



**PERCORSO DI ALTERNANZA  
SCUOLA-LAVORO**

# **PCTO BIOTECNOLOGIE**

Alessia De Luca VASA



# IL PERCORSO

Il percorso di alternanza scuola lavoro in questi tre anni è stato strutturato sullo studio delle biotecnologie, attraverso l'applicazione delle conoscenze teoriche sul DNA in contesti più ampi e legandoci a temi di attualità. Ogni anno abbiamo affrontato un tema differente e lo abbiamo sviluppato con ricerche attraverso articoli scientifici e, in un secondo momento, con esperienze pratiche di laboratorio

# TEMI TRATTATI



## ESTRAZIONE DEL DNA

Tramite esperimento di laboratorio



## SARS-COV-2

Dalla composizione del virus fino alle conseguenze psicologiche della pandemia



## MUTAZIONI GENETICHE

Come il DNA muta e come può mutare il Sars-COV-2



STUDIO DI ARTICOLI  
SCIENTIFICI



PCR ED  
ELETTROFORESI



# PCR

**POLYMERASE  
CHAIN REACTION**



# PCR – COS'È

È un metodo per amplificare un singolo frammento di DNA in vitro, attraverso il processo di duplicazione del DNA. Per fare ciò è necessario l'utilizzo di un termociclatore, e avremo bisogno di:





95°C

## DENATURAZIONE

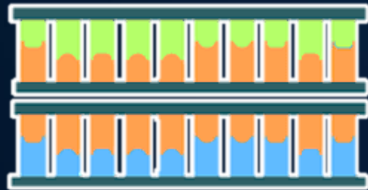
Avviene la rottura dei legami a idrogeno



55-65°C

## ANNEALING

I primer si legano alle sequenze complementari



72°C

## ESTENSIONE

La Taq polimerasi estende i primer





# TEMPERATURA DI ANNEALING

La temperatura di annealing dipende dalla sequenza scelta. Per calcolarla dovremo conoscere la temperatura di melting dei singoli filamenti For e Rev che si calcola tramite:

$$T_m = 4(G + C) + 2(A + T)$$

Dove G, C, A, T sono il numero di basi azotate presenti nella sequenza scelta. Quindi Dopo aver calcolato  $T_m$  sia per For che per Rev la temperatura di annealing sarà:

$$T_A = \frac{T_{mFOR} + T_{mREV}}{2} - 5$$



# IL PROTOCOLLO

	$C_1$	$C_2$	$V_1$
Buffer	10x	1x	2,5
dNTPs	10mM	1,25	4
Primer FOR	10 $\mu$ M	0,28	0,7
Primer REV	10 $\mu$ M	0,28	0,7
DNA		40ng/ $\mu$ L	0,6
Dream Taq	5 U/ $\mu$ L	1,5 U/ $\mu$ L	0,5
$H_2O$			16
$V_2$			25 $\mu$ L



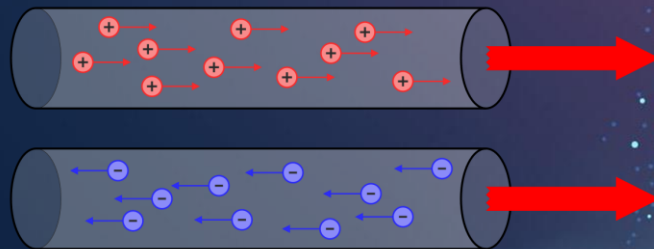
# ELETTROFORESI



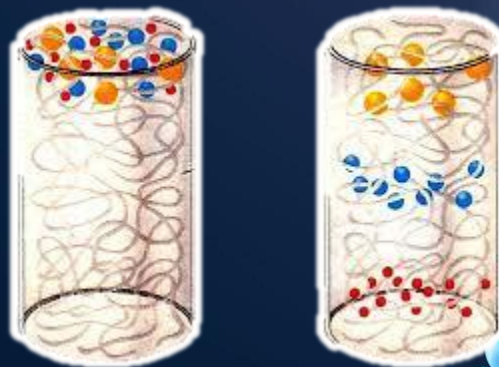
# ELETTROFORESI – COS'È

L'elettroforesi ci permette di visualizzare il risultato della PCR (e non solo). È una tecnica che sfrutta due principi:

