

# Procedure del Laboratorio di Genetica Molecolare

---

## Procedure generali:

Per gli aspetti inerenti la sicurezza nei laboratori tutte le procedure saranno riferite al D.Lgs. 81/2008 ed al D.Lgs. 106/2009 mentre per i rifiuti dei laboratori ed il relativo smaltimento si fa riferimento al D.Lgs. 152/2006 (Testo unico normativa ambientale) e al D.Lgs. 4/2008 (Procedure di raccolta ed eliminazione dei rifiuti speciali pericolosi e non).

---

## Accesso al Laboratorio

L'accesso ai laboratori è consentito al personale docente, al personale tecnico di laboratorio e agli studenti. Questi ultimi sono ammessi in laboratorio solo in presenza di un docente.

I docenti, nelle ore di esercitazione pratica, si procurano le chiavi presso il Responsabile Tecnico dei Laboratori Didattici (RTDL) Sig. Claudio Canali, previa registrazione in un apposito calendario di prenotazione.

Al termine della loro attività, i docenti consegnano in tempi rapidi le chiavi al RTLD per consentire l'accesso al docente successivo.

Nel laboratorio, il docente procederà alla compilazione del registro di laboratorio annotando e compilando tutte le voci previste: data, ora di ingresso e di uscita, classe, attività e procedure eseguite, lista dei reagenti utilizzati (obbligatorio ai sensi del D.Lgs 81/2008), note sulle eventuali rotture di strumenti e materiali indicandone sommariamente le cause.

---

# Modalità operative generali

Quando entra nel laboratorio didattico, lo studente deve essere informato su:

- Procedure di emergenza, delle vie di esodo e del punto di raccolta esterno.
- Collocazione docce d'emergenza e lavaggi oculari.
- Dispositivi di Protezione Individuale (DPI) a disposizione del laboratorio e sulle corrette modalità d'uso.
- Metodo di raccolta corretto dei rifiuti in laboratorio e smaltimento.

Deve altresì prestare attenzione alle indicazioni fornite dai docenti e dal personale tecnico presente.

È vietato introdurre in laboratorio zaini, borse, sgabelli e sedie. Nel caso essi siano necessari, richiedere l'autorizzazione alla loro introduzione al RTLD;

È vietato introdurre animali in laboratorio.

L'abbigliamento deve essere consono all'ambiente. Pertanto sono vietati:

- berretti;
- guanti di stoffa;
- materiale infiammabile;
- sciarpe e foulard;
- sandali (maschili e femminili);
- tacchi alti;
- pantaloni corti;

e comunque ogni indumento che possa avere parti libere potenzialmente impigliabili nel mobilio o in nella strumentazione (D.Lgs. 106/2009).

È obbligatorio:

- togliere gioielli o braccialetti, ciondoli o pendenti
- i capelli lunghi devono essere raccolti;

Gli studenti sprovvisti di camice e di DPI o che contravvengano alle regole sopracitate non possono partecipare in nessun caso alle esercitazioni in laboratorio.

Prima di manipolare qualsiasi sostanza, occorre avere ben chiaro cosa prevede la scheda di sicurezza per quella sostanza in termini di pericoli, rischi e sistemi di sicurezza.

Le studentesse in stato di gravidanza dovranno informare tempestivamente il docente affinché siano approntate le misure e le procedure del caso.

Il docente o i docenti presenti in laboratorio durante le attività pratiche sono a tutti gli effetti il/i preposto/i ai sensi del D.Lgs. 81/2008. Gli studenti si identificano come lavoratori a tutti gli effetti quando conducono attività di laboratorio. Il/i preposto/i ha/hanno tutti gli obblighi ascritti loro dalla normativa vigente.

