

Scheda dell'insegnamento di Metodologie Biochimiche e laboratorio

Corso di studio: Biologia

Laurea

A.A. 2020/2021

Docente: Patrizia Contursi

081 679 166 email: contursi@unina.it

SSD

CFU

Anno di corso

Semestre

Insegnamenti propedeutici suggeriti: Biochimica e Laboratorio

Conoscenza e capacità di comprensione (max 4 righe, Arial 9)

Lo studente deve dimostrare di avere acquisito le competenze teoriche delle metodologie biochimiche di base, riguardanti le tecniche di purificazione ed analisi di macromolecole, i criteri di purezza delle proteine, le determinazioni strutturali basate su analisi biochimiche e la determinazione qualitativa e quantitativa di attività enzimatiche.

Conoscenza e capacità di comprensione applicate (max 4 righe, Arial 9)

Lo studente deve dimostrare di essere in grado di possedere le capacità applicative delle metodologie biochimiche per perseguire la purificazione di proteine ed enzimi e la caratterizzazione strutturale e funzionale di queste macromolecole.

Eventuali ulteriori risultati di apprendimento attesi, relativamente a:

Autonomia nel giudizio

Lo studente deve essere in grado di sapere elaborare in maniera autonoma le informazioni acquisite durante il corso in modo da indicare i principali approcci metodologici pertinenti alla progettazione di esperimenti riguardanti la purificazione e la caratterizzazione strutturale e funzionale delle proteine.

Abilità comunicative

Lo studente deve saper spiegare a persone non esperte, in modo corretto, semplice e con un linguaggio tecnico, gli approcci metodologici impiegati in campo biochimico per realizzare la purificazione e caratterizzazione di enzimi e proteine dimostrando dimestichezza nella scelta delle differenti tecniche impiegate in campo biochimico/bioecnologico.

Capacità di apprendimento:

Lo studente deve essere in grado di aggiornarsi o ampliare le proprie conoscenze attingendo in maniera autonoma a testi e articoli scientifici propri del settore molecolare, e deve poter acquisire in maniera graduale la capacità di seguire seminari specialistici, conferenze, master ecc. nell'ambito delle Metodologie Biochimiche.

PROGRAMMA

- **Tecniche separative ed analitiche e strumentazione relativa. Unità di misura, sicurezza in laboratorio Sistemi biologici utilizzati nell'indagine biochimica. Colture cellulari eucariotiche e procariotiche. Preparazione di omogenati di tessuti e di cellule. Separazione mediante solubilità: frazionamento mediante sali, solvente, calore. Separazione mediante membrane: filtrazione, dialisi (1CFU).**
 - **Centrifugazione: principi generali. Centrifugazione preparativa e sue applicazioni: differenziale, in gradiente di densità. Centrifugazione analitica e sue applicazioni (0.5).**
 - **Cromatografia: principi generali, cromatografia a scambio ionico, di esclusione, di affinità. Sistemi cromatografici. Rappresentazione grafica dei risultati e loro interpretazione (1 CFU).**
 - **Elettroforesi: principi generali. Supporti: gel di agar e di agarosio, gel di poliacrilammide. Elettroforesi di proteine: elettroforesi nativa ed in condizioni denaturanti in SDS (SDS-PAGE); rivelazione. Western blotting. Focalizzazione isoelettrica; elettroforesi bidimensionale. (1 CFU)**
 - **Tecniche spettroscopiche: principi generali, spettrofotometria nell'ultravioletto e nel visibile. Legge di Lambert e Beer. Applicazioni. Spettrofluorimetria e applicazioni. Tecniche immunochimiche: principi generali, produzione di anticorpi policlonali e monoclonali, dosaggio radioimmunologico; dosaggio immunoenzimatico ELISA; immunofluorescenza (1 CFU).**
- .Clonaggio ed espressione di geni ricombinanti (0.5 CFU)**

Esercitazioni:

- **Elettroforesi su gel di poliacrilammide (PAGE nativa), Elettroforesi su gel di poliacrilammide in presenza di SDS (SDS-PAGE), Saggio enzimatico, Determinazione della concentrazione proteica (1 CFU).**

CONTENTS

- **Separative and analytical techniques and related instrumentation. Units of measurement, laboratory safety. Biological systems used in the biochemical investigation. Eukaryotic and prokaryotic cell cultures. Preparation of tissue and cell extracts. Solubility separation: fractionation with salts, solvent, heat. Membrane separation: filtration, dialysis (1CFU).**
- **Centrifugation: general principles. Preparative centrifugation and its applications: differential, in gradient of density. Analytical centrifugation and its applications (0.5 CFU).**
- **Chromatography: general principles, ion exchange chromatography, exclusion chromatography, affinity chromatography. Chromatographic systems. Graphical representation of the results and their interpretation (1 CFU).**
- **Electrophoresis: general principles. Substrates: agar and agarose gel, polyacrylamide gel. Protein electrophoresis: native electrophoresis and in denaturing conditions in SDS (SDS-PAGE); deection. Western blotting. Isoelectric focusing; two-dimensional electrophoresis. Nucleic acid electrophoresis. Southern blotting, Northern blotting. (1 CFU)**
- **Spectroscopic techniques: general principles, spectrophotometry in ultraviolet and visible light. Lambert's and Beer's law. Applications. Spectrofluorimetry and applications (0.5). • Immunochemical techniques: general principles, production of polyclonal and monoclonal antibodies, radioimmunoassay; enzyme immunoassay ELISA; immunofluorescence (1 CFU).**

Cloning and expression of recombinant genes (0.5 CFU)

- Lab exercises: • Electrophoresis on polyacrylamide gel (native PAGE), Electrophoresis on polyacrylamide gel in the presence of SDS (SDS-PAGE), Enzyme assay, Determination of protein concentration (1 CFU).**

Materiale didattico

LIBRI DI TESTO:

- Stoppini e V- Bellotti: **Biochimica Applicata**- EDISES

M.C. Bonacorsi di Patti, R. Contestabile, M.L. Di Salvo: **Metodologie Biochimiche** – Casa Editrice Ambrosiana

C. De Marco e C. Cini: **Principi di Metodologia Biochimica**. Piccin Editore

-K. Wilson, J. Walzer- **Biochimica e biologia molecolare: Principi e tecniche** -Raffaello Cortina

Altro materiale didattico

Appunti del docente, reperibili sul sito www.docenti.unina.it

a) Modalità di esame:

L'esame si articola in prova	Scritta e orale	
Discussione di elaborato progettuale		
Altro, specificare		
In caso di prova scritta i quesiti sono (*)	A risposta multipla	

Solo scritta	
A risposta libera	

Solo orale	X
Esercizi numerici	

(*) E' possibile rispondere a più opzioni