



**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



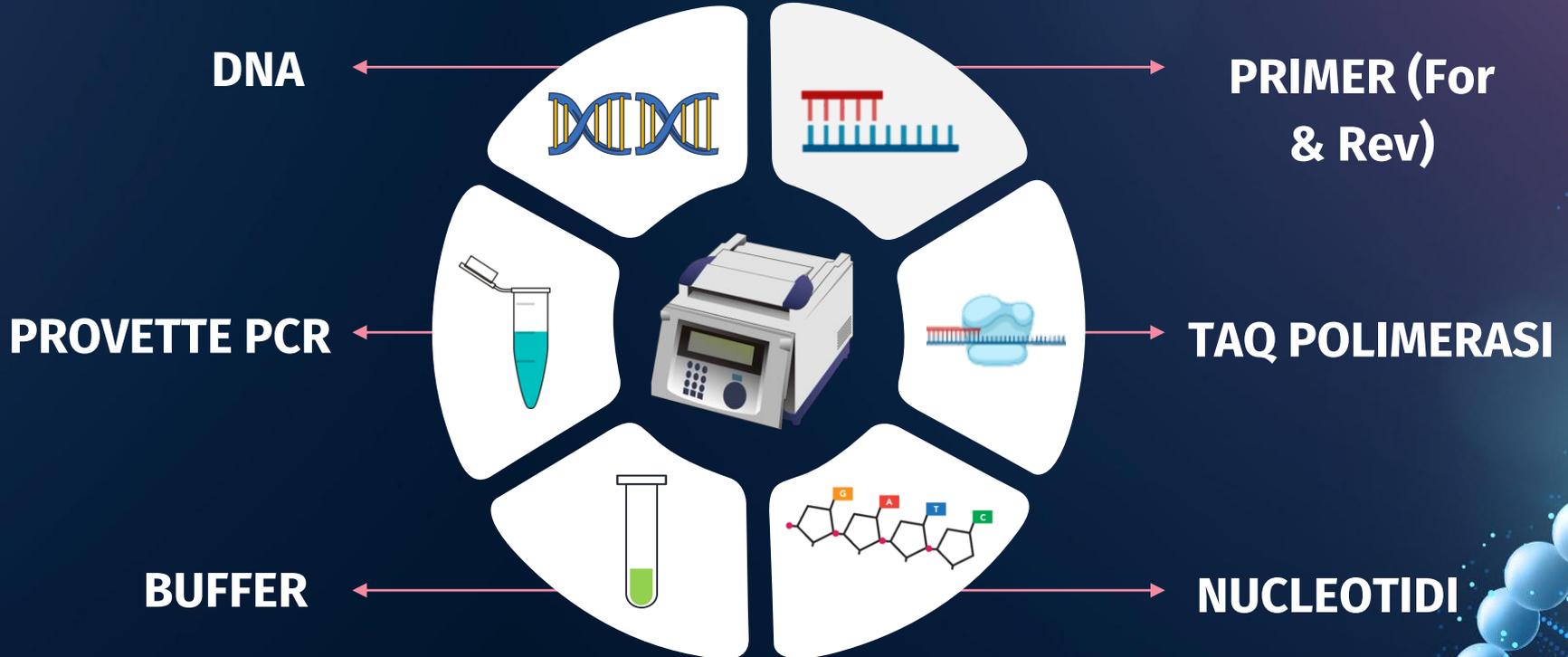
PCR

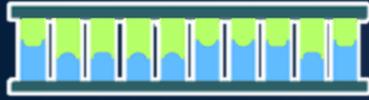
**POLYMERASE
CHAIN REACTION**



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

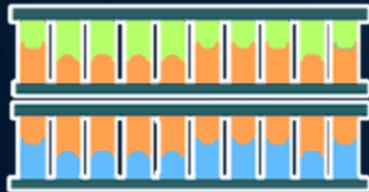
Avviene la rottura dei legami a idrogeno



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 μ M	0,28	0,7
Primer REV	10 μ M	0,28	0,7
DNA		40ng/ μ L	0,6
Dream Taq	5 U/ μ L	1,5 U/ μ L	0,5
H_2O			16
V_2			25 μ L