---

## Modalità di lavoro

Prima di iniziare a lavorare, leggere tutta la procedura di analisi e le schede di sicurezza al fine di aver chiari i Dispositivi di Protezione Individuale da utilizzare in caso di necessità;

Durante le procedure:

- Non toccarsi gli occhi e la bocca;
- Non sollevare mai le bottiglie o contenitori per il tappo;
- Non lasciare mai sostanze infiammabili sopra o vicino a sorgenti di calore o alla luce del sole diretta;
- È tassativamente vietato prelevare liquidi con pipette aspirando con la bocca;
- Mantenere sempre perfettamente chiusi tutti i contenitori con i prodotti chimici;
- Non abbandonare mai, nell'area di lavoro, materiale non identificabile;
- Mantenere ordine e pulizia nel laboratorio;
- Non tenere nelle tasche forbici, provette di vetro o altro materiale tagliente o contundente;
- Leggere le etichette sui contenitori, con particolare riferimento ai simboli di pericolo, alle frasi di rischio;
- Trasportare sostanze chimiche e materiali pericolosi seguendo le modalità indicate dal docente;
- Non lasciare senza controllo reazioni in corso.

Le procedure sperimentali che coinvolgono sostanze volatili tossiche, o solidi e liquidi che possono generare aerosol, devono essere condotte sotto cappa accesa e con il vetro abbassato.

I prodotti chimici sconosciuti devono essere considerati pericolosi fino a prova contraria.

Nessun prodotto chimico deve essere eliminato attraverso il sistema fognario.

Riferire sempre prontamente al docente condizioni di non sicurezza o eventuali incidenti, anche se non hanno avuto conseguenze.

In caso di esposizione degli occhi a sostanze chimiche pericolose, lavare abbondantemente gli occhi aperti per 15 minuti con gli appositi lavaocchi.

Gli studenti non sono autorizzati, salvo disposizione del docente e sotto il suo diretto controllo, all'utilizzo della strumentazione presente nei laboratori.

In caso di incertezza sull'uso delle apparecchiature o sulla corretta manipolazione delle sostanze, documentarsi sui relativi manuali e schede di sicurezza o chiedere informazioni al docente.

---

## Svolgimento delle attività

### Determinazione del genotipo al locus E tramite PCR-RFLP e separazione elettroforetica

Gli studenti, suddivisi in 4 gruppi ognuno di numero compatibile con quello stabilito per ogni laboratorio ai fini della sicurezza, avranno accesso al laboratorio didattico seguendo tutte le indicazioni sopra elencate e supervisionati dal docente e da un'unità di personale tecnico.

L'attività pratica ha una durata di due ore per ogni gruppo, che viene ulteriormente suddiviso nelle postazioni (bancone da lavoro).

Lo studente insieme al docente visiona il protocollo dell'esperimento ed è messo al corrente di tutte le procedure ed accortezze da seguire per lo svolgimento dello stesso.

Il personale tecnico illustra quale sia il corretto utilizzo delle micropipette, delle provette e reagenti indispensabili per l'attività pratica.

I sottogruppi di lavoro si spostano uno alla volta nella stanza di preparazione per assemblare insieme all'unità di personale tecnico il gel necessario per la separazione elettroforetica delle reazioni di amplificazione del DNA che successivamente verranno prodotte. Gli altri sottogruppi rimangono con il docente per impostare il protocollo di una reazione di PCR.

Quando tutti i sottogruppi terminano le loro attività ogni studente prende nuovamente posto nelle postazioni (bancone) per lo svolgimento delle reazioni sotto la supervisione del docente e personale tecnico.

Una volta ultimate, le reazioni vengono sistemate nell'apposito alloggio dello strumento dagli stessi studenti.

Per quanto riguarda la corsa elettroforetica, presso ogni postazione si procede ad aliquotare una reazione già pronta preparata dal docente.

I gruppi si spostano nella stanza di preparazione e vengono suddivisi in sottogruppi per eseguire la separazione elettroforetica delle reazioni preparate.

Quando tutti i gruppi hanno caricato le loro reazioni, la separazione elettroforetica viene eseguita e letta con l'apposito strumento.

Una volta riuniti i sottogruppi, il risultato viene commentato e lo studente, in base alle nozioni teorico-pratiche assimilate identifica il genotipo del soggetto esaminato al locus in esame.

Gli studenti riordinano strumentazione e reagenti dopodiché ordinatamente si avviano verso l'uscita dove riprendono i loro effetti personali e tolgono il camice.