



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

DIPARTIMENTO	Scienze e Tecnologie Biologiche, Chimiche e Farmaceutiche		
ANNO ACCADEMICO OFFERTA	2023/2024		
ANNO ACCADEMICO EROGAZIONE	2023/2024		
CORSO DILAUREA MAGISTRALE	BIOLOGIA MOLECOLARE E DELLA SALUTE		
INSEGNAMENTO	METODOLOGIE BIOCHIMICHE		
TIPO DI ATTIVITA'	B		
AMBITO	50507-Disciplin del settore biomolecolare		
CODICE INSEGNAMENTO	05176		
SETTORI SCIENTIFICO-DISCIPLINARI	BIO/10		
DOCENTE RESPONSABILE	ATTANZIO ALESSANDRO	Professore Associato	Univ. di PALERMO
ALTRI DOCENTI			
CFU	6		
NUMERO DI ORE RISERVATE ALLO STUDIO PERSONALE	98		
NUMERO DI ORE RISERVATE ALLA DIDATTICA ASSISTITA	52		
PROPEDEUTICITA'			
MUTUAZIONI			
ANNO DI CORSO	1		
PERIODO DELLE LEZIONI	1° semestre		
MODALITA' DI FREQUENZA	Obbligatoria		
TIPO DI VALUTAZIONE	Voto in trentesimi		
ORARIO DI RICEVIMENTO DEGLI STUDENTI	ATTANZIO ALESSANDRO Lunedì 11:00 13:00 Studio Docente, Dip. STEBICEF, via Archirafi 28, secondo piano.Per gli orari di ricevimento via Microsoft Teams si prega di fare riferimento a quelli in presenza. Martedì 11:00 13:00 Studio Docente, Dip. STEBICEF, via Archirafi 28, secondo piano.Per gli orari di ricevimento via Microsoft Teams si prega di fare riferimento a quelli in presenza. Mercoledì 11:00 13:00 Studio Docente, Dip. STEBICEF, via Archirafi 28, secondo piano.Per gli orari di ricevimento via Microsoft Teams si prega di fare riferimento a quelli in presenza. Giovedì 11:00 13:00 Studio Docente, Dip. STEBICEF, via Archirafi 28, secondo piano.Per gli orari di ricevimento via Microsoft Teams si prega di fare riferimento a quelli in presenza.		

DOCENTE: Prof. ALESSANDRO ATTANZIO

PREREQUISITI	Concetti di struttura e funzione delle macromolecole biologiche e dei principali pathways metabolici acquisiti nelle lauree di primo livello. Particolarmente importante è anche il possesso di rudimenti delle metodologie di laboratorio di base.
RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI	<p>CONOSCENZA E CAPACITA' DI COMPrensIONE Acquisizione dei principi teorici delle metodologie biochimiche avanzate e valutazione del loro impatto nelle diverse aree di interesse biochimico.</p> <p>CAPACITA' DI APPLICARE CONOSCENZA E COMPrensIONE - individuare approcci metodologici adeguati dando particolare risalto a procedure e tecnologie di recente concezione; - riconoscere e individuare in autonomia specifici design sperimentali da applicare all'attività di ricerca biochimica di base e applicata.</p> <p>AUTONOMIA DI GIUDIZIO Essere in grado di: - leggere criticamente un lavoro scientifico valutandone la validità dei risultati descritti in rapporto all'approccio metodologico impiegato; - elaborare opinioni personali sui temi trattati e sviluppare in maniera interdisciplinare l'attitudine all'analisi critica dei problemi, evidenziando gli aspetti non sufficientemente convincenti o coerenti con le ipotesi proposte.</p> <p>ABILITA' COMUNICATIVE Acquisizione di competenza nella presentazione e divulgazione delle nozioni di base con particolare attenzione all'uso di un appropriato lessico tecnico scientifico. In particolare lo studente dovrà acquisire: a) un certo grado di competenza comunicativa, sviluppando una dimensione linguistica efficace e appropriata al contesto scientifico nel quale si trova ad operare; b) la capacità di utilizzare adeguate risorse informatiche per la presentazione e la discussione in ambito scientifico.</p> <p>CAPACITA' DI APPRENDIMENTO Abilità nella consultazione di materiale bibliografico, banche dati e risorse presenti in rete. Capacità di orientarsi in autonomia nell'aggiornamento delle tematiche sviluppate e nel trasferimento delle nozioni apprese in situazioni applicative reali.</p>
VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO	La preparazione dello studente verrà accertata mediante una prova orale e la votazione finale sarà espressa in trentesimi. In sede di esame, almeno 3 domande saranno poste allo studente sul programma svolto per accertare se ha acquisito un appropriato lessico scientifico, se è in grado di discutere criticamente un lavoro scientifico e pianificare in autonomia design sperimentali, valutando approcci metodologici congruenti con la sperimentazione biochimica di base e applicata. La valutazione oscillerà tra una votazione minima (18/30), se le conoscenze acquisite dallo studente sono elementari e di carattere esclusivamente nozionistico, ed una valutazione massima (30/30 e lode) se lo studente dimostra di aver acquisito padronanza delle metodologie di indagine in uso in ambito biochimico e del loro possibile campo di applicazione.
OBIETTIVI FORMATIVI	Il corso si propone di sviluppare e approfondire le conoscenze dello studente su metodologie biochimiche applicate allo studio di proteine, alla loro identificazione, alle interazioni proteina-proteina e alle possibili modifiche post-traduzionali che ne regolano la funzione. Saranno approfonditi aspetti inerenti la citofluorimetria e le sue applicazioni in campo biochimico clinico. Completano il corso le metodologie impiegate per la caratterizzazione e lo studio delle cellule staminali.
ORGANIZZAZIONE DELLA DIDATTICA	Il corso si articola in lezioni frontali (40 h) svolte in aula ed esercitazioni (12 h) esplesate nei laboratori didattici.
TESTI CONSIGLIATI	<p>1. BIOCHIMICA E BIOLOGIA MOLECOLARE. PRINCIPI E TECNICHE. - WILSON KEITH-WALKER JOHN -RAFFAELLO CORTINA EDITORE. ISBN 978-88-3285-145-8</p> <p>2. David L. Nelson Michael M. Cox I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER (Settima edizione) ed. Zanichelli. ISBN 978-88-08-92069-0</p> <p>3. Mauro Maccarrone. Metodologie biochimiche e biomolecolari. Zanichelli. ISBN 978-88-08-52055-5</p> <p>Durante il corso verranno anche forniti articoli e monografie sugli argomenti svolti, nonché tutto il materiale informatico proposto.</p>