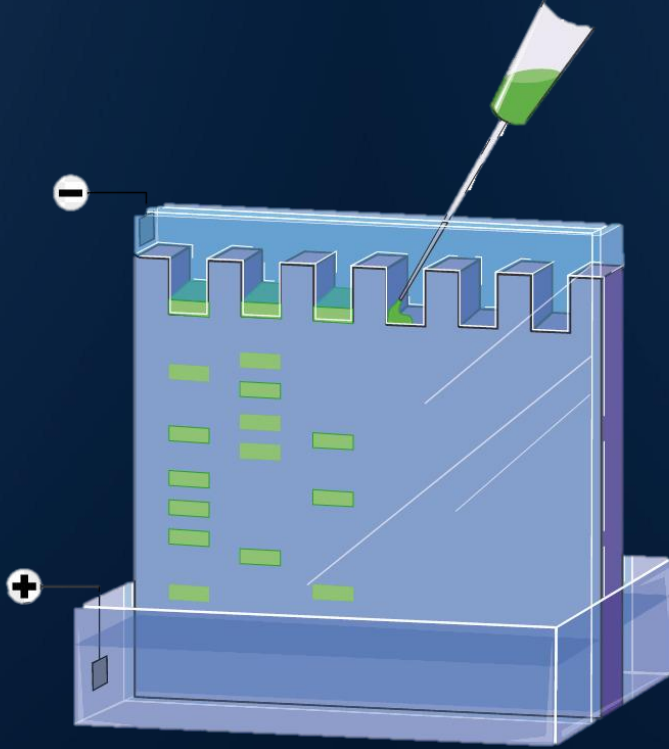
**TECNICA DI SEPARAZIONE BASATA  
SUL MOVIMENTO DI MOLECOLE  
CARICHE IN UN CAMPO ELETTRICO**



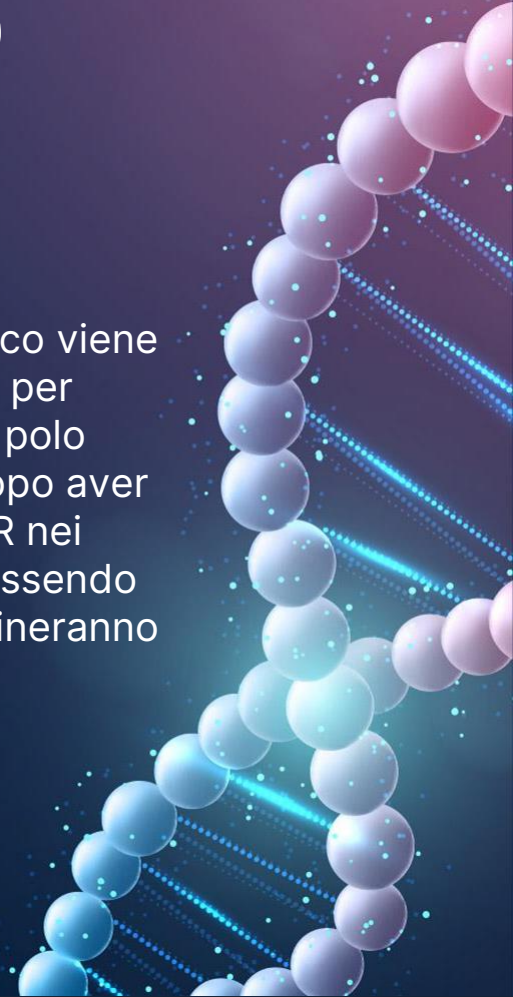
**TECNICA DI SEPARAZIONE BASATA  
SUL MOVIMENTO DI MOLECOLE  
ATTRAVERSO UN «SETACCIO  
MOLECOLARE»**



