

Attività formativa:	BIOLOGIA MOLECOLARE				
Modulo didattico:	LABORATORIO BIOLOGIA MOLECOLARE				
CFU	2				
Ore	30				
Tipo	Esercitazioni di Laboratorio				
Obiettivo formativo	Al termine del modulo, lo studente acquisisce familiarità con tecniche di biologia molecolare, DNA ricombinante ed espressione di proteine eterologhe in E.coli. Lo studente ha modo di utilizzare queste tecniche individualmente nell'ambito di un breve progetto in laboratorio.				
TEMATICA			LEZIONI		
Tema	Obiettivo	Ore		Argomenti	Durata (ore)
Introduzione e PCR	Lo studente viene introdotto al corso; apprende i termini generali del progetto e delle tecniche che si utilizzeranno nel corso. Vengono compresi i fondamenti teorici alla base del funzionamento della PCR e le modalità di calcolo e sviluppo di un protocollo di reazione PCR.	4	1	Introduzione al progetto di laboratorio, obiettivi e procedure sperimentali. Polymerase Chain Reaction, PCR; cenni sulla storia, evoluzione e applicazioni della tecnica. Svolgimento pratico della reazione a partire dal calcolo delle quantità dei reagenti e sviluppo del protocollo di PCR, fino all'utilizzo della macchina. Solgimento di esercizi scritti finalizzati alla comprensione della tecnica e alla valutazione delle sue potenzialità.	4
Generazione di DNA plasmidico ricombinante	Lo studente svolge elettroforesi su gel di agarosio, apprende ed esegue la reazione di restrizione e ligazione di DNA a doppia elica. Conosce le modalità di strategie di clonaggio del DNA in un plasmide. Acquisisce la tecnica 'heat shock' di trasformazione di cellule di E.coli, di coltura solida e liquida del batterio, e l'importanza della selezione con antibiotici.	16	2	Elettroforesi su gel di agarosio: polimerizzazione e corsa del gel e visualizzazione del DNA. Utilizzo di enzimi di restrizione.	4
				Ligazione. Trasformazione di cellule competenti di E.coli e coltura su terreno arricchito in antibiotici. Cloni e colonie di E.coli.	4
			3	Isolamento e controllo del DNA plasmidico da coltura liquida di E. coli. Ceppi e usi di E.coli.	8
Espressione di proteine eterologhe in E.coli	Lo studente apprende come si esegue l'espressione di una proteina eterologa utilizzando il sistema T7. Conosce il significato di inducibilità dell'espressione genica.	10	4	Coltura cellulare di BL21. Induttori gratuiti. Sistema T7	8
			5	SDS PAGE. Elettroforesi verticale di proteine su gel di poliacrilammide	2