

CORSO “LABORATORIO DI BIOLOGIA MOLECOLARE” a.a. 2024-2025

PROGRAMMA SECONDA PARTE PRATICA - docenti: dr. M.E. Zanchetta e Prof. S. Schoeftner

1- TRASFEZIONE TRANSIENTE PER SILENZIAMENTO GENICO (Zanchetta)

Metodiche di trasfezione. Trasfezione di siRNA in cellule U2OS con Lipofectamine. Allestimento individuale della reazione.

2- ISOLAMENTO DELL’RNA TOTALE DA CELLULE (Zanchetta)

Estrazione individuale dell’RNA totale da cellule U2OS con l’utilizzo di kit commerciale. Quantificazione mediante spettrofotometria UV e calcolo della concentrazione del campione ottenuto. Valutazione della purezza dell’RNA isolato.

3- RETRO-TRASCRIZIONE DA RNA TOTALE (Zanchetta)

Diluizione del campione di RNA estratto in precedenza. Allestimento individuale della reazione di retro-trascrizione con l’utilizzo di kit commerciale. Diluizione del cDNA sintetizzato. Allestimento delle reazioni di RT-qPCR.

4- LA PCR QUANTITATIVA (Schoeftner)

Analisi dei dati ottenuti dalla RT-qPCR e quantificazione dell’espressione dei geni amplificati. Analisi qualitativa dei dati.

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. 2024-2025

LAB PRACTICE PROGRAM – SECOND PART

1- TRANSIENT TRANFECTION FOR GENE SILENCING (Zanchetta)

Transfection methods. Transfection of siRNAs into U2OS cells using Lipofectamine. Individual setup of the reaction.

2- TOTAL RNA ISOLATION FROM CELLS (Zanchetta)

Individual extraction of total RNA from U2OS cells using commercial kit. Quantification by UV spectrophotometry and calculation of the concentration of the obtained sample. Evaluation of the purity of the isolated RNA.

3- REVERSE TRANSCRIPTION FROM TOTAL RNA (Zanchetta)

Dilution of the previously extracted RNA sample. Individual set up of the reverse transcription reaction using commercial kit. Dilution of the synthesized cDNA. Set up of the RT-qPCR reactions.

4- QUANTITATIVE RT-PCR (Schoeftner)

Analysis of data obtained from RT-qPCR and quantification of mRNA expression. Qualitative analysis of the data.

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