# IL CAMPO ELETTRICO



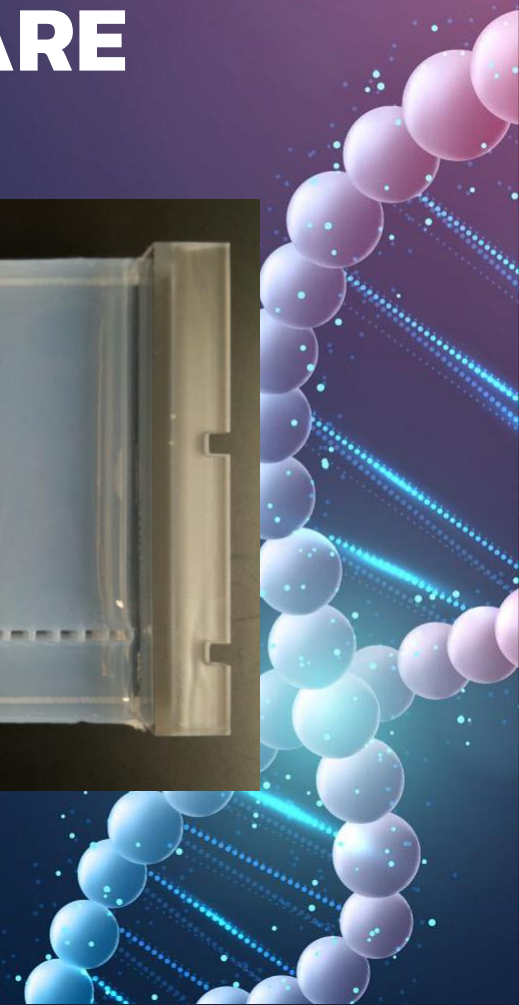
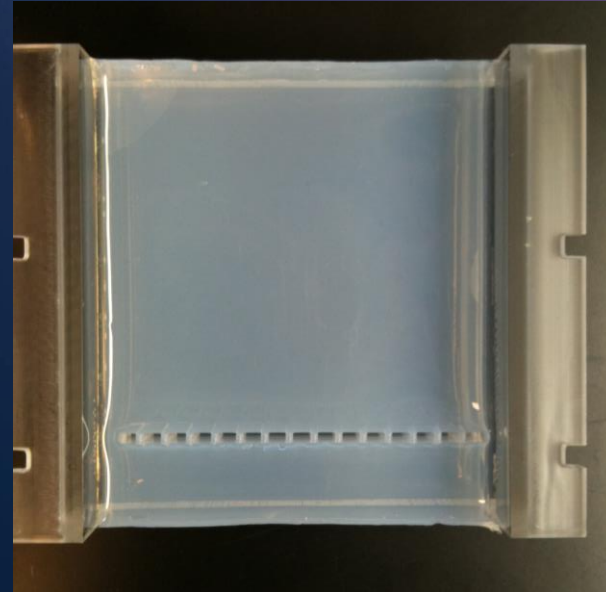
Nel nostro caso il campo elettrico viene generato da un dispositivo per elettroforesi. Quindi vi è un polo positivo e un polo negativo. Dopo aver inserito il risultato della PCR nei pozzetti, le molecole di DNA essendo cariche negativamente si avvicineranno al polo positivo.