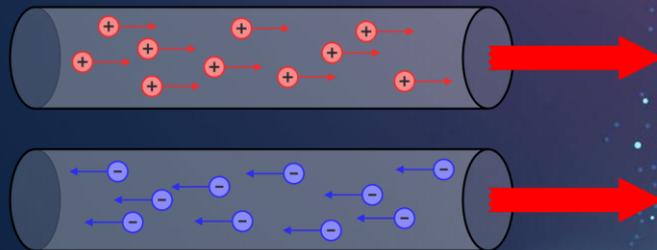
ELETTROFORESI



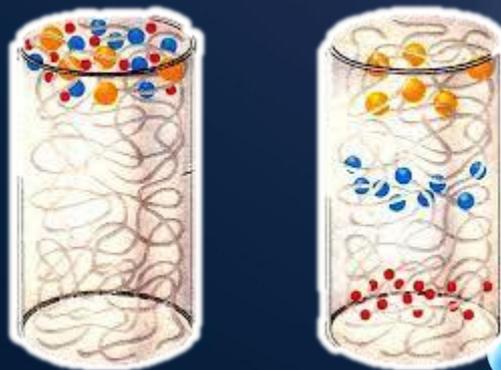
ELETTROFORESI – COS'È

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

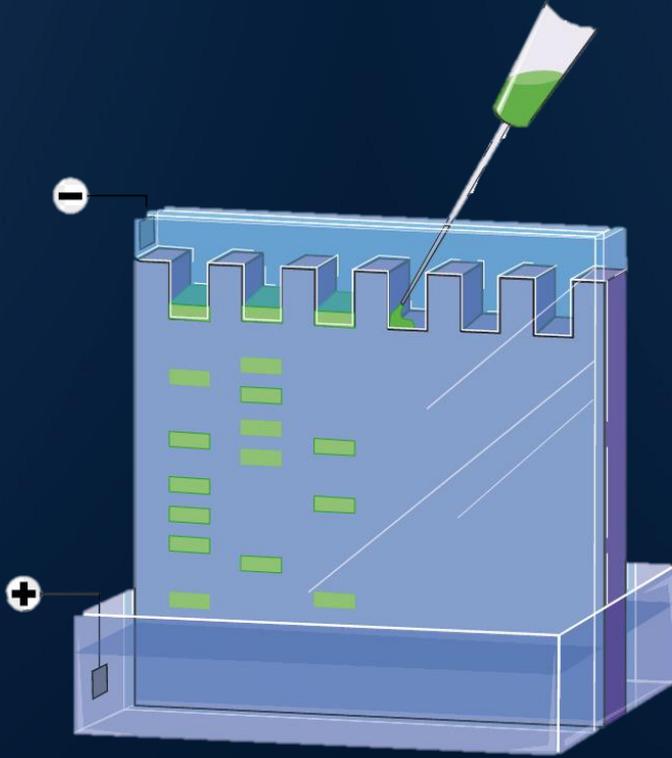
**TECNICA DI SEPARAZIONE BASATA
SUL MOVIMENTO DI MOLECOLE
CARICHE IN UN CAMPO ELETTRICO**



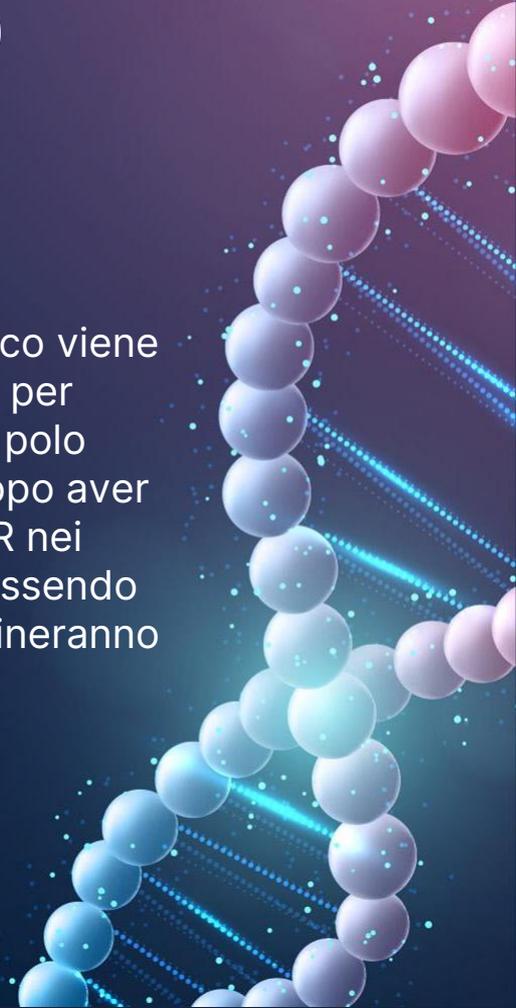
**TECNICA DI SEPARAZIONE BASATA
SUL MOVIMENTO DI MOLECOLE
ATTRAVERSO UN «SETACCIO
MOLECOLARE»**



