

## SYLLABUS DEL CORSO

### Laboratorio Tecnologie Abilitanti Biochimiche

2425-2-E0201Q052-E0201Q063M

---

#### Obiettivi

L'insegnamento si propone di fare acquisire agli student\* le conoscenze teorico-pratiche per l'applicazione di metodologie sperimentali di biochimica e biochimica cellulare. In particolare, gli student\* eseguiranno diverse tipologie di esperimenti che permetteranno loro di acquisire la capacità di lavorare in sterilità con diversi modelli cellulari di mammifero e di analizzare il loro comportamento in diverse condizioni sperimentali. L'esperienza sperimentale verrà corredata con nozioni di base di elaborazione e analisi dei risultati sperimentali ottenuti durante il corso pratico. 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 e biochimica cellulare, riconoscere 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 attività enzimatica mediante saggi spettrofotometrici;
7. Analisi di localizzazione proteica mediante microscopia a fluorescenza;
8. Analisi dell'espressione proteica mediante tecnica western blot;

9. Analisi espressione proteica mediante tecnica fluorimetrica;
10. Analisi della vitalità cellulare mediante saggio spettrofotometrico;
11. Analisi critica dei risultati ottenuti mediante l'utilizzo delle sopraindicate tecniche.

## **Programma esteso**

1. Manipolazione e propagazione di cellule murine e umane in vitro in particolare NIH3T3 immortalizzate e trasformate con l'oncogene K-Ras, HEK293 e MDA-MB-231
2. Tecniche aseptiche 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'attività 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 della vitalità cellulare mediante saggio spettrofotometrico denominato MTT
10. 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 in modalità interattiva che si svolgono presso un laboratorio didattico dedicato. L'esecuzione di esperimenti è preceduta da brevi lezioni introduttive di ciascun argomento. La discussione dei risultati sperimentali, generalmente alla fine di ciascun esperimento, avrà luogo nello stesso laboratorio didattico. Per maggiori dettagli si rimanda al calendario delle lezioni di LTA (v. sito del CdL in Biotecnologie). La frequenza del laboratorio è obbligatoria.

Lingua dell'insegnamento: italiano

## **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**

Test a Risposte Chiuse e Domande Aperte

L'esame viene svolto in modalità telematica in presenza. Infatti gli student\* accederanno all'esame attraverso la piattaforma Piattaforma Esami Informatizzati (Moodle) di Ateneo. L'esame ha una durata di 1h and 30 minuti. La prova consiste di un Test a risposte Chiuse (20 domande a risposta multipla), e 2 domande aperte che prevedono una risposta articolata e dettagliata (breve saggio). Sia le domande a risposta multipla che quelle aperte intendono verificare la preparazione dello student\* sia per la parte teorica che pratica erogati entrambi durante il corso. Comunque entrambi le nozioni trovano riscontro nel materiale già in possesso dello student\*. Queste informazioni verranno ripetute e approfondite durante le discussioni in laboratorio didattico.

## **Orario di ricevimento**

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

## **Sustainable Development Goals**

ISTRUZIONE DI QUALITÀ

---