UNIVERSITÀ DI PISA

METODOLOGIE BIOCHIMICHE E DI BIOLOGIA MOLECOLARE PER LO STUDIO DELLE RISPOSTE CELLULARI AI NUTRIENTI

LAURA BETTI

Academic year	2023/24
Course	SCIENZE DELLA NUTRIZIONE UMANA
Code	523EE
Credits	3

Modules	Area	Type	Hours	Teacher(s)
METODOLOGIE BIOCHIMICHE E DI BIOLOGIA MOLECOLARE PER LO STUDIO DELLE RISPOSTE CELLULARI AI NUTRIENTI	BIO/13	LEZIONI	29	LAURA BETTI BARBARA COSTA

Obiettivi di apprendimento

Conoscenze
Al termine del corso lo studente avrà acquisito conoscenze in merito agli strumenti e le metodologie principalmente utilizzati per lo studio di preparati biologici.

Modalità di verifica delle conoscenze
Gli argomenti affrontati durante le lezioni frontali e le esercitazioni pratiche saranno utilizzati per accertare l'acquisizione da parte dello studente degli obiettivi stabiliti.

Capacità
Al termine del corso:

- lo studente saprà riconoscere i principali strumenti e metodi di analisi utili allo studio di campioni biologici
- lo studente sarà in grado di illustrare il funzionamento di tali strumenti
- lo studente sarà in grado di riconoscere i risultati prodotti dai suddetti metodi di analisi

Comportamenti

- Lo studente potrà saper individuare gli strumenti adatti all'analisi di un particolare campione biologico.
- Lo studente acquisirà familiarità con le modalità operative dei principali strumenti presenti nel laboratorio biologico.

Lo studente saprà individuare limitazioni e punti di forza dei vari metodi di analisi per campioni biologici

Modalità di verifica dei comportamenti

- Durante le sessioni di laboratorio sarà valutato il grado di conoscenza dei principi di operatività dello strumento.
- Durante le sessioni di laboratorio sarà valutata la capacità dello studente di interpretare i risultati prodotti dall'analisi del campione biologico.

Prerequisiti (conoscenze iniziali)

Conoscenze di biologia animale e biochimica.

Programma (contenuti dell'insegnamento)
Durante il corso saranno trattate dal punto di vista teorico/pratico le metodiche comunemente impiegate nel laboratorio biologico per l'analisi di:

- Acidi nucleici
- Proteine
- Miscele di composti biologici
- Colture cellulari

Programma Dettagliato

Lezioni Teoriche: 2CFU (14 ore = 7 lezioni frontali di 2 ore)

Argomenti:

-Approccio morfologico/strutturale per lo studio dei campioni biologici: strumenti per l'analisi morfologica; vari tipi di microscopi; principi dell'immunoistochimica.

-Approccio biochimico/funzionale per lo studio dei campioni biologici: frazionamento cellulare e subcellulare mediante centrifugazione differenziale; separazione di proteine mediante metodi cromatografici e elettroforetici; analisi WB. Elettroforesi delle proteine plasmatiche.

-Colture Cellulari: usi sperimentali; tipi di colture; linee a vita finita e continue; banche cellulari; curva di crescita; subcoltivazione; metodi per la conta cellulare; metodica per la crioconservazione e per lo scongelamento; equipaggiamento essenziale per la coltivazione cellulare; classificazione di agenti biologici sulla base del grado di pericolosità per l'uomo; caratteristiche dei terreni di coltura; contaminanti di colture cellulari e strategie per contrastarne la crescita.

-Metodiche di biologia molecolare: clonaggio, trasfezione transiente e stabile; tecniche comunemente impiegate per l'estrazione degli acidi nucleici e loro quantificazione spettrofotometrica. Analisi dell'espressione genica: RT-PCR, real time RT-PCR.

Laboratorio 1CFU (15 ore = 3 esercitazioni di 5 ore)

- Metodi indiretti per la quantificazione di proteine totali: metodo del biureto, di Bradford, di Lowry, e dell'acido bicinconico. Costruzione della retta di taratura (albumina bovina) mediante l'uso del metodo di Bradford e del biureto. Determinazione della concentrazione proteica incognita di un preparato biologico (omogenato di membrane derivanti da tessuto animale). Utilizzo dello spettrofotometro e della centrifuga. Separazione di macromolecole per gel d'esclusione, immunodosaggio ELISA.

Bibliografia e materiale didattico

Il materiale didattico, in formato elettronico, sarà fornito dai docenti a seguito delle ore di lezione frontale e di laboratorio.

Indicazioni per non frequentanti

Al fine di ottimizzare la preparazione dei contenuti oggetto del corso, gli studenti che non frequenteranno le lezioni e le esercitazioni potranno contattare i docenti.

Modalità d'esame

L'esame è composto di una prova scritta o orale.
La prova verterà sugli argomenti affrontati durante il corso. Tale prova servirà a verificare la capacità dello studente di individuare lo strumento più adatto all'analisi di un dato campione biologico, la capacità di illustrare i principi di funzionamento dello strumento, di riconoscere e interpretare il risultato dell'analisi.

Ultimo aggiornamento 28/08/2023 09:21