Università degli Studi di Cagliari
Facoltà di Biologia e Farmacia

Corso di Laurea triennale in Biotecnologie Industriali

Insegnamento: Laboratorio di Biochimica	CFU	6
	SSD	BIO/10

Docente	Paolo Zucca
Indirizzo ufficio	Dip. Scienze Biomediche (Monserrato)
Tel.	0706754514 / 0783310429
Fax.	070- 6754527
E-mail	pzucca@unica.it
Orario di ricevimento	Martedì 15-17 presso il Chiostro del Carmine o su appuntamento

Obiettivi Formativi del corso

Conoscenze	Il corso si propone di fornire le conoscenze teoriche e pratiche di base su alcune tecniche di indagine biochimica
Capacità	Lo studente sarà in grado di utilizzare le conoscenze acquisite per una applicazione pratica in laboratori di analisi e di ricerca e per il proseguimento degli studi curricolari
Comportamenti	Il corso prevede di stimolare il lavoro sia di gruppo sia autonomo.
Conoscenze richieste	Lo Studente deve possedere essenzialmente solide basi di Chimica Generale e di Chimica Organica (propedeuticità richiesta: Chimica Organica e Laboratorio). ezioni: Didattica Frontale, Esercitazioni di Laboratorio. Frequenza: secondo il Regolamento Didattico

Programma

- Premessa teorica

Titolazione degli aminoacidi.
Cenni alla biochimica ed enzimologia della biodegradazione delle lignine. Le laccasi fungine.
Purificazione di proteine. Lisi cellulare. Precipitazione frazionata, centrifugazione, dialisi, filtrazione.
Principali tecniche cromatografiche. Strato sottile, scambio ionico, esclusione molecolare, affinità, fase inversa/interazione idrofobica, HPLC.
Spettrofotometria UV-vis e sue applicazioni in biochimica. Proteine totali ed attività enzimatica.
Principali tecniche elettroforetiche. Native PAGE, SDS-PAGE, colorazioni, IEF, blotting.

- Esercitazioni di laboratorio

Utilizzo delle micropipette. Preparazione e sterilizzazione di tamponi, soluzioni (con relative diluizioni) e terreni di coltura per il fungo Pleurotus sajor-caju. Inoculo del fungo e allestimento delle colture liquide. Preparazione di soluzioni di induttori putativi della laccasi nelle colture fungine. Saggio fotometrico dell'attività laccasica. Purificazione parziale della laccasi prodotta: preparazione e uso del gel di fosfato di calcio. Cromatografia a scambio ionico della laccasi chiarificata. Grafici dell'attività laccasica in funzione di ciascun particolare induttore e del tempo di coltivazione. Elettroforesi nativa con saggio dell'attività enzimatica sull'elettroferogramma, ed elettroforesi denaturante. Determinazione delle proteine totali col metodo di Bradford. Cromatografia su strato sottile di aminoacidi. Cromatografia per esclusione molecolare di emoglobina. Immobilizzazione dell'enzima lattasi e produzione del latte ad alta digeribilità. Determinazione dei parametri cinetici della laccasi. Valutazione del potere antiossidante di prodotti vegetali.

TESTI CONSIGLIATI

- Bonaccorsi di Patti et al., “Metodologie Biochimiche”, Ambrosiana, Milano;
- De Marco e Cini “Principi di Metodologia Biochimica”, Piccin, Padova
- Ninfa e Ballou “Metodologie di base per la Biochimica e le Biotecnologie”, Zanichelli, Bologna
- Garrett e Grisham “Principi di Biochimica”, Piccin, Padova
- Stoppini e Bellotti “Biochimica Applicata”, Edises, Napoli

Modalità di verifica/esame (spuntare le modalità di esame)

- Prove di verifica intermedie
- X Esame scritto
- X Esame orale
- Prova di laboratorio

DESCRIZIONE

L’esame prevede tre parti NON separabili:

1. Compito scritto (30’) su esercizi numerici e calcoli (per i quali verranno caricati sul sito del Consorzio dei fac-simile e –su richiesta- sarà possibile organizzare esercitazioni in aula prima dell’esame)
2. Verifica delle relazioni
3. Interrogazione orale, su aspetti teorici e pratici relativi alle esperienze di laboratorio

Modalità di Valutazione

Obiettivi. L’esame ha come obiettivo fondamentale la valutazione corretta e oggettiva del grado di preparazione raggiunto dallo studente, o in altre parole del grado di raggiungimento degli obiettivi formativi del Corso. Tali obiettivi formativi possono essere in generale riassunti come segue:

a) acquisizione di un certo numero di nozioni reciprocamente correlate, sia generali e basilari, sia più dettagliate e specifiche;

b) integrazione logica delle nozioni acquisite, in modo da stabilire un percorso intellettuale di conoscenza che permetta allo studente di inquadrarle in un contesto teorico chiaro e coerente. Ciò per arrivare infine a costruire su questa base una vera e propria competenza;

c) capacità di sviluppare le conoscenze acquisite in vista della loro utilizzazione, sia in prospettiva di ulteriore studio in Corsi successivi, in specie quelli per cui esistano legami di propedeuticità, sia per l’applicazione per esempio al mondo del lavoro e della professione.

