

ANNO ACCADEMICO 2012/2013

PROGRAMMA

CORSO DI STUDIO Biotecnologie - Scienze Biologiche

INSEGNAMENTO di Tecniche di Biologia Cellulare (Dott.ssa R.Stilo)

(Esame a scelta 6CFU)

Nozioni generali. Cellule Procariote. Cellule Eucariote. Suddivisione generale della cellula Eucariota. Forma delle cellule. Grandezza delle cellule nei Mammiferi. Legge di Driesch. Compartimentalizzazione della cellula. Composizione chimica delle cellule. Struttura di un batterio.

Microscopia. Nozioni generali. Microscopio ottico. Microscopio in contrasto di fase, ad interferenza, in campo oscuro. Microscopio a luce polarizzata, a fluorescenza. Microscopio invertito. Microscopio confocale. Microscopio elettronico a trasmissione e a scansione.

Colture di cellule e tessuti. Colture microbiche. Colture primarie-secondarie. Linee cellulari: condizioni di crescita. Composizione terreni di coltura. Vantaggi e svantaggi nelle colture cellulari. Isolamento delle cellule dal tessuto, loro separazione per tipi e allestimento di colture cellulari. Controllo contaminazione. Cappe a flusso laminare e incubatori. Conta delle cellule. Test di vitalità. Cellule di adesione e cellule in sospensione (esempi: HEK293; HeLa; Jurkat). Diluizione linee cellulari. Conservazione delle cellule in azoto liquido e scongelamento.

Espressione genica. Caratteristiche di vettori di espressione. Trasformazione di plasmidi in cellule batteriche. Crescita di batteri trasformati in terreni selettivi. Estrazione di Dna plasmidico da cellule batteriche. Elettroforesi e preparazione di *gel* di agarosio per la separazione e visualizzazione di molecole di DNA.

Trasfezione cellulare. Metodo del calcio-fosfato e dei liposomi. Metodi fisici: trasfezione tramite microiniezione, bombardamento di particelle, elettroporazione. Trasfezioni transienti e stabili.

Estrazione di proteine da cellule in coltura: preparazione di *buffer* di lisi e lisi cellulare. Elettroforesi di proteine. *Gel* di poliacrilammide. Elettroforesi in condizioni denaturanti e non. *SDS-page*. *Native-page*. Sistema per la corsa elettroforetica. Metodi di colorazione delle proteine su *gel*. *Western blot*.

Sistema doppio ibrido in lievito: Trasformazione bait - trasformazione libreria.