

## **SCHEDA LABORATORIO SCIENTIFICO n. 4**

**TITOLO:** Biochimica, Genetica, Microbiologia – Biochemistry, Genetics, Microbiology

**Responsabile scientifico:** PAOLO V. PEDONE, ANDREA RICCIO, LIDIA MUSCARIELLO

**Settore/i scientifico-Disciplinari di riferimento:**

BIO10, BI18, BIO 19, BIO12

**RADoR:** PAOLO V. PEDONE, ILARIA BAGLIVO, SABRINA ESPOSITO, GAETANO MALGIERI, ANDREA RICCIO, FLAVIA CERRATO, ANGELA SPARAGO, LIDIA MUSCARIELLO, ROSANGELA MARASCO, MIRKO CORTESE

**Tipologia:** BIOLOGICO

Gruppi afferenti: STRUTTURA E FUNZIONE DI PEPTIDI, PROTEINE E ACIDI NUCLEICI; EPIGENETICA ED IMPRINTING GENOMICO; BIOCHIMICA DEGLI ALIMENTI E DELLA NUTRIZIONE

### **LOCALIZZAZIONE E DESCRIZIONE**

- Riportare: piano terra, corpo C, (locale\*); dimensioni\*: (\*Il locale e le dimensioni saranno inseriti dalla Commissione)
- n. 24 postazioni di lavoro

### **ATTIVITÀ SVOLTE NEL LABORATORIO:**

- Analisi genetiche ed epigenetiche su campioni di DNA ed RNA estratti da 1) tessuti primari e tumorali forniti da aziende ospedaliere italiane e 2) tessuti di animali murini forniti da stabulari certificati SPF (specific pathogen free)
- Purificazione di proteine e acidi nucleici; colture di E. coli
- Colture di cellule procariotiche; Caratterizzazione microbiologica di comunità microbiche; Analisi molecolare di espressione genica; Isolamento di mutanti mediante tecniche ricombinazione genica; Test di probioticità; Test di sensibilità agli antibiotici; Espressione eterologa di proteine.

### **RELAZIONE SINTETICA DESCRITTIVA DELLE ATTIVITA' SVOLTE E DELLE MODALITÀ OPERATIVE**

#### **1. Attività del gruppo di Genetica: Analisi genetiche ed epigenetiche di acidi nucleici**

Si indossano i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio).

Si preparano i banchi di lavoro, assicurandone la pulizia.

Si estraggono gli acidi nucleici, DNA ed RNA, seguendo appositi protocolli

Si eseguono analisi genetiche facendo utilizzo degli apparecchi presenti in laboratorio (per esempio PCR, elettroforesi in gel di agarosio, ecc).

Si registrano i dati ottenuti su appositi terminali.

A fine analisi, si smaltisce il materiale monouso in appositi contenitori per lo smaltimento di rifiuti da laboratorio biologico e si puliscono e disinfettano le postazioni di lavoro

#### **2. Attività gruppo di Biochimica: Purificazione di proteine e acidi nucleici**

Si indossano i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio).

Si preparano i banchi di lavoro, assicurandone la pulizia.

Si eseguono colture di E. coli per indurre l'espressione della proteina di interesse. Si ottiene un estratto della frazione delle proteine solubili e si isola la proteina oggetto di studio.

Per l'estrazione di DNA plasmidico e genomico, vengono usati specifici kit di estrazione.

Proteine e DNA vengono utilizzati per testare la funzione delle molecole isolate.

L'RNA è estratto se necessario a valutare l'espressione genica oppure ottenere un cDNA.

Per le attività descritte è necessario l'uso di cappe chimiche, camere per elettroforesi su gel di agarosio e pre-cast; incubatori; termociclatori; strumenti per acquisizione di immagini (Typhoon – GE); strumenti per cromatografia, bilance, centrifughe, termomixer.

### **3. Attività del gruppo di microbiologia**

Si indossano i DPI necessari (guanti di protezione, occhiali di protezione, camice da laboratorio).

Si preparano i banchi di lavoro, assicurandone la pulizia.

Si isolano microrganismi da matrici alimentari di origine lattiero casearia.

Si eseguono colture di cellule procariotiche (BSL1 e BSL2)

Si effettua estrazione e purificazione di DNA e proteine per analisi molecolari.

Per le attività descritte è necessario l'uso di cappe chimiche, cappe biologiche, camere per elettroforesi su gel di agarosio e pre-cast; incubatori; termociclatori; strumenti per acquisizione di immagini (Typhoon – GE); bilance, centrifughe, termomixer.

A fine analisi, si smaltisce il materiale monouso in appositi contenitori per lo smaltimento di rifiuti da laboratorio biologico e si puliscono e disinfettano le postazioni di lavoro.

I rifiuti provenienti dalla manipolazione dei microrganismi BSL2 vengono sterilizzati in autoclave prima dello smaltimento nei rifiuti speciali.

#### **LISTA DELLE ATTREZZATURE PRESENTI:**

1. Cromatografo per la purificazione di proteine ed altre biomolecole AKTA FPLC (GE)
2. N. 2 cappe chimiche
3. N. 1 armadi per liquidi infiammabili
4. Real-time PCR (Applied Biosystems 7500)
5. N. 2 Termociclatori
6. Sistema di produzione acqua distillata ed acqua ultrapura priva di DNasi ed RNasi
7. Sistema di acquisizione di immagini Typhoon Trio+ (GE)
8. Strumentazione per colture cellulari batteriche
9. Centrifughe, camerette elettroforetiche e alimentatori per la caratterizzazione di acidi nucleici e proteine.
10. Frigoriferi, freezer -20°C per la conservazione di materiale biologico
11. N. 2 cappe a flusso laminare;

12. Elettroporatore
13. 1 Sequenziatore per DNA (MiSEQ)
14. 1 Pirosequenziatore
15. 4 termomixer
16. 3 bilance
17. 1 Contacolonie automatico

**LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE GENERALE (DPG):**

1. N. 2 cappe chimiche
2. N.2 cappe biologiche
3. N.1 armadi per liquidi infiammabili

**LISTA DEI DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALI (DPI) AD USO PERSONALE DEGLI OPERATORI:**

- Camice
- Guanti in nitrile e in lattice (varie misure)
- Occhiali di protezione
- Mascherine per polveri
- Guanti per autoclave

**Categorie ISI WEB di riferimento:**

BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY; BIOCHEMICAL RESEARCH METHODS; MICROBIOLOGY;  
BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY; BIOTECHNOLOGY AND APPLIED MICROBIOLOGY,  
GENETICS&HEREDITY, FOOD SCIENCE/NUTRITION

**Categorie ERC di riferimento:**

- ✓ LS1\_1 Macromolecular complexes including interactions involving nucleic acids, proteins, lipids and carbohydrates
- ✓ LS1\_2 Biochemistry
- ✓ PE5\_11 Biological chemistry and chemical biology<sup>[L]</sup><sub>SEP</sub>
- ✓ LS2\_1 Genetics
- ✓ LS2\_3 Epigenetics
- ✓ LS2\_4 Gene regulation
- ✓ LS2\_6 Molecular genetics<sup>[L]</sup><sub>SEP</sub>
- ✓ LS2\_14 Genetic diseases
- ✓ LS6\_9 Antimicrobials, antimicrobial resistance
- ✓ LS8\_12 Microbial ecology and evolution
- ✓ LS9\_4 Microbial biotechnology and bioengineering

[SCHEDE DI SICUREZZA](#)