

ANNO ACCADEMICO: **2016-2017**INSEGNAMENTO/MODULO: **BIOCHIMICA APPLICATA**TIPOLOGIA DI ATTIVITÀ FORMATIVA: **Base**DOCENTE: **Prof. Angelo BRACALELLO**e-mail: **angelo.bracalello@unibas.it**

sito web:

telefono: **0971/205949**cell. di servizio: **3204371108**

Lingua di insegnamento: ITALIANO

n. CFU: **6**(5 di lezione e 1 di
esercitazioni/laboratorio)n. ore: **52**(40 di lezione e 12 di
esercitazione/laboratorio)Sede: **Potenza**

Dipartimento/Scuola:

Dipartimento di ScienzeCdS: **BIOTECNOLOGIE (L2)**Semestre: **I**(date previste di
inizio e fine corso:
dal 03/10/2016 al
15-31/01/2017)**OBIETTIVI FORMATIVI E RISULTATI DI APPRENDIMENTO**

Il corso si propone di fornire allo studente le competenze teorico-pratiche delle principali metodologie di base adottate nei laboratori di Biochimica e Biologia Molecolare.

Al termine del corso lo studente deve saper illustrare i principi su cui si basano le metodiche trattate durante il corso e di saper formulare modelli di schemi operativi.

PREREQUISITI

Non richiesti.

Tuttavia sono raccomandate solide basi di Biochimica e Biologia Molecolare, Chimica Generale e Organica, nonché alcuni principi di fisica al fine di raggiungere una comprensione globale degli argomenti proposti.

CONTENUTI DEL CORSO

Tecniche elettroforetiche (8 ore): principi generali, materiali di supporto. Gel di poliacrilammide e agarosio.

Elettroforesi delle proteine: SDS-page. Elettroforesi in condizioni native. Elettroforesi in gradiente. Elettroforesi bidimensionale. Isoelettrofocalizzazione. Elettroforesi degli acidi nucleici: elettroforesi su gel di agarosio, elettroforesi su gel di poliacrilammide. PFGE. Western, Northern e Southern blotting.

Tecniche radioisotopiche (4 ore): struttura dell'atomo. Stabilità atomica e radiazione. Tipi di decadimento radioattivo. Unità di misura della radioattività. Principali isotopi usati in campo biotecnologico. Rivelazione e misura della radioattività. Metodi basati sulla ionizzazione dei gas: il contatore Geiger-Muller. Metodi basati sull'eccitazione: i contatori a scintillazione. Metodi basati sull'esposizione di emulsioni fotografiche: autoradiografia, dosimetri. Fluorescenza e fluorocromi: caratteristiche fisicochimiche e spettrali.

Tecniche di centrifugazione (4 ore): principi di base della sedimentazione, il coefficiente di sedimentazione. Tipi di centrifughe. Ultracentrifughe preparative e analitiche. Tipi di rotor. Clearing Factor. Centrifugazione differenziale. Centrifugazione in gradiente di densità. Centrifugazione zonale ed isopicnica.

Tecniche cromatografiche (6 ore): principi generali. Cromatografia a bassa pressione su colonna. Cromatografia liquida ad alta risoluzione (HPLC, FPLC). Cromatografia di ripartizione: cromatografia liquida in fase normale e fase inversa. Cromatografia ad esclusione molecolare. Cromatografia a scambio ionico. Cromatografia di affinità.

Tecniche per la determinazione della concentrazione mediante dosaggio spettrofotometrico (6 ore): legge di Lambert-Beer e sue applicazioni quantitative, concetto di curva di taratura. Curva di dissociazione del DNA ed effetto ipercromico. Metodi per la determinazione della concentrazione degli acidi nucleici, Metodi diretti ed indiretti per il dosaggio della concentrazione delle proteine: metodo del Biuret, metodo di Lowry, Metodo del BCA, metodo di Bradford.

Analisi degli acidi nucleici (12 ore): Sistemi di restrizione e modificazione. Enzimi di classe I, II, III. Modificazione delle estremità coesive: Filling-in e trimming. La reazione a catena della polimerasi: Taq, disegno dei primers, concentrazioni ottimali di stampo, primers, dNTP, cationi bivalenti. Numero di cicli. Booster e nested PCR. RT-PCR. Real Time PCR. Tecniche di clonaggio: principi generali, clonaggio sticky, blunt e TA, Vettori di clonaggio: caratteristiche generali, plasmidi, fagi, cosmidi, YAC e BAC. Screening blue/white. Vettori di espressione: caratteristiche generali, ottimizzazione della traduzione. Proteine native e di fusione.

METODI DIDATTICI

Il corso prevede 52 ore di lezione di cui 40 frontali durante le quali saranno trattati tutti gli argomenti del corso e 12 di esercitazione/laboratorio che verteranno sull' applicazione pratica di alcune delle tecniche trattate durante il corso. E' prevista inoltre una esercitazione in aula multimediale.

MODALITÀ DI VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO

Esame orale che prevede la formulazione di almeno tre domande. Il voto è attribuito in funzione della maturità e delle competenze dimostrate dallo studente nell' esposizione delle risposte.

TESTI DI RIFERIMENTO E DI APPROFONDIMENTO, MATERIALE DIDATTICO ON-LINE

K. Wilson , J. Walker Biochimica e Biologia Molecolare, principi e tecniche Ed. R. Cortina

Susan J. Karcher Laboratorio di Biologia Molecolare Ed. Zanichelli

Diapositive del corso da consultare previo accordo con il docente.

○

METODI E MODALITÀ DI GESTIONE DEI RAPPORTI CON GLI STUDENTI

Orari di ricevimento: martedì' e Giovedì' dalle 14,30 alle 16,30.

Al di fuori di questi orari è sempre possibile avere un colloquio con il docente previo appuntamento.

DATE DI ESAME PREVISTE¹

31/01/2017; 07/02/2017; 01/03/2017; 27/06/2017; 18/07/2017; 12/09/2017; 18/12/2017.

SEMINARI DI ESPERTI ESTERNI SI ☐ NO ☒

ALTRE INFORMAZIONI