# IL SETACCIO MOLECOLARE

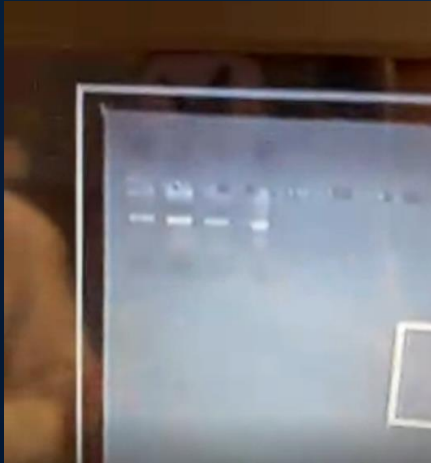
La nostra matrice porosa è il gel di Agarosio, che è composto da Galattosio e da 3,6-anidrogalattosio. Esso si mescola col tampone di elettroforesi, e dopo averlo bollito si lascia raffreddare su una lastra di vetro a temperatura ambiente. Si forma così un gel che verrà posto nel dispositivo per elettroforesi.

Le molecole di DNA più grandi faranno più fatica a muoversi nel gel e quindi ad avvicinarsi al polo positivo. Al contrario, i filamenti più corti si avvicineranno maggiormente al polo positivo. Quindi il gel di Agarosio è proprio un «setaccio» per le molecole di DNA

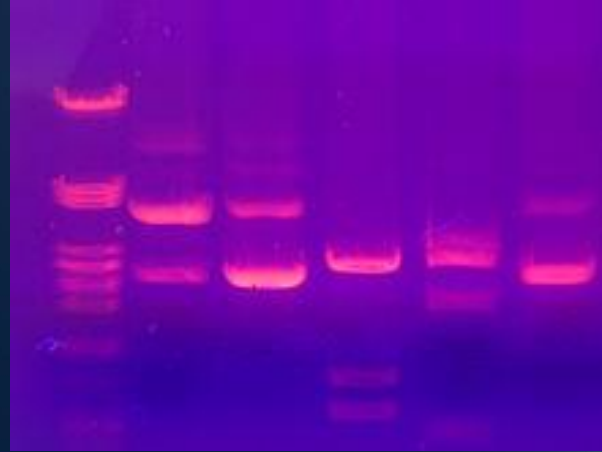


# IL RISULTATO

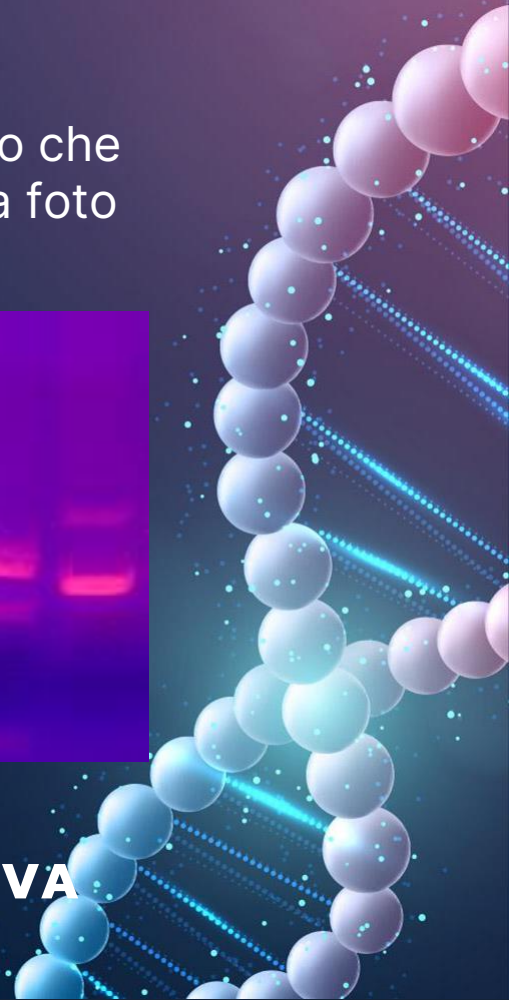
Il risultato è visualizzabile tramite un dispositivo che evidenzia il DNA con i raggi UV e ne scatta una foto



**NOSTRO ESPERIMENTO**



**IMMAGINE  
RAPPRESENTATIVA**







# **GRAZIE PER L'ATTENZIONE**

Alessia De Luca VASA