IL CAMPO ELETTRICO



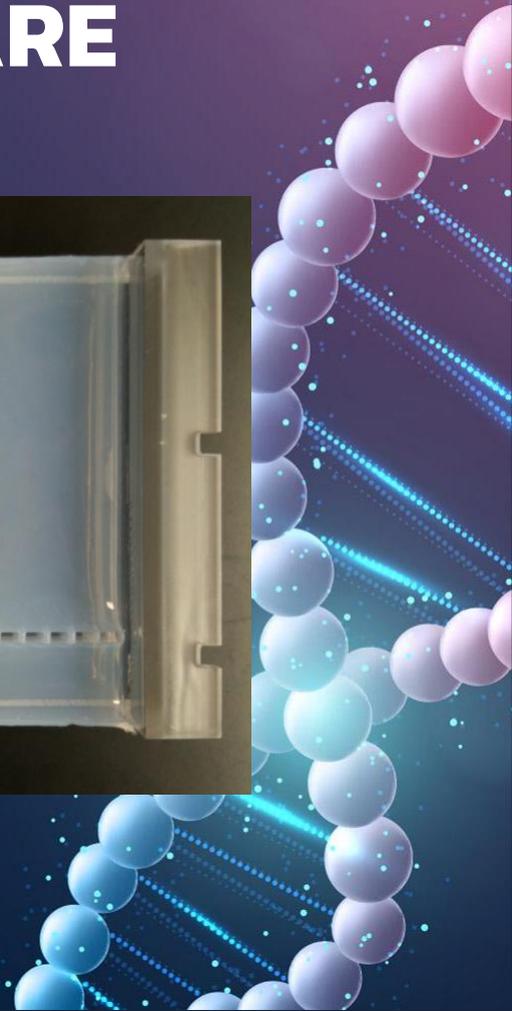
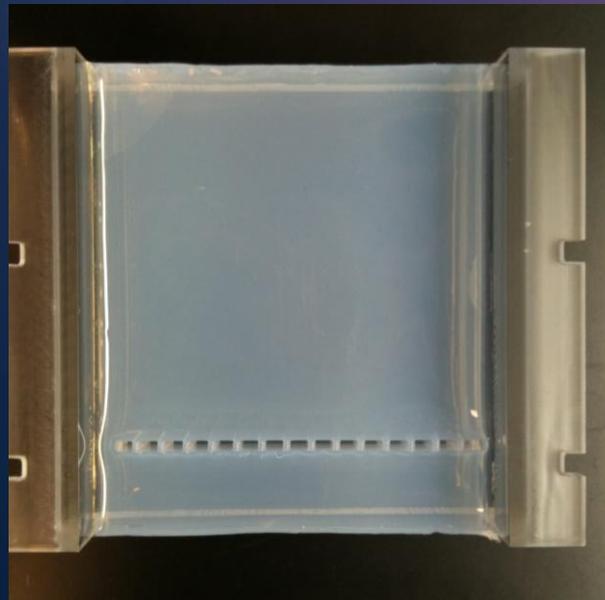
Nel nostro caso il campo elettrico viene generato da un dispositivo per elettroforesi. Quindi vi è un polo positivo e un polo negativo. Dopo aver inserito il risultato della PCR nei pozzetti, le molecole di DNA essendo cariche negativamente si avvicineranno al polo positivo.