PROGRAMMA

ORE	Lezioni
1	Presentazione degli obiettivi della disciplina e strutturazione del corso.

PROGRAMMA

ORE	Lezioni
11	<p>METODI DI STUDIO DELLE PROTEINE. Introduzione allo studio della proteomica. Frazionamento e purificazione delle proteine. Preparazione del campione per le analisi di proteomica: solubilizzazione, prefrazionamento e rimozione di agenti contaminanti. Metodi spettrofotometrici. Principali metodologie elettroforetiche nella ricerca e nella diagnostica biomedica. Elettroforesi 2D delle proteine: Isoelettrofocalizzazione (IEF) e scelta del gradiente di pH. IPG strip. SDS-PAGE. Western blot. Metodi per l'identificazione delle proteine nel gel: colorazione con Blue comassie, Silver stain, Sybro Ruby, potenzialità e limiti dei coloranti utilizzati. Densitometria. Analisi mediante spettrometria di massa: principi della spettrometria e struttura di uno spettrometro di massa. Sorgenti: Ionizzazione diretta, MALDI, ESI. Analizzatori di massa: Time of Flight (Tof), quadrupolo, trappola ionica. Rivelatori. Peptide Mass Fingerprinting.</p>
6	<p>METODOLOGIE PER LO STUDIO DELLE INTERAZIONI PROTEINA-PROTEINA. Ruolo delle interazioni proteina-proteina e loro classificazione. L'origine delle interazioni proteiche e ruolo dell'allostereismo nella colocalizzazione. Metodi di studio delle interazioni proteina-proteina per interazioni stabili e transienti. Two hybrid assay. MAPPIT. Immunoprecipitazione/Co-immunoprecipitazione. TAP tag method. Far western blotting. Protein arrays. Crosslinking. FRET.</p>
9	<p>TECNOLOGIE ANTISENSO E RNA INTERFERENCE PER LO STUDIO DEGLI RNA. RNA antisenso. Oligonucleotidi antisenso di I, II e III generazione. Ribozimi. RNA interference e meccanismo d'azione. Effetti degli dsRNA. Risposta da interferone e recettori Toll-like. Design dei siRNA secondo Tuschl. Effetti del silenziamento e metodi per la valutazione del knockdown genico. Controlli sperimentali nei saggi di silenziamento. Fattori che influenzano un ridotto knockdown. Effetto Off-Target. Strategie per minimizzare l'effetto Off-Target: concentrazione, pooling, modificazione delle basi. Cenni su approcci bioinformatici. Metodi per il siRNA delivery: uso di lipoplessi e nanoparticelle per la terapia in vivo. Biogenesi e funzione dei piRNA. MicroRNA: biogenesi e processamento. Complesso microprocessore: Drosha e DGCR8. Proteine Argonata nei meccanismi di processamento degli RNA. Ruolo dei mir nei processi di sviluppo: lin4/lin14. Ruolo dei mir nel controllo dell'emiocitosi delle vescicole di insulina. Oncomir e antioncomir e loro ruolo nei tumori.</p>
9	<p>TECNICHE CITOFLUORIMETRICHE. Principi generali alla base della citofluorimetria. Strumentazione: citofluorimetro a flusso e le sue componenti. Preparazione del campione e sonde fluorescenti. Marcatura delle cellule. Marcatura di superficie e intracellulare. Compensazione. Acquisizione e analisi dei dati ottenuti. Rappresentazione dei dati citofluorimetrici. Strategia di gating. Vantaggi e limiti della citofluorimetria. Separazione di cellule attivate dalla fluorescenza (FACS). Applicazioni e rilevanza biomedica della citofluorimetria: immunofenotipizzazione, apoptosi e necrosi, ciclo cellulare, potenziale di membrana mitocondriale, specie reattive dell'ossigeno (ROS) e glutatione (GSH), calcio, ceramide.</p>
4	<p>METODI DI STUDIO DI CELLULE STAMINALI CANCEROSE. Caratteristiche delle cellule staminali, loro classificazione e potenziali applicazioni nella medicina rigenerativa. Cellule staminali cancerose. Markers di staminalità e loro studio. Purificazione e isolamento di cellule staminali cancerose. Tecniche di studio: side population, selezione attraverso markers di superficie, tumor sphere, determinazione del potenziale invasivo e del potenziale tumorigenico.</p>
ORE	Laboratori
12	<p>Le conoscenze acquisite durante il corso saranno approfondite con esercitazioni di laboratorio al fine di fornire un'adeguata conoscenza delle metodologie e della loro applicazione nel laboratorio. Comuni metodi per lo studio delle proteine: purificazione, quantificazione e analisi delle proteine. Citometria di flusso ed analisi dei dati. Verifica delle conoscenze acquisite.</p>