



SCHEMA DELL'INSEGNAMENTO (SI) BIOCHIMICA AVANZATA ED INGEGNERIA PROTEICA

SSD: BIOCHIMICA (BIO/10)

DENOMINAZIONE DEL CORSO DI STUDIO: BIOLOGIA (P58)
ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INFORMAZIONI GENERALI - DOCENTE

DOCENTE: LIMAURO DANILA
TELEFONO: 081-679170 - 081-679171
EMAIL: danila.limauro@unina.it

INFORMAZIONI GENERALI - ATTIVITÀ

INSEGNAMENTO INTEGRATO: NON PERTINENTE
MODULO: NON PERTINENTE
CANALE: A-Z
ANNO DI CORSO: I
PERIODO DI SVOLGIMENTO: SEMESTRE I
CFU: 8

INSEGNAMENTI PROPEDEUTICI

Nessuno

EVENTUALI PREREQUISITI

Nessuno

OBIETTIVI FORMATIVI

Il corso ha come obiettivo formativo quello di fornire conoscenza sull'evoluzione e organizzazione strutturale delle proteine, sulle loro modifiche e loro interazione *in vivo* per la comprensione dei sistemi biologici complessi. Saranno illustrate tecniche di biochimica avanzata comprendenti lo studio conformazionale delle proteine, l'interazione proteina-proteina e proteina-ligando al fine di comprendere quali conoscenze possono essere ottenute dai diversi approcci sperimentali evidenziandone potenzialità e limiti. Saranno illustrate tecniche di ingegneria proteica mediante approcci di mutagenesi sito-diretta e direct evolution per migliorare proteine esistenti. Numerosi esempi, tra cui ingegnerizzazione di proteine fluorescenti e di estremozimi,

serviranno a comprendere come si possono creare nuove proteine con specifiche funzioni per applicazioni biotecnologiche nella diagnostica e nell'industria

RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI (DESCRITTORI DI DUBLINO)

Conoscenza e capacità di comprensione

Conoscenze dei principi biologici e chimico-fisici alla base della struttura e della funzione delle macromolecole. Fornire conoscenze teoriche e pratiche delle tecniche utilizzate nei laboratori biochimici per analizzare la struttura e la funzione delle biomolecole, in particolare proteine ed enzimi; fornire conoscenze sulle applicazioni degli enzimi nella diagnostica e nell'industria.

Fornire, attraverso alcuni esempi, le basi teoriche per la costruzione e la caratterizzazione di proteine ingegnerizzate con nuove proprietà.

Capacità di applicare conoscenza e comprensione

Utilizzare la conoscenza sull'organizzazione strutturale delle proteine, sulle loro modifiche, sulla loro interazione in vivo per la comprensione dei sistemi biologici complessi. Capacità di applicare metodologie biochimiche per analisi biologiche. Saper individuare fra le tecniche di ingegneria proteica quelle più adeguate per creare nuove proteine con specifiche funzioni per applicazioni biotecnologiche nella diagnostica e nell'industria.

PROGRAMMA-SYLLABUS

- Biochimica avanzata: Livelli di organizzazione strutturale delle proteine. Le proprietà conformazionali delle catene polipeptidiche con particolare riguardo alle strutture secondarie. I motivi strutturali delle strutture terziarie e i domini. I metodi per la determinazione della struttura tridimensionale: Proteine intrinsecamente disordinate. Il folding delle proteine in vitro e in vivo, ruolo degli chaperoni, Degradazione delle proteine: proteasoma e ruolo dell'ubiquitina. Topogenesi e modificazioni post-traduzionali delle proteine. **(2.5 cfu)**. - Metodologie biochimiche avanzate: richiami di tecniche di base per la purificazione ed analisi delle proteine. Analisi e determinazione della massa molecolare delle proteine: protein cross linking, ultracentrifugazione analitica, light scattering, spettrometria di massa. Studio conformazionale delle proteine mediante spettrofotometria e fluorescenza. Studio delle interazioni proteina-proteina e proteina-ligando: FRET, BRET, equilibrio di dialisi, Pull down, EMSA risonanza plasmonica di superficie **(2 cfu)**. - Ingegneria proteica: Espressione e purificazione di proteine ricombinanti. Mutagenesi delle proteine mediante rational design ed evoluzione diretta. Modificazione della termostabilità e delle caratteristiche catalitiche di enzimi mediante evoluzione orientata. Progettazione e costruzione di proteine chimeriche e multifunzionali. Le proteine auto fluorescenti e bioluminescenti come esempi di proteine mutagenizzate mediante approcci combinati. Ingegneria proteica degli enzimi per uso industriale, esempi. Estremofili come fonte di proteine per uso industriale **(3 cfu)**. Esercitazioni in laboratorio **(0.5 cfu)**.

MATERIALE DIDATTICO

•L. Stryer: Biochimica.-Zanichelli •D.L Nelson –M.M Fox: I Principi di Biochimica -Zanichelli •M.C. Bonaccorsi di Patti, R. Contestabile, M.L.Di Salvo: Metodologie biochimiche-Casa Editrice Ambrosiana •M. Maccarone: Metodologie Biochimiche e Biomolecolari-Zanichelli •. Duranti: Introduzione allo studio delle proteine Zanichelli- <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/> Appunti delle lezioni e articoli originali che saranno illustrati durante il corso.

MODALITÀ DI SVOLGIMENTO DELL'INSEGNAMENTO-MODULO

Il docente utilizzerà lezioni frontali e seminari di altri esperti del settore

VERIFICA DI APPRENDIMENTO E CRITERI DI VALUTAZIONE

a) Modalità di esame

- Scritto
- Orale
- Discussione di elaborato progettuale
- Altro

In caso di prova scritta i quesiti sono

- A risposta multipla
- A risposta libera
- Esercizi numerici

b) Modalità di valutazione

L'esame di fine corso mira a verificare e valutare il raggiungimento degli obiettivi didattici relativi agli argomenti riportati in grassetto nel programma. Durante la prova finale lo studente verrà interrogato sugli argomenti indicati nella sezione "domande di esame più frequenti". Sarà oggetto di valutazione il grado di completezza della risposta, il livello di integrazione tra i vari contenuti del corso e l'appropriatezza scientifica del linguaggio. Il raggiungimento da parte dello studente di una visione organica dei temi affrontati a lezione, congiunta alla loro utilizzazione critica, la capacità di fare collegamenti, la dimostrazione del possesso di una padronanza espressiva e di linguaggio specifico saranno valutati con voti di eccellenza. La frequenza assidua e la partecipazione alle attività in aula saranno considerati elementi positivi di valutazione.