IL SETACCIO MOLECOLARE

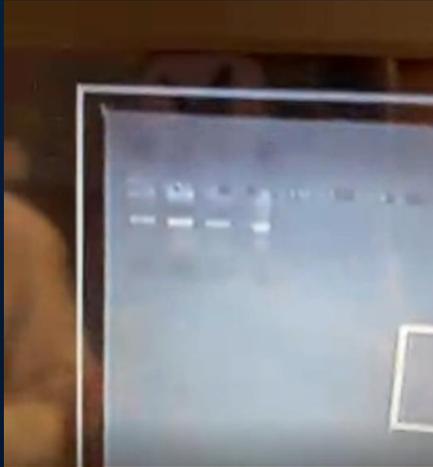
La nostra matrice porosa è il gel di Agarosio, che è composto da Galattosio e da 3,6-anidrogallattosio. Esso si mescola col tampone di elettroforesi, e dopo averlo bollito si lascia raffreddare su una lastra di vetro a temperatura ambiente. Si forma così un gel che verrà posto nel dispositivo per elettroforesi.

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

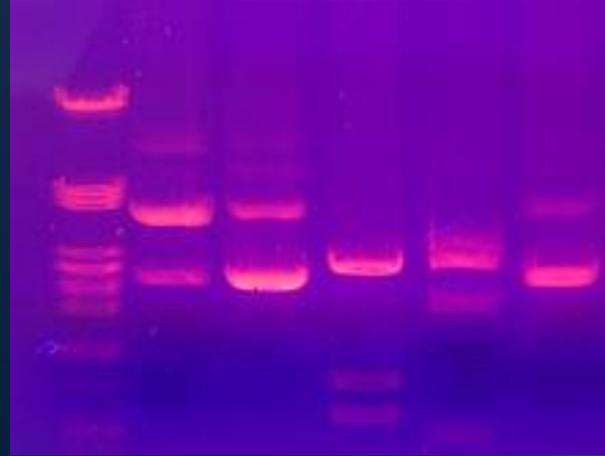


IL RISULTATO

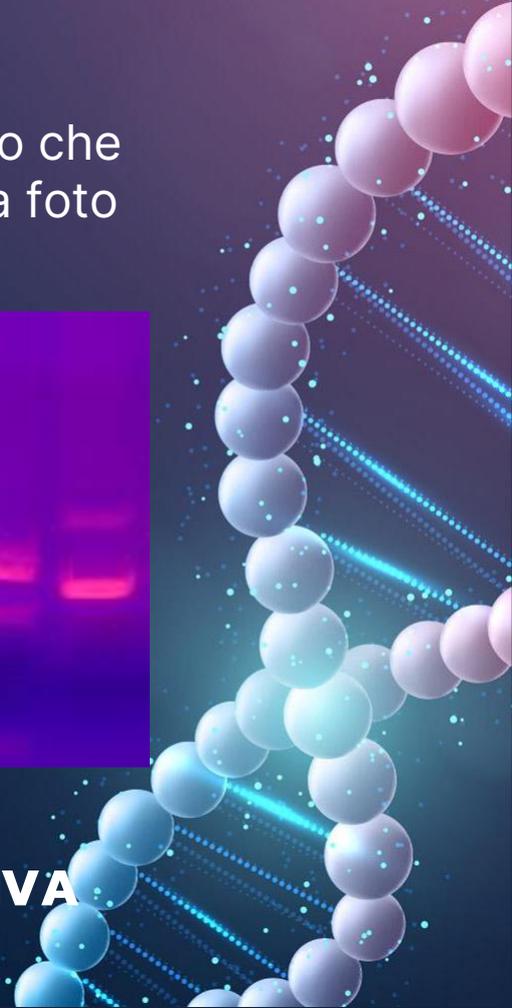
Il risultato è visualizzabile tramite un dispositivo che evidenzia il DNA con i raggi UV e ne scatta una foto



NOSTRO ESPERIMENTO



**IMMAGINE
RAPPRESENTATIVA**





GRAZIE PER L'ATTENZIONE

Alessia De Luca VASA