

BIOLOGIA SPERIMENTALE ED APPLICATA (LM68)

(Lecce - Università degli Studi)

Insegnamento **TECNOLOGIE RICOMBINANTI**

GenCod A006889

Docente titolare Patrizia RAMPINO

Insegnamento TECNOLOGIE RICOMBINANTI

Insegnamento in inglese RECOMBINANT TECHNOLOGIES

Settore disciplinare BIO/13

Corso di studi di riferimento BIOLOGIA SPERIMENTALE ED APPLICATA

Tipo corso di studi Laurea Magistrale

Crediti 9.0

Ripartizione oraria Ore Attività frontale: 74.0

Per immatricolati nel 2024/2025

Erogato nel 2024/2025

Anno di corso 1

Lingua ITALIANO

Percorso PERCORSO COMUNE

Sede Lecce

Periodo Primo Semestre

Tipo esame Orale

Valutazione Voto Finale

Orario dell'insegnamento

<https://easyroom.unisalento.it/Orario>

BREVE DESCRIZIONE DEL CORSO

I contenuti dell'insegnamento sono finalizzati all'approfondimento delle basi metodologiche e scientifiche delle Tecnologie Ricombinanti e delle loro applicazioni nei diversi campi della biologia; un'attenzione particolare è rivolta alle singole reazioni che portano alla costruzione di una molecola di DNA ricombinante, al percorso scientifico che è alla base e alle considerazioni che determinano la scelta di metodiche diverse per risolvere problemi differenti.

L'insegnamento si compone di due moduli: un modulo di base (5 + 1 CFU) e un modulo (3 CFU) di approfondimenti specialistici relativi alle applicazioni delle Tecnologie Ricombinanti ai diversi sistemi modello, come per esempio l'ingegnerizzazione di microrganismi e di organismi superiori per la produzione di proteine ricombinanti per uso industriale o farmacologico.

PREREQUISITI

Conoscenze di Genetica, Biochimica e Biologia Molecolare

OBIETTIVI FORMATIVI

Conoscenze e comprensione

Lo studente dovrà acquisire una buona conoscenza di tutti gli argomenti trattati durante il corso, la capacità di collegamento tra i diversi argomenti e la conoscenza delle metodologie utili per l'applicazione delle Tecnologie Ricombinanti ai differenti campi della ricerca biologica. Oltre alla corretta terminologia scientifica, lo studente dovrà apprendere:

- le tecniche di base per la purificazione, l'analisi e la manipolazione degli acidi nucleici
- le tecniche utili per produrre una molecola di DNA ricombinante
- la conoscenze dei diversi tipi di vettori per il clonaggio e l'espressione di geni in sistemi eterologhi procariotici ed eucariotici

Capacità di applicare conoscenze e comprensione.

Lo studente dovrà essere in grado di:

- utilizzare il metodo più adatto di estrazione e purificazione di acidi nucleici da diverse fonti biologiche
- progettare un esperimento di clonaggio genico
- stabilire quale tipo di vettore utilizzare per lo scopo prefissato.

Autonomia di giudizio

Lo studente dovrà conseguire una consapevole autonomia di giudizio mediante la capacità di analizzare in maniera critica protocolli e strategie sperimentali nell'ambito delle tecnologie ricombinanti.

Abilità comunicative

Lo studente dovrà essere in grado di esporre le conoscenze acquisite con linguaggio scientifico appropriato.

Capacità di apprendimento Lo studente dovrà essere in grado di acquisire un metodo di apprendimento che gli consenta di ampliare e aggiornare di continuo le conoscenze e le competenze nell'ambito delle tecnologie ricombinanti.

METODI DIDATTICI

Lezioni frontali che prevedono l'uso di presentazioni in *Power Point*. L'insegnamento prevede un credito di esercitazioni pratiche da svolgere presso i laboratori didattici.

MODALITA' D'ESAME

Il conseguimento dei crediti attribuiti all'insegnamento è ottenuto mediante una prova orale, in cui si valutano i risultati di apprendimento complessivamente acquisiti dallo studente.

La votazione finale è espressa in trentesimi, con eventuale lode. Nell'attribuzione del punteggio finale si terrà conto:

- del livello di conoscenze teorico/pratiche acquisite (50%)
- della capacità di applicare le conoscenze teorico/pratiche acquisite (30%)
- dell'autonomia di giudizio (10%)
- delle abilità comunicative (10%)

PROGRAMMA ESTESO

Clonaggio genico: strumenti e tecniche del clonaggio genico; l'uso delle tecniche del DNA ricombinante nel clonaggio genico.

Vettori di clonaggio: plasmidi; batteriofagi; vettori per il lievito; vettori da virus ingegnerizzati.

Purificazione del DNA cellulare totale, del DNA plasmidico e del DNA fagico.

Manipolazione del DNA purificato; enzimi la manipolazione del DNA: nucleasi, ligasi, polimerasi, endonucleasi di restrizione, topoisomerasi.

Introduzione del DNA nelle cellule viventi: colture di cellule procariotiche ed eucariotiche; trasformazione batterica; identificazione dei batteri trasformati e dei ricombinanti; introduzione di DNA fagico nei batteri e identificazione dei fagi ricombinanti; trasferimento del DNA in cellule di lieviti, cellule vegetali, cellule animali.

Caratteristiche strutturali e funzionali dei vettori di clonaggio: vettori derivati da plasmidi di *E. coli*; vettori derivati dai fagi M13 e ; vettori per lievito ed altri funghi; vettori per cellule vegetali; vettori per cellule animali.

Applicazione del clonaggio all'analisi dei geni. Selezione di cloni specifici. Selezione diretta. Identificazione di un clone in una genoteca, costruzione di librerie genomiche e a cDNA. Metodi di identificazione dei cloni.

La reazione a catena della polimerasi (PCR). Analisi e clonaggio dei prodotti di PCR. Varianti della PCR.

Analisi della sequenza nucleotidica del DNA clonato.

Mutagenesi *in vitro*.

Il clonaggio genico nelle biotecnologie: caratteristiche strutturali dei vettori di espressione.

Produzione di proteine ricombinanti in sistemi eterologhi e problematiche relative. Produzione di proteine ricombinanti in cellule procariotiche ed eucariotiche; ottimizzazione delle condizioni di espressione.

Produzione di molecole ricombinanti per uso farmacologico (insulina, ormone della crescita, fattori di coagulazione, vaccino per l'epatite B, etc.).

Il trasferimento genico per la manipolazione genetica delle piante. Addizione di geni. Sottrazione genica. *Editing* genomico.

Metodi per la produzione di animali transgenici.

TESTI DI RIFERIMENTO

T.A. Brown - Biotecnologie molecolari-Principi e tecniche; III edizione 2022-Zanichelli