# . - Tecniche Biomolecolari

## Prof. Alessandra Fontana

***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 plasmidico, 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***

|  |  |
| --- | --- |
|  | CFU |
| 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 | 1.0 |
| 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 | 1.0 |
| 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 | 1.0 |
| 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 | 1.0 |
| 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 | 1.0 |
| Esercitazioni. Estrazione e purificazione di DNA genomico e plasmidico. Elettroforesi su gel e mappe di restrizione. Clonaggio di un frammento di DNA in *E. coli*. qPCR. | 1.0 |

***BIBLIOGRAFIA***

F. AMALDI, P. BENEDETTI, G. PESOLE, P. PLEVANI, *Tecniche e metodi per la biologia molecolare,* Casa Editrice Ambrosiana, 2020.

T.A. BROWN, *Biotecnologie molecolari. Principi e tecniche,* seconda edizione, Zanichelli, 2017.

M.M. COX, J. DOUDNA, M. O'DONNELL, *Biologia molecolare. Principi e tecniche*, Zanichelli, 2013.

***DIDATTICA DEL CORSO***

1. Lezioni frontali di tipo teorico in cui saranno affrontati i temi principali del corso, tramite il supporto di presentazioni Power Point.
2. Esercitazioni in laboratorio relative all’applicazione delle tecniche biomolecolari.

***METODO E CRITERI DI VALUTAZIONE***

La verifica dell'apprendimento avviene attraverso una prova finale, che si terrà in forma orale. L'esame consiste in almeno tre domande volte ad accertare il livello di conoscenza, la comprensione e la capacità di collegamento acquisite dallo studente in riferimento agli argomenti trattati. Lo studente dovrà dimostrare di saper utilizzare correttamente il linguaggio e la terminologia scientifica propria della disciplina. Il voto finale sarà fornito dalla media dei punteggi ottenuti per ciascuno dei quesiti.

***AVVERTENZE E PREREQUISITI***

Durante il corso verranno fornite ulteriori indicazioni bibliografiche e sitografiche.

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***

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