UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

# COURSE SYLLABUS

# Introduction To Laboratory Techniques

**2627-2-E1302Q079**

## Obiettivi

Questo insegnamento si propone di fornire agli studenti una conoscenza di base delle più comuni tecniche biochimiche e del DNA ricombinante. Il corso mira inoltre a illustrare la complementarietà tra le strategie di clonaggio, la produzione, purificazione e caratterizzazione (strutturale e funzionale, con particolare enfasi sull'attività enzimatica) delle proteine ricombinanti.

Conoscenza e capacità di comprensione - al termine dell'insegnamento lo studente dovrà conoscere i principi teorici delle principali tecniche di laboratorio biochimico e di tecniche di base per la manipolazione del DNA ricombinante.
Capacità di applicare conoscenza e comprensione - al termine dell'insegnamento lo studente dovrà essere in grado di applicare le conoscenze acquisite nella scelta di un approccio sperimentale per il clonaggio di DNA, la produzione, purificazione e caratterizzazione di proteine; tali conoscenze verranno anche applicate nei corsi successivi, in particolare nel corso di Laboratorio Integrato di Biologia (LIB).

Autonomia di giudizio - al termine dell'insegnamento, lo studente sarà in grado di riconoscere e comprendere i passaggi principali di un protocollo di clonaggio di DNA plasmidico, produzione di proteine ricombinanti, purificazione e caratterizzazione strutturale di proteine.

Abilità comunicative - alla fine dell'insegnamento lo studente avrà acquisito un vocabolario tecnico-scientifico adeguato e saprà esporre con proprietà di linguaggio gli argomenti trattati nel corso.

Capacità di apprendimento - alla fine dell'insegnamento è atteso che lo studente sia in grado di comprendere e riconoscere le metodologie apprese in diversi contesti (ad esempio, in articoli scientifici, relazioni e protocolli sperimentali).

## Contenuti sintetici

1. Metodi del DNA ricombinante per il clonaggio e la produzione di proteine ricombinanti
2. Tecniche preparative per l'estrazione e l'arricchimento di proteine
3. Tecniche elettroforetiche ed immunochimiche
4. Tecniche per il dosaggio delle proteine e dell'attività enzimatica
5. Tecniche preparative per la purificazione di proteine
6. Alcune tecniche spettroscopiche per l'analisi conformazionale delle proteine

## Programma esteso

**1. Metodi del DNA ricombinante, per il clonaggio e la produzione di proteine ricombinanti.** Strategia di produzione di proteine ricombinanti; Clonaggio genico con enzimi di restrizione e di ligazione; Scelte di vettori e di ospiti di clonaggio; Amplificazione del DNA (polymerase chain reaction); Metodi di estrazione del DNA plasmidico; Elettroforesi del DNA; Elettroforesi capillare; Sequenziamento del DNA con metodo di Sanger.
**2. Tecniche preparative per l'estrazione e l'arricchimento di proteine**. Tecniche centrifugative e di ultrafiltrazione; Precipitazione e frazionamento in ammonio solfato; Tecniche di lisi cellulare e centrifugazione frazionata.
**3. Tecniche elettroforetiche ed immunochimiche.** Elettroforesi in condizioni native e denaturanti (SDS-PAGE); Western blotting; Introduzione alle tecniche immunochimiche; Immunoprecipitazione, ELISA
**4. Tecniche per il dosaggio delle proteine e dell'attività enzimatica.** Dosaggio della concentrazione proteica; Saggi di attività enzimatica; Tabella di purificazione.
**5. Tecniche preparative per la purificazione di proteine.** Introduzione alle tecniche cromatografiche; Introduzione alle tecniche cromatografiche; Cromatografia di esclusione molecolare; Cromatografia a scambio ionico; Cromatografia di interazione idrofobica e reverse phase; Cromatografia di affinità; HPLC ed FPLC; Valutare l'andamento di una purificazione.
**6. Tecniche biofisiche per l'analisi conformazionale delle proteine.** Introduzione alla spettrofotometria e assorbimento in UV-vis; Spettroscopia di dicroismo circolare; Spettrofluorimetria; Tecniche di fluorescence resonance energy transfer (FRET).

## Prerequisiti

È necessaria la conoscenza di concetti basilari di fisica, chimica generale ed organica. I principi chimico-fisici e le nozioni di biochimica essenziali per la comprensione delle diverse metodologie verranno esposti brevemente o ricapitolati all’inizio delle lezioni.

## Modalità didattica

L'insegnamento prevede 24 lezioni (6 CFU) che si svolgeranno in presenza, promuovendo la partecipazione attiva attraverso l'analisi e interpretazione di dati sperimentali. Il materiale di studio includerà *protocol book*, riviste di metodologia scientifica e articoli scientifici.

Ciascuna lezione sarà supportata da presentazioni PowerPoint, video e analisi di metodi sperimentali. In base alle richieste degli studenti frequentanti, potranno essere introdotti nuovi argomenti di studio.

In base al numero e alle richieste degli studenti frequentanti, potranno essere svolti lavori di gruppo, volti all’analisi di metodi sperimentali ed alla loro complementarietà.

## Materiale didattico

**Libri di testo:**

- K. Wilson & J. Walker (2000) “Biochimica e Biologia Molecolare” Cortina, 2006
- M. C. Bonaccorsi di Patti, R. Contestabile, M. L. Di Salvo “Metodologie Biochimiche” Casa Editrice Ambrosiana, 2012

**Materiale didattico reperibile sulla pagina Moodle dell’insegnamento**:

- Slide delle lezioni
- Domande ed esercizi d'esame
- Articoli scientifici selezionati dal docente

## Periodo di erogazione dell'insegnamento

Secondo semestre

## Modalità di verifica del profitto e valutazione

**Esame scritto + orale.**
L'esame consiste in una prova scritta (60 minuti) e una prova orale (circa 20 minuti).
La prova scritta comprende quesiti a risposta multipla, esercizi domande aperte, con un punteggio massimo di 30 punti. Per essere ammessi alla prova orale, è necessario ottenere un minimo di 17,5 punti.
La prova orale si basa su due o tre domande relative all'intero programma. Il voto della prova scritta costituisce la base della valutazione finale. La prova orale consente di confermare, migliorare o ridimensionare il risultato ottenuto, sulla base della capacità di integrare conoscenze, interpretare dati sperimentali e discutere criticamente approcci metodologici.
Entrambe le prove mirano a valutare le conoscenze teoriche, la capacità di interpretare dati sperimentali e di stabilire relazioni tra tecniche e approcci sperimentali diversi. Verranno inoltre valutate le capacità espositive e l'uso di un linguaggio scientificamente e tecnicamente appropriato.

Non sono previste prove *in itinere*.

## Orario di ricevimento

Su appuntamento, per mail a stefania.brocca@unimib.it

## Sustainable Development Goals

ISTRUZIONE DI QUALITÁ