



# UNIVERSITÀ DI PAVIA

Anno Accademico 2021/2022

## LABORATORIO INTEGRATO DI BIOTECNOLOGIE MOLECOLARI

<b>Anno immatricolazione</b>	2019/2020
<b>Anno offerta</b>	2021/2022
<b>Normativa</b>	DM270
<b>SSD</b>	BIO/13 (BIOLOGIA APPLICATA)
<b>Dipartimento</b>	DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA E BIOTECNOLOGIE "LAZZARO SPALLANZANI"
<b>Corso di studio</b>	BIOTECNOLOGIE
<b>Curriculum</b>	Biomolecolare
<b>Anno di corso</b>	3°
<b>Periodo didattico</b>	Primo Semestre (01/10/2021 - 14/01/2022)
<b>Crediti</b>	12
<b>Ore</b>	144 ore di attività frontale
<b>Lingua insegnamento</b>	ITALIANO
<b>Tipo esame</b>	ORALE
<b>Docente</b>	NERGADZE SOLOMON (titolare) - 3 CFU CHIARELLI LAURENT ROBERT - 3 CFU GRUGNI VIOLA - 3 CFU SCOFFONE VIOLA CAMILLA - 3 CFU
<b>Prerequisiti</b>	Il corso consiste in una serie di attività di laboratorio, che coprono i principali campi delle biotecnologie molecolari. Per seguire meglio il corso lo studente deve aver quindi frequentato i corsi e acquisito le conoscenze nelle materie di base, in genetica, biologia molecolare, microbiologia generale e biochimica.
<b>Obiettivi formativi</b>	L'obiettivo del corso è di fornire agli studenti gli strumenti teorici e pratici per operare all'interno di un laboratorio. Il corso è suddiviso in quattro Moduli che rappresentano i principali campi delle biotecnologie molecolari: modulo 1 biologia molecolare, modulo 2 genetica, modulo 3 microbiologia e modulo 4 biochimica. Durante il corso verranno quindi fornite le conoscenze di base relative

alle principali tecniche per la manipolazione del DNA e e l'analisi della variabilità genetica umana (moduli 1 e 2), effettuare esperimenti di microbiologia (modulo 3) ed affrontare studio funzionale e strutturale delle proteine (moduli 4 e 1).

#### Programma e contenuti

Modulo 1. In questo modulo verranno affrontate le principali tecniche di manipolazione del DNA, quali: PCR (Polimerase Chain Reaction), estrazione di DNA genomico da cellule batteriche; digestione con enzimi di restrizione di DNA genomici e plasmidici; elettroforesi in gel di agarosio; analisi di Restrizione - costruzione di una mappa di restrizione. Inoltre in questo modulo sarà affrontata la biologia strutturale delle proteine, attraverso: esperimenti di cristallizzazione del lisozima mediante diverse tecniche; analisi dei risultati al microscopio e costruzione del diagramma di fase; biologia strutturale computazionale utilizzo di softwares per determinazione ed analisi di strutture tridimensionali di macromolecole biologiche.

Modulo 2. Questo modulo fa da ponte tra il modulo 1 e il modulo 4 in quanto da una parte applica le metodologie di analisi del DNA apprese nel modulo di Biologia Molecolare all'analisi della variabilità genetica umana e dall'altra affronta la costruzione di un vettore di espressione ricombinante per la produzione di una proteina che sarà oggetto di studio nel modulo di Biochimica. In particolare l'esperienza pratica prevede: isolamento di DNA umano e realizzazione di test genetici per determinare la sensibilità al gusto amaro (con assaggio di PROP) associata a varianti polimorfiche del gene TAS2R38; clonaggio in un vettore di espressione pET del gene della nitroreduktasi, la cui purificazione e analisi di attività enzimatica saranno obiettivi del modulo di Biochimica; identificazione dei cloni ricombinanti tramite PCR e estrazione di DNA plasmidico.

Modulo 3. Lo scopo di questo corso di laboratorio è quello di far apprendere agli studenti le tecniche di microbiologia di base, quali: allestimento e crescita di colture batteriche; tecniche di colorazione con osservazione al microscopio ottico; isolamento di microrganismi da campioni ambientali su terreni selettivi; identificazione batterica mediante test biochimici; valutazione dell'azione di agenti antimicrobici mediante diverse tecniche.

Modulo 4. Questo modulo affronterà i principali metodi e tecniche per l'estrazione e purificazione delle proteine sia da fonti naturali, sia prodotte in forma ricombinante: preparazione di soluzioni tampone per sistemi biologici e misurazione del pH; tecniche cromatografiche per la separazione di proteine; tecniche spettrofotometriche; centrifugazione; metodi di quantificazione delle proteine; elettroforesi di proteine; dosaggi di attività. Durante le esercitazioni verranno richiamate le basi teoriche delle tecniche adottate.

#### Metodi didattici

L'insegnamento verrà svolto attraverso una serie di esperimenti condotti in laboratori didattici, corredati da brevi lezioni teoriche sulla tecniche applicate.

#### Testi di riferimento

Testi adottati per i corsi di Genetica, Microbiologia, Biochimica e

Biologia Molecolare. Appunti delle lezioni e materiale fornito dal docente.

**Modalità verifica  
apprendimento**

La modalità di verifica è tramite test scritti, che verranno effettuati alla fine dei vari moduli, costituiti da domande a scelta multipla e aperte. Per ciascun modulo è richiesta la frequenza di almeno il 75% delle ore.  
Tipo voto/giudizio: Idoneo/Non Idoneo.

**Altre informazioni**

E' richiesto agli studenti di portare  
(a) un camice da indossare durante gli esperimenti  
(b) un righello che misura 20 cm

**Obiettivi Agenda 2030 per lo  
sviluppo sostenibile**

[\\$Ibl legenda sviluppo sostenibile](#)