



SCHEMA DELL'INSEGNAMENTO (SI) METODOLOGIE BIOCHIMICHE E LABORATORIO

SSD: BIOCHIMICA (BIO/10)

DENOMINAZIONE DEL CORSO DI STUDIO: BIOLOGIA (P30)
ANNO ACCADEMICO 2022/2023

INFORMAZIONI GENERALI - DOCENTE

DOCENTE: PERUGINO GIUSEPPE
TELEFONO: 081-679052
EMAIL: giuseppe.perugino@unina.it

INFORMAZIONI GENERALI - ATTIVITÀ

INSEGNAMENTO INTEGRATO: NON PERTINENTE
MODULO: NON PERTINENTE
CANALE: A-Z
ANNO DI CORSO: III
PERIODO DI SVOLGIMENTO: SEMESTRE II
CFU: 6

INSEGNAMENTI PROPEDEUTICI

Biochimica e Laboratorio

EVENTUALI PREREQUISITI

nessuno

OBIETTIVI FORMATIVI

Obiettivo dell'insegnamento è quello di fornire le conoscenze di base relative alla determinazione, alla purificazione e all'analisi delle macromolecole biologiche, con particolare riferimento alle proteine e agli enzimi.

RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI (DESCRITTORI DI DUBLINO)

Conoscenza e capacità di comprensione

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 loro caratteristiche strutturali basate su analisi biochimiche e la

determinazione qualitativa e quantitativa delle attività enzimatiche.

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. Inoltre, lo studente deve essere in grado di spiegare a persone non esperte, in un linguaggio corretto, semplice e tecnico, gli approcci metodologici utilizzati in Biochimica per effettuare la purificazione e caratterizzazione di enzimi e proteine, dimostrando dimestichezza nella scelta dei diversi tecniche utilizzate in ambito biochimico/biotecnologico.

Capacità di applicare conoscenza e comprensione

Lo studente dimostra di possedere le capacità applicative delle metodologie biochimiche per impostare la purificazione di proteine ed enzimi e la loro caratterizzazione strutturale e funzionale. 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-SYLLABUS

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 **(1.0 CFU)**.

Centrifugazione: principi generali. Centrifugazione preparativa e sue applicazioni: differenziale, in gradiente di densità. Centrifugazione analitica e sue applicazioni **(0.5 CFU)**.

Cromatografia: principi generali, cromatografia a scambio ionico, di esclusione, di affinità. Sistemi cromatografici. Rappresentazione grafica dei risultati e loro interpretazione **(1.0 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. **(1.0 CFU)**.

Tecniche spettroscopiche: principi generali, spettrofotometria nell'ultravioletto e nel visibile. Legge di Lambert e Beer. Applicazioni. Spettrofluorimetria e applicazioni. Saggi enzimatici. Tecniche immunochimiche: principi generali, produzione di anticorpi policlonali e monoclonali, dosaggio radioimmunologico; dosaggio immunoenzimatico ELISA; immunofluorescenza **(1.0 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 **(1.0 CFU)**.

MATERIALE DIDATTICO

- M. Maccarrone: Metodologie Biochimiche e Biomolecolari - Casa Editrice Zanichelli;
- Stoppini e Bellotti: Biochimica Applicata - EDISES;
- M.C. Bonacorsi di Patti, R. Contestabile, M.L. Di Salvo: Metodologie Biochimiche - Casa Editrice Zanichelli;
- 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;
- Appunti presi a lezione.

MODALITÀ DI SVOLGIMENTO DELL'INSEGNAMENTO-MODULO

Lezioni frontali **(6.0 CFU)**.

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