UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

COURSE SYLLABUS

Biochemistry Practical Course

2021-2-E0201Q052-E0201Q063M

Obiettivi

L'insegnamento si propone di far acquisire agli studenti le conoscenze teorico-pratiche per l'applicazione di metodologie sperimentali di biochimica cellulare, mediante l'esecuzione di semplici esperimenti di espressione ed analisi di proteine in cellule di mammifero e la discussione dei risultati ottenuti.

Conoscenze e capacità di comprensione. Consolidare ed approfondire le conoscenze di base (teoriche, tecniche e metodologiche) già oggetto del corso frontale di biochimica.

Capacità di applicare conoscenze e comprensione. Essere in grado di eseguire ed interpretare correttamente i protocolli sperimentali di biochimica, riconoscerne gli aspetti salienti, raccogliere ed elaborare i dati sperimentali.

Autonomia di giudizio. Essere in grado di elaborare in modo critico il disegno sperimentale e i risultati ottenuti. Essere in grado di riconoscere i contesti in cui è opportuno applicare i metodi sperimentali eseguiti.

Abilità comunicative. Essere in grado di rielaborare i dati sperimentali ottenuti e descrivere i risultati conseguiti in un linguaggio scientifico appropriato.

Capacità di apprendimento. Essere in grado di interpretare correttamente protocolli sperimentali di biochimica in contesti diversi da quelli affrontati durante le esperienze pratiche di laboratorio.

Contenuti sintetici

1. Manipolazione e propagazione di cellule di mammifero in vitro;
2. Tecniche asettiche per la protezione dell'operatore, delle colture cellulari e dell'ambiente;
3. Curve di crescita cellulare e tempo di duplicazione in vitro;
4. Utilizzo di una tecnica che permette l'introduzione di acidi nucleici all'interno di cellule di mammifero, mediante una metodica chimica, in un processo definito "trasfezione";

5. Quantizzazione proteica mediante saggio spettrofotometrici;
6. Analisi di attivita enzimatica mediante saggi spettrofotometrici;
7. Analisi di espressione proteica mediante microscopia a fluorescenza;
8. Analisi espressione proteica mediante tecnica western blot;
9. Analisi critica dei risultati ottenuti mediante l'utilizzo delle sopraindicate tecniche.

Programma esteso

1. Manipolazione e propagazione di cellule di topo e umane in vitro in particolare NIH3T3 immortalizzate e trasformate con l'oncogene K-Ras;
2. Tecniche asettiche per la protezione dell'operatore, delle colture cellulari e dell'ambiente, in particolare allo studente sarà spiegato l'uso di una cappa biologica sterile, l'utilizzo di materiale sterile e i comportamenti necessari per preservare tale sterilità;
3. Curve di crescita cellulare e tempo di raddoppiamento in vitro in particolare NIH3T3 immortalizzate e trasformate con l'oncogene K-Ras saranno analizzate in diverse condizioni di crescita;
4. Utilizzo di una tecnica che permette l'introduzione di acidi nucleici all'interno di cellule di mammifero, mediante una metodica chimica, in un processo definito "trasfezione", in particolare sarà utilizzata la tecnica del Calcio-Fosfato;
5. Quantizzazione proteica mediante saggio spettrofotometrico, in particolare lo studente valuterà la concentrazione proteica di un estratto cellulare mediante metodo Bradford;
6. Analisi di attività enzimatica mediante saggio spettrofotometrico, in particolare lo studente analizzerà l'attivita enzimatica della proteina beta-galattosidasi;
7. Analisi di espressione proteica mediante microscopia a fluorescenza, in particolare lo studente analizzerà l'espressione della proteina Green Fluorescent Protein in seguito alla sua espressione mediante un plasmide in cellule di mammifero;
8. Analisi di espressione proteica mediante tecnica western blot, in particolare lo studente eseguirà la completa procedura utilizzata per analizzare l'espressione della proteina Green Fluorescent Protein in seguito alla sua espressione mediante un plasmide in cellule di mammifero;
9. Analisi critica dei risultati ottenuti mediante l'utilizzo delle sopraindicate tecniche.

Prerequisiti

Prerequisiti: Frequenza del corso di Biochimica.
Propedeuticità specifiche: nessuna
Propedeuticità generali: lo studente potrà sostenere l'esame solo previo superamento degli esami di Istituzioni di Biologia, Chimica generale ed inorganica e Matematica, Lingua Straniera.

Modalità didattica

Ciascun modulo didattico viene erogato a gruppi di 35-40 studenti, attraverso lezioni pratiche che si svolgono presso un laboratorio didattico. L'esecuzione di esperimenti è preceduta da brevi lezioni introduttive di ciascun argomento. La discussione dei risultati sperimentali, generalmente alla fine di ciascun modulo didattico, avrà luogo nello stesso laboratorio didattico. Per maggiori dettagli si rimanda al calendario delle lezioni di LTA (v. sito del CdL in Biotecnologie).

Materiale didattico

Il materiale didattico (dispense, slide, dati sperimentali) è disponibile sulla pagina e-learning dell'unità didattica di LTA-Biochimica.

Periodo di erogazione dell'insegnamento

Secondo semestre

Modalità di verifica del profitto e valutazione

Esame scritto di 2 h. La prova consiste di 6 domande a risposta multipla e 2 domande aperte che prevedono una risposta articolata e dettagliata.

Orario di ricevimento

Ricevimento: su appuntamento, previa richiesta per mail ai docenti.