Facoltà di SCIENZE AGRARIE, ALIMENTARI E AMBIENTALI

Chiarissimo Prof. **EDOARDO PUGLISI**

Insegnamento: **TECNICHE BIOMOLECOLARI** (a.a. 2019/2020)

Obiettivo del corso e risultati di apprendimento attesi

L’insegnamento si propone di fornire agli studenti le conoscenze relative alle principali tecniche di biologia molecolare affinché siano in grado di comprenderne le basi molecolari e le possibili applicazioni, con particolare attenzione al settore alimentare.

Al termine dell’insegnamento lo studente conoscerà i principali meccanismi molecolari di metabolismo degli acidi nucleici, acquisirà competenze teoriche e di laboratorio per l’estrazione di DNA genomico o plasmidiale, per il clonaggio e per l’applicazione di tecniche di PCR e qPCR. Lo studente conoscerà le principali tecniche per la produzione di organismi transgenici, e per il loro monitoraggio tramite metodi molecolari e sarà in grado di comprendere la normativa vigente e la documentazione per la registrazione degli OGM in Italia ed in Europa. Acquisirà inoltre competenze di bioinformatica relative al reperimento ed interrogazione di informazioni in banche dati biologiche; saprà come analizzare un genoma batterico e sarà in grado di comprendere le principali tecnologie di sequenziamento del DNA. Sarà infine di comprendere le tecnologie più recenti di genome editing tramite CRISPR-CAS e le relative implicazioni etiche e legali.

Programma del corso

Cenni storici dello sviluppo delle tecniche biomolecolari. Richiami di genetica dei procarioti e degli eucarioti: metabolismo degli acidi nucleici, trasferimento genico orizzontale, regolazione dell’espressione genica.

 CFU 1

Il clonaggio del DNA: plasmidi, virus ed enzimi di restrizione. Metodi per l’estrazione del DNA genomico, plasmidico e virale. Enzimi per la manipolazione del DNA purificato: ligasi, nucleasi e polimerasi.

 CFU 1

Elettrofresi su gel. Mappe di restrizione in vitro ed in silico. Pulsed Field Gel Electrophoresis, Tecniche di ibridazione degli acidi nucleici, Northern Blot e Southern Blot. Introduzione e selezione del DNA in cellule vive. Trasformazione in piante tramite *Agrobacterium tumefaciens* e bio-balistica. La PCR. Identificazione di specie batteriche tramite amplificazione e sequenziamento del gene 16S. RAPD e tecniche di de-replicazione. La qPCR e sue applicazioni nel settore alimentare. Metodi coltivazione dipendenti e coltivazione indipendenti per lo studio dei patogeni negli alimenti

 CFU 1

Risk assessment ed analisi di DNA ricombinante negli alimenti. Metodi per detection, identificazione e quantificazione. Il framework regolatorio per gli OGM in Europa: Direttiva 2011/18/CE e Regolamento CE 1829/2003. I dossier per la registrazione degli OGM.

 CFU 1

Introduzione alla bioinformatica: definizioni e database. L’algoritmo BLAST. Le principali tecniche di sequenziamento: da Sanger a NGS. Analisi genomiche degli organismi: sequenziamento, assemblaggio, annotazione e ricerca di geni di interesse. Genome editing con tecnologia CRISPR-CAS.

 CFU 1

Esercitazioni. Estrazione e purificazione di DNA genomico e plasmidale. Elettroforesi su gel e mappe di restrizione. Clonaggio di un frammento di DNA in E. coli. qPCR.

 CFU 1

Bibliografia

T.A.Brown, *Gene Cloning and DNA analysis*, Wiley Blackwell (Biotecnologie molecolari. Principi e tecniche – Zanichelli)

David L Nelson, Michael M Cox, I principi di Biochimica di Lehninger, Zanichelli.

Bibliografia relativa a specifici argomenti, link per siti di interesse, e-books e documenti pdf saranno indicati nel corso delle lezioni.

Didattica del corso

Le lezioni in aula saranno supportate da presentazioni in power point, che saranno rese disponibili agli studenti via blackboard in formato PDF alla fine di ciascun credito. Agli argomenti trattati durante le lezioni frontali in aula sono affiancate esercitazioni pratiche in laboratorio.

Metodo e criteri di valutazione

La valutazione del corso sarà basata su un saggio di bioinformatica e un esame orale. Nel saggio di bioinformatica si valuterà la capacità di analizzare il genoma di un microorganismo di interesse alimentare, utilizzando software specifici per l’individuazione di antibiotico-resistenze, batteriocine, profagi, geni di virulenza e sequenze CRISPR-CAS. L’esame orale è volto a valutare le competenze teoriche e capacità di ragionamento. Nella valutazione finale sarà considerata anche la redazione del quaderno di laboratorio relativo alle attività pratiche svolte. Il voto finale sarà determinato per 1/3 dalla presentazione del genoma assegnato e dalla qualità del quaderno di laboratori, e per i restanti 2/3 dalla risposta a 4 domande orali relative all’intero programma d’esame.

Avvertenze e prerequisiti

Non vi sono prerequisiti per il corso.

Nel caso in cui la situazione sanitaria relativa alla pandemia di Covid-19 non dovesse consentire la didattica in presenza, sarà garantita l’erogazione a distanza dell’insegnamento con modalità, sincrone o asincrone, che verranno comunicate in tempo utile agli studenti

Orario e luogo di ricevimento degli studenti

Il Prof. Edoardo Puglisi riceve gli studenti dopo le ore di lezione presso la sezione di Microbiologia Agraria, Alimentare e Ambientale del Dipartimento di Scienze e Tecnologie Alimentari per una filiera agro-alimentare Sostenibile (DiSTAS).