

PROGRAMMA PARTE PRATICA – docente dr. A. Bandiera

1- ESTRAZIONE DEL DNA

Estrazione DNA plasmidico mediante kit commerciale. Estrazione individuale DNA genomico mediante kit commerciale e valutazione della resa. Quantificazione mediante spettrofotometria UV

2- L' ELETTROFORESI SU GEL DI AGAROSIO

L'analisi elettroforetica dei campioni di DNA preparati in precedenza. Preparazione del gel, dei campioni e corsa elettroforetica. Rilevamento e analisi dei risultati. Allestimento di reazioni di restrizione sui DNA plasmidici per distinguere la sequenza mutata clonata.

3- GLI ENZIMI DI RESTRIZIONE

Corsa elettroforetica dei campioni derivanti dalla digestione con gli enzimi di restrizione e riconoscimento del plasmide contenente la sequenza mutata. Allestimento della reazione di PCR dal DNA genomico estratto in precedenza

4- I PRINCIPI DELLA PCR

Principio della PCR. Analisi elettroforetica dell'amplificazione mediante PCR di una regione del DNA genomico umano adatta a evidenziare polimorfismo.

Viene richiesta una relazione scritta relativa al lavoro svolto in laboratorio che DEVE essere consegnata alla fine di ogni esercitazione

CIASCUNA RELAZIONE SCRITTA VERRA' VALUTATA E CONCORRERA' A DETERMINARE IL VOTO RELATIVO A QUESTA PARTE DEL CORSO

MOLECULAR BIOLOGY LABORATORY COURSE” a. y. 2020-2021

LAB PRACTICE PROGRAM

1- DNA EXTRACTION

Plasmid DNA extraction by a commercial kit, Extraction of genomic DNA and evaluation of extraction yield. UV spectrophotometry quantification of sample concentration.

2- ELECTROPHORETIC ANALYSIS ON AGAROSE GEL

Electrophoretic run on agarose gel of DNA samples prepared in the previous exercise. Gel and samples preparation, electrophoretic run. Results detection and discussion. Set up of restriction reaction on plasmid DNA to detect a mutated sequence cloned in the vector.

3- RESTRICTION ENZYMES

Electrophoretic run of samples subjected to restriction analysis and identification of the vector carrying the mutated sequence. Set up of a PCR reaction with genomic DNA extracted in a previous exercise.

4- PCR: PRINCIPLES AND PROCEDURE

PCR reactions setting. Electrophoretic analysis of PCR amplification of a human DNA genomic region with polymorphism.

A written report on the activity carried out in the lab is required at the end of each exercise. Each report will be evaluated independently and will contribute to the final mark for the practical part of the course

		lezione	Pratica (per ogni turno)
1 ES	Estrazione DNA genomico e plasmidico con kit – analisi UV del DNA estratto	1	4
2 ES	Elettroforesi su gel di agarosio dei campioni di DNA. Allestimento di di reazioni di restrizione sul DNA plasmidico	1	4
3 ES	Analisi di restrizione per riconoscere una mutazione in una sequenza	1	4
4 ES	Analisi mediante PCR di polimorfismi presenti nel genoma umano	1	4
	TOTALE	4	16

Per ogni turno = 14 (max 15 studenti)

100 studenti =7 turni di 4 ore =28 ore per ogni esercitazione

28 ore x 4 esercitazioni totali = 112 ore totali + 4 ore lezione