

SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI "Biochimica Applicata ed Ingegneria Proteica" APPLIED BIOCHEMISTRY AND PROTEIN ENGINEERING

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2019/2020

Docente: Prof.ssa Danila Limauro

☎ +39 081 679170

email: limauro@unina.it

SSD

CFU DOMANDE D'ESAME FREQUENTI

Anno di corso

Semestre

Insegnamenti propedeutici previsti: nessuno

RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI

Conoscenza e capacità di comprensione
Conoscenze teorico pratiche delle tecniche utilizzate nei laboratori biochimici per lo studio di biomolecole in particolare proteine ed enzimi; le applicazioni degli enzimi nella diagnostica e nell'industria. Realizzazione e caratterizzazione di proteine ingegnerizzate. <i>Theoretical and practical knowledge of the techniques used in biochemical laboratories to analyze biomolecules, proteins and enzymes; enzyme applications in diagnostics and industry. Construction and characterization of engineered proteins.</i>
Conoscenza e capacità di comprensione applicate
Capacità di applicare metodologie strumentali biochimiche e biotecnologiche. Analisi biochimiche e biomediche. Valutazione, interpretazione di dati sperimentali di laboratorio e di dati di letteratura. Sicurezza in laboratorio. <i>Ability to understand and to apply the basic principles of modern biochemistry and biotechnology techniques and their application. Evaluation and discussion of experimental and literature data, laboratory safety.</i>
Eventuali ulteriori risultati di apprendimento attesi, relativamente a:
<ul style="list-style-type: none">• Autonomia di giudizio: Saranno forniti gli strumenti necessari per consentire agli studenti di analizzare in autonomia e di giudicare i dati di letteratura. Lo studente migliorerà inoltre le proprie capacità in merito alla valutazione della didattica.• Making judgements: <i>Students will receive skills for the evaluation and interpretation of experimental data from the scientific literature. The student will in addition improve its skills in the field of teaching evaluation.</i>• Abilità comunicative: Lo studente deve saper spiegare a persone non esperte le nozioni apprese. Deve saper presentare o riassumere in maniera completa ma concisa i risultati raggiunti utilizzando correttamente il linguaggio tecnico. Lo studente è stimolato a familiarizzare con i termini propri della disciplina, e a trasmettere a non esperti i principi, i contenuti e le possibilità applicative con correttezza e semplicità.• Communication abilities: <i>The student must be able to communicate his knowledge to non-experts. He will learn how to present and summarize his results using the technical language.</i>• Capacità di apprendimento: Lo studente deve essere in grado di aggiornarsi o ampliare le proprie conoscenze attingendo in maniera autonoma a testi, articoli scientifici propri del settore, e deve poter acquisire in maniera graduale la capacità di seguire seminari specialistici, conferenze, master ecc.• Knowledge ability: <i>The student will acquire the ability to widen its knowledge on books and scientific papers, as well as by attending specialistic seminars, conferences, masters, etc.</i>

PROGRAMMA

<p>Tecniche separative ed analitiche e loro applicazioni alla ricerca biochimica (5 CFU): Purificazione e caratterizzazione delle proteine: Criteri di purezza delle proteine. Dosaggio delle proteine. Metodi per lo studio dell'attività enzimatica. Determinazione della massa molecolare relativa, del numero e del peso molecolare delle subunità. Determinazione del proteoma: Spettrometria di massa. (2,5 CFU) Analisi conformazionali: cromatografia per esclusione molecolare; ultracentrifugazione analitica; parziale proteolisi; spettrofotometria, fluorescenza intrinseca ed estrinseca; Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET), Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP). (1 CFU) Proteine fluorescenti e bioluminescenti: GFP, RedFP, Aequorin: applicazioni in esperimenti di FRET, FRAP. (0,5 CFU) Interazioni proteina-ligandi, proteina-proteina: fluorescenza intrinseca; FRET; Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET); equilibrio di dialisi; ultrafiltrazione; cromatografia per esclusione molecolare; ultracentrifugazione analitica; Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA); Immunoprecipitazione; pull down; cross linking; surface plasmon resonance. (0,5 CFU) Diagnostica molecolare: analisi con radioisotopi (0,5 CFU).</p> <p>Ingegneria proteica ed esempi da letteratura (3 CFU): Progettazione di nuove proteine ed Analisi e Selezione dei prodotti ottenuti. Modifica chimica di specifici residui di una proteina. Rational design: Mutagenesi sito-diretta; Mutagenesi semi-rational Consensus guided mutagenesis. Directed Evolution: Mutagenesi random Point: Error-prone PCR; Site-saturation Mutagenesis; Somatic Hypermutation (SHM). Ricombinazione in vitro: DNA-Shuffling, SCOPE, Step, Rachitt, Shiprec, Scratchy; Permutazione Circolare Progettazione e costruzione di proteine chimeriche e multifunzionali. Singoli Domini. Single Chain Variable Fragment; Anticorpi chimerici; Diabodi; proteine bispecifiche; Immunotossine chimeriche. Esempi di proteine ingegnerizzate con nuove proprietà</p>

CONTENTS

Analytical and preparative techniques and their applications (5 CFU)

SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI "Biochimica Applicata ed Ingegneria Proteica" APPLIED BIOCHEMISTRY AND PROTEIN ENGINEERING

Corso di Studio
BIOLOGIA



Insegnamento



Laurea Magistrale

A.A. 2019/2020

Protein purification and characterization: Monitoring protein purification. Protein estimation. Enzyme assays. Protein structure determination: Determination of relative molecular mass, number and relative molecular mass of subunits: Proteome analysis: Mass spectrometry. (2,5 CFU)