Modalità. L’esame si svolge individualmente in forma di compito scritto seguito da un colloquio.

Il compito scritto verte su calcoli ed esercizi relativi alle esperienze di cui è composto il corso, prevede dunque la verifica della reale autonomia operativa dello studente.

L’esame orale s’impernia solitamente sulla discussione sulle relazioni di laboratorio e su due domande, delle quali appunto la prima più generale, su un argomento assolutamente imprescindibile del corso. La prova termina a questo punto negativamente, se il candidato non riesce a raggiungere i requisiti minimi richiesti.

In caso di valutazione positiva, segue una seconda domanda di argomento più specifico, con richiesta di moderato approfondimento concettuale su un aspetto più circoscritto del programma. La prova termina negativamente se il candidato non dimostra una conoscenza almeno basilare dell’argomento.

Giudizio finale

Il voto finale tiene conto di vari fattori:

a) Capacità espressiva;

b) Conoscenza e capacità di servirsi del linguaggio scientifico pertinente al corso;

c) Bagaglio di nozioni posseduto;

d) Capacità di collegare le nozioni e situarle entro un quadro logico;

e) Capacità di collegare differenti quadri trovando i punti comuni e istituire un disegno generale coerente;

f) Capacità di esprimere nozioni e concetti graficamente sotto forma per esempio di formule, schemi, equazioni.

Di conseguenza, il giudizio può essere:

a) Sufficiente (da 18 a 20)

Il candidato dimostra capacità espressive modeste, ma comunque sufficienti a sostenere un dialogo coerente. Poche nozioni acquisite, livello superficiale, molte lacune e collegamenti concettuali di livello elementare. Capacità di espressione grafica piuttosto stentata;

b) Discreto (da 21 a 23)

Il candidato dimostra capacità espressive più che sufficienti a sostenere un dialogo coerente. Accettabile padronanza del linguaggio scientifico. Discreta acquisizione di nozioni, scarso approfondimento, poche lacune e collegamenti concettuali di moderata complessità. Capacità di espressione grafica accettabile;

c) Buono (da 24 a 26)

Il candidato dimostra soddisfacenti capacità espressive e significativa padronanza del linguaggio scientifico. Bagaglio di nozioni piuttosto ampio, moderato approfondimento, con piccole lacune. Capacità dialogica e spirito critico ben rilevabili. Capacità di espressione grafica più che accettabile;

d) Ottimo (da 27 a 29)

Il candidato dimostra notevoli capacità espressive ed elevata padronanza del linguaggio scientifico. Bagaglio di nozioni molto esteso, ben approfondito, con lacune marginali. Notevole capacità dialogica, buona competenza e rilevante attitudine alla sintesi logica. Capacità di espressione grafica elevata;

e) Eccellente (30/30 e lode)

Il candidato dimostra elevate capacità espressive ed elevata padronanza del linguaggio scientifico. Bagaglio di nozioni molto esteso e approfondito, eventuali lacune irrilevanti. Ottima capacità dialogica, spiccata attitudine a istituire collegamenti tra argomenti diversi. Grande dimestichezza con l’espressione grafica. La lode si attribuisce a candidati nettamente sopra la media, e i cui eventuali limiti espressivi, nozionistici, concettuali, logici, appaiano nel complesso del tutto irrilevanti.

Dopo la conclusione del corso, gli studenti possono sostenere l'esame secondo regolamenti e modalità prestabiliti, adeguatamente pubblicizzati sui siti internet dei CdS pertinenti.

Potenziali fattori di rischio per le attività di laboratorio

Il Laboratorio di Biochimica è un luogo potenzialmente pericoloso:
1) Rischio di folgorazione: vi si trovano apparecchi elettrici ad alta tensione.
2) Rischio di ustione: vi si trovano apparecchi (o parti di essi) che possono raggiungere durante l'uso temperature molto alte.
3) Rischio di incendio: può essere necessario prelevare, dispensare, utilizzare solventi altamente infiammabili.
4) Rischio di esplosione: può essere necessario prelevare, dispensare, utilizzare solventi altamente infiammabili i cui vapori possono formare con l'aria miscele esplosive.
5) Rischio di intossicazione: può essere necessario prelevare, dispensare e utilizzare sostanze più o meno altamente tossiche e/o carcinogeniche.

Per questo è obbligatorio:
1) Indossare costantemente l'apposito camice da laboratorio e calzare i guanti in gomma e/o in nitrile
2) Utilizzare sistematicamente le cappe aspiranti quando si lavora con reagenti e solventi tossici e/o infiammabili.

E' invece vietato:
1) Assaggiare o annusare reagenti.
2) Comunque mangiare, bere, fumare in laboratorio.
3) Effettuare autonomamente esperimenti che non siano esplicitamente autorizzati e controllati dal Docente e/o dai suoi Collaboratori.

Su richiesta è liberamente disponibile un Manuale di buona condotta di laboratorio, di cuiogni studente DEVE obbligatoriamente prendere visione prima dell'inizio delle lezioni.