pBR e serie pUC).</p> <p>Inserzione di frammenti in vettori plasmidici.</p> <p>Metodi di trasformazione dei batteri.</p> <p>Selezione ed analisi di cloni ricombinanti (inattivazione inserzionale, alfa-complementazione).</p> <p>Estrazione del DNA plasmidico da batteri.</p> <p>Tecniche di risoluzione degli acidi nucleici (gel d'agarosio, gel di acrilammide).</p> <p>Vettori basati sul batteriofago lambda (vettori di sostituzione e vettori di inserzione).</p> <p>Fago M13.</p> <p>Costruzione e screening di genoteche genomiche e di cDNA.</p> <p>Metodi di marcatura, con isotopi radioattivi e con sistemi non radioattivi (DIG ossigenina, biotina), lungo tutta l'elica di DNA o alle estremita' della molecola.</p> <p>Ibridazione molecolare con sonde radioattive e non radioattive.</p> <p>Sistemi di rivelazione delle sonde marcate.</p> <p>Vettori di espressione.</p> <p>Proteine di fusione, costruzione dei cloni per l'espressione e la purificazione (immunocromatografia e cromatografia per affinita').</p> <p>Screening immunologico di una genoteca di espressione.</p> <p>Tecniche di sequenziamento: Maxam e Gilbert, Sanger, automatico con l'impiego di fluorocromi.</p> <p>Valutazione dell'espressione di singoli geni: RT-PCR, Northern blot, RNAsi protection</p> <p>Caratterizzazione di sequenze regolative: costruzioni plasmidiche con geni repoter, DNA Binding assay, Footprinting</p> <p>Amplificazione in vitro di sequenze di DNA: PCR (nested, colony, asimmetrica, RT-PCR)</p>
ORE	Laboratori
24	<p>Restrizione del DNA ed analisi dei prodotti su gel di agarosio.</p> <p>Reazione di ligasi e trasformazione in cellule batteriche.</p> <p>Selezione dei cloni ricombinanti.</p> <p>Colony hybridization.</p> <p>Minipreps.</p> <p>Southern blotting ed ibridazione con sonda marcata con DIG ossigenina.</p> <p>PCR</p>