Protein structure and conformational changes: Molecular exclusion chromatography; Analytical ultracentrifugation; Limited proteolysis; Ultraviolet spectroscopy; Intrinsic and extrinsic fluorescence; Fluorescence Resonance Energy Transfer (FRET), Fluorescence Recovery After Photobleaching (FRAP). (1 CFU)

Fluorescent and bioluminescent proteins: GFP, RedFP, Aequorin and their applications in FRET and FRAP experiments. (0,5 CFU)

Protein-ligand binding techniques: Intrinsic fluorescence; FRET; Bioluminescence Resonance Energy Transfer (BRET); Equilibrium dialysis; Ultrafiltration; Molecular exclusion chromatography; Analytical ultracentrifugation; Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA); Immunoprecipitation; Pull down; cross linking; Surface Plasmon Resonance. (0,5 CFU)

Molecular diagnostics: applications of radioisotopes in the biological sciences. (0,5 CFU)

Protein Engineering and Examples of proteins with new properties (3 CFU)

Design of new proteins and Analysis and selection of the products obtained.

Chemical approaches to protein engineering.

Rational design: Site-directed mutagenesis; semi-rational Consensus guided mutagenesis

Directed Evolution: Random Point Mutagenesis: Error-prone PCR; Site-saturation Mutagenesis; Somatic Hypermutation (SHM)

In vitro Recombination: DNA-Shuffling, SCOPE, Step, Rachitt, Shiprec, Scratchy; Circular Permutation

Construction of chimeric proteins. Isolated domains; Single Chain Variable Fragment; Chimeric antibodies. Diabody structure; bifunctional engineered bispecific proteins; chimeric immunotoxins

Examples of engineered proteins with new properties

MATERIALE DIDATTICO

K. Wilson, J. Walker: Biochimica e biologia molecolare: Principi e tecniche-Raffaello Cortina Editore

M. Maccarone: Metodologie Biochimiche e biomolecolari- Zanichelli

M.C. Bonaccorsi di Patti, R. Contestabile, M.L. Di Salvo: Metodologie Biochimiche- Zanichelli

R.L. Dryer, G.F. Lata: Metodologia biochimica -Antonio Delfino Editore

AJ Ninfa, DP Ballou: Metodologie di base per la biochimica e la biotecnologia -Zanichelli

A.L. Lehninger: Principi di Biochimica -Zanichelli

L. Stryer: Biochimica.-Zanichelli

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

Appunti delle lezioni e articoli originali che saranno illustrati durante il corso.

FINALITA' E MODALITA' PER LA VERIFICA DI APPRENDIMENTO

- A)** L'esame di fine corso mira a verificare e valutare il raggiungimento degli obiettivi didattici elencati in grassetto nella sezione contenuti del programma.
- B)** Lo studente verrà interrogato sugli argomenti del corso utilizzando i quesiti elencati nella sezione domande frequenti per valutare il grado di completezza della sua risposta, il livello di integrazione tra i vari contenuti del corso, il raggiungimento da parte dello studente di una visione organica dei temi affrontati, la padronanza espressive e la proprietà nel linguaggio scientifico. La frequenza assidua ed il grado di partecipazione attiva in aula saranno elementi di valutazione positiva.

PURPOSES AND MODALITIES OF LEARNING VERIFICATION

- A)** *The final examination is aimed to verify and evaluate the achievement of the educational learning targets listed in bold in the program contents section.*
- B)** *The student will be asked to answer to questions listed as " frequently asked questions" in order to evaluate the degree of completeness of the answers, the level of integration between the different topics of the course and the appropriateness of the scientific language used.*
Regular attendance to the lessons and active participation during the classroom activities will be positively considered.

b) Modalità di esame:

L'esame si articola in prova	Scritta e orale		Solo scritta		Solo orale	x
Discussione di elaborato progettuale						
Altro, specificare						

SCHEDA DELL' INSEGNAMENTO DI "Biochimica Applicata ed Ingegneria Proteica"
APPLIED BIOCHEMISTRY AND PROTEIN ENGINEERING

Corso di Studio
BIOLOGIA

Insegnamento

Laurea Magistrale

A.A. 2019/2020

In caso di prova scritta i quesiti sono (*)	A risposta multipla	A risposta libera	Esercizi numerici
---	---------------------	-------------------	-------------------

DOMANDE D'ESAME FREQUENTI

Tappe della purificazione delle proteine
Criteri di purezza delle proteine
Dosaggio delle proteine
Metodi per lo studio dell'attività enzimatica
Determinazione della massa molecolare relativa,
Determinazione del numero e del peso molecolare delle subunità
Applicazioni della Spettrometria di massa
Determinazione del proteoma
Analisi di cambi conformazionali
Interazioni proteina-ligandi, proteina-proteina
Diagnostica molecolare: impiego dei radioisotopi in biochimica
Rational design: Mutagenesi Sito-diretta
Directed Evolution: Mutagenesi Random
Ricombinazione In vitro
Progettazione e costruzione di proteine chimeriche
Esempi di proteine ricombinanti con nuove proprietà

FREQUENTLY ASKED QUESTIONS

Steps of Protein purification
Methods for Monitoring protein purification
Methods for Protein estimation
Enzyme assays
Determination of relative molecular mass
Determination of number and relative molecular mass of protein subunits
Applications of Mass spectrometry
Proteome analysis
Protein structure and conformational changes
Protein-ligand binding techniques
Applications of radioisotopes in the biological sciences
Rational design: Site-directed mutagenesis
Directed Evolution: Random Point Mutagenesis
In vitro Recombination
Design and construction of chimeric proteins
Examples of recombinant proteins with new properties