

Corso di studi di TECNICHE DI LABORATORIO BIOMEDICO

sede periferica IRCCS Fondazione G. Pascale

Anno/Semestre: I anno /II semestre

Insegnamento: **Tecniche e Metodologie Biochimiche**

Crediti: 2 CFU

Modulo: Biochimica e Biochimica Clinica

Docente: dr.ssa Patrizia Bonelli

Programma:

Introduzione alle Metodologie biochimiche Analisi quantitativa e qualitativa. Tecniche analitiche e preparative. Fasi di una analisi. Dispositivi e norme per la sicurezza in laboratorio. Simboli e indicazioni di pericolo. Regole di base per la manipolazione di reagenti. Materiale da laboratorio. Preparazione di soluzioni. Descrizione delle principali attrezzature da laboratorio. Raccolta e trattamento dei dati analitici.

Elettroforesi Principi generali. Legge di Ohm. Fattori che influenzano la separazione elettroforetica. Sistema per elettroforesi. Elettroforesi su gel di agarosio e gel di poliacrilammide. Applicazioni analitiche. Elettroforesi delle sieroproteine. Elettroforesi degli isoenzimi cardiaci. Elettroforesi degli acidi nucleici. Southern e Northern blot. Analisi molecolare di sequenze di acidi nucleici. Elettroforesi delle proteine. SDS-Page. Western blot. Elettroforesi nativa. Isoelettrofocusing. Elettroforesi bidimensionale. Elettroforesi capillare. Sequenziamento del DNA.

Spettrometria Principi generali: onda elettromagnetica, parametri dell'onda, spettro ottico, lunghezze d'onda e frequenza. Assorbimento ed emissione. Legge di Lambert-Beer. Metodo colorimetrico. Curva di taratura. Metodo di dosaggio delle proteine. Spettrofotometro: sorgente e lunghezza d'onda, monocromatori, celle per il campione, rivelatori. Elaborazione del segnale. Spettrofotometri a singolo raggio e a doppio raggio. Applicazioni: spettro di assorbimento per analisi qualitativa e quantitativa. Analisi di cinetica.

Cromatografia Principi generali: fase stazionaria e fase mobile, coefficiente di ripartizione, tipi di cromatografie, cromatografia liquida su colonna, tempo di ritenzione, volume di ritenzione, volume vuoto, velocità di flusso, cromatogramma, selettività ed efficienza, capacità di una colonna, piatto teorico, standard esterno e standard interno, curva di taratura, preparazione e caricamento del campione, rivelatori. Cromatografia di adsorbimento, cromatografia di partizione, cromatografia a scambio ionico, cromatografia ad esclusione (gel filtrazione), cromatografia di affinità, cromatografia gas-liquido, cromatografia su strato sottile e su carta: principi, fasi stazionarie e fasi solide, applicazioni.

Tecniche centrifugative Principi generali: tecniche preparative e analitiche, campo centrifugo, campo centrifugo relativo, normogramma, velocità di sedimentazione, coefficiente di sedimentazione, tipi di centrifughe. Centrifugazione preparativa: centrifugazione differenziale e in gradiente di densità (principi e applicazioni). Centrifugazione zonale e isopicnica. Rotori per la centrifugazione. Provette e contenitori per la centrifugazione. Centrifugazione analitica: principi e applicazioni (determinazione della massa molecolare, analisi conformazionale delle molecole, studi sulla purezza del campione).