

PROGRAMMA DI LABORATORIO DI TECNICHE CELLULARI E MOLECOLARI APPLICATE (AA 2015-2016)

Il corso si articola in due moduli per ognuno dei quali viene svolta una diversa esperienza pratica che può essere preceduta da una lezione teorica. Le conoscenze di base, comuni ai due moduli, e che dovranno ritenersi acquisite per il superamento della prova finale comprendono:

teoria e pratica della preparazione delle soluzioni (molarità, peso molecolare, percentuali, diluizioni); uso dei principali strumenti di misura volumetrica (pipettatrici automatiche, micropipettatrici); concetti di base di colture cellulari procariotiche ed eucariotiche; colorazioni cellulari e di tessuto; analisi colorimetrica in spettrofotometria.

MODULO FISIOPATOLOGIA (prof. Adriano Angelucci, adriano.angelucci@univaq.it, tel.0862433550)

Colture cellulari eucariotiche, concetti di base: colture primarie, continue, linee cellulari tumorali e trasformate, i requisiti di crescita in vitro (nutrienti, pH, temperatura, substrato adesivo), numero di replicazioni, confluenza e passaggio di crescita. Strumentazioni e metodologie necessarie a mantenere le condizioni di sterilità. Conta cellulare con camera di conta. Microscopio a contrasto di fase. Test di vitalità con trypan blue. Saggio di adesione su substrati fisiologici. Colorazione con Crystal violetto. Analisi semiquantitativa tramite lettura dell'assorbanza.

MODULO DI MICROBIOLOGIA (prof. Paola Cacchio, paola.cacchio@univaq.it, tel.0862433243)

Principi e regole di campionamento. Preparazione di un campione di suolo alla messa in coltura. Isolamento microbico su piastra della microflora eterotrofa calcificante. Tecnica della semina per striscio: regole e strumenti. Purificazione di un ceppo microbico. Differenza tra coltura pura e mista. Differenza tra coltura isolata e pura. Semina in liquido: come e quando effettuarla. Cenni sulla conservazione microbica a breve, medio e lungo termine. Semina nei tubi a becco di clarino. Principi di caratterizzazione morfologica, fisiologica, biochimica e di identificazione batterica. Caratterizzazione morfologica delle colonie batteriche a crescita pseudomiceliare e non. Preparazione di vetrini a fresco di eubatteri, attinomiceti e lieviti.

Osservazioni al microscopio ottico. Osservazione con obiettivo ad immersione. Studio dell'attività calcificante dei ceppi batterici isolati dal campione di suolo tramite osservazione al microscopio ottico (40x) delle colture solide ottenute su piastra. Esempi di caratterizzazione biochimica.