



UNIVERSITÀ DI PISA

FISICA DEI BIOSISTEMI

FRANCESCA CELLA ZANACCHI

Anno accademico **2023/24**
CdS **FISICA**
Codice **387BB**
CFU **9**

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
FISICA DEI BIOSISTEMI	FIS/03	LEZIONI	54	SIMONE CAPACCIOLI FRANCESCA CELLA ZANACCHI

Obiettivi di apprendimento

Conoscenze

Il Corso è diviso in quattro parti in cui si intende fornire conoscenze di base in:

- Meccanismi che regolano la materia attiva bio-ispirata:
- Tecniche di imaging per lo studio di strutture e processi biologici
- Materia attiva bio-ispirata
- Esperimenti di singola molecola per studi di biomolecole

Modalità di verifica delle conoscenze

Le conoscenze saranno verificate tramite prova orale.

Capacità

Alla fine del Corso lo studente avrà acquisito capacità di comprensione e di analisi di studi sperimentali, teorici e computazionali nel campo della fisica dei biosistemi

Modalità di verifica delle capacità

Le lezioni sono svolte in modo quanto più interattivo possibile per verificare che gli studenti acquisiscano le capacità tecniche e di logica necessarie alla comprensione dei principali aspetti della fisica dei biosistemi

Comportamenti

Sarà acquisita capacità di analisi e di schematizzazione dei principali aspetti della fisica dei biosistemi

Modalità di verifica dei comportamenti

Lezioni interattive e prova orale finale.

Prerequisiti (conoscenze iniziali)

Conoscenze di base in Fisica della Materia e Fisica Statistica.

Indicazioni metodologiche

Lezioni frontali, ricevimenti, utilizzo di e-mail e del sito e-learning per comunicazioni e materiale didattico addizionale.

Programma (contenuti dell'insegnamento)

L'insegnamento si focalizza sui principi fisici che caratterizzano la materia attiva, partendo dalla comprensione dei meccanismi che regolano i processi nei sistemi biologici "modello" per arrivare alla caratterizzazione di sistemi e materiali "bio-ispirati". Particolare attenzione è dedicata alle strutture, alle simmetrie, alle proprietà meccaniche e mecano-sensibili dei sistemi biologici non in equilibrio, coinvolti nello sviluppo di



UNIVERSITÀ DI PISA

attuatori e materiali innovativi. Inoltre si introdurranno le più recenti tecniche di *imaging*, sviluppate nel campo della microscopia ottica a super-risoluzione, e le loro applicazioni allo studio dei processi e delle interazioni molecolari in sistemi biologici di interesse.

Programma Fisica dei Biosistemi:

Meccanismi che regolano la materia attiva bio-ispirata:

- Introduzione ai biosistemi e materia attiva ispirata dai biosistemi.
- Self-assembly e dei fenomeni cooperativi. Sistemi autoassemblanti. Funzione biologica e struttura di proteine ed Interazioni non covalenti fra bio-macromolecole. Struttura di proteine in soluzione e effetto dell'ambiente circostante. Transizioni cooperative, interazioni specifiche e superamento dei moti diffusivi e browniani.
- Folding e unfolding delle proteine, dinamica e funzionalità.
- Self assembly, molecole anfifiliche e Autorganizzazione di micelle e binding polynomials.
- Transizioni di fase del primo ordine e ordini superiori. Diagrammi di fase e plot di energia libera. Esempio di sistemi miscibili e immiscibili.
- Autorganizzazione di membrane, proteine, acidi nucleici (DNA origami). Modello di Landau. Fenomeni critici e fluttuazioni.
- Applicazione del modello di Ising a bio-macromolecole in soluzione. Modello random chain per transizioni helices-coil. Modello di massima cooperatività.
- Folding e unfolding di proteine: misure calorimetriche, cromatografiche, spettroscopiche.
- Cooperatività e ligand binding. Affinità di legame. Rate di legame. Catalisi. Modelli di binding polynomials: DNA B helicase, cooperatività positiva e negativa.

Tecniche di imaging per lo studio della materia bio-ispirata

- Introduzione ai metodi di osservazione della materia attiva e dei sistemi biologici. Concetti di base di microscopia ottica e in fluorescenza. Basi della propagazione della luce. Distribuzione del campo elettrico nel fuoco di una lente. Potere risolutivo e funzione risposta all'impulso.
- Tecniche standard di imaging in fluorescenza. Microscopia widefield, Microscopia confocale e sezionamento ottico. Microscopia con eccitazione a due fotoni. Microscopia TIRF (Total internal reflection).
- Tecniche di microscopia avanzata in fluorescenza. Tecniche di perturbazione basate su photobleaching per misure di diffusione. Tecniche basate su Forster resonance energy transfer (FRET). Fluorescence correlation spectroscopy (FCS).
- Tecniche di super risoluzione a scansione e approcci stocastici.
- Tecniche di localizzazione di singola molecola. Single particle tracking e cenni di Fluctuation-Based Super-Resolution (SOFI).
- Tecniche di super risoluzione a scansione: Reversible saturable optical fluorescence transitions (RESOLFT) e Stimulated emission depletion (STED).
- Tecniche di super-risoluzione basate sulla luce strutturata.
- Microscopia con illuminazione planare: light-sheet microscopy. Ricostruzione delle immagini: multi-view. Applicazioni biologiche e configurazione inverted SPIM.
- Estensione della super-risoluzione in campioni spessi. Detection di singola molecola in profondità: aberrazioni e scattering. Eccitazione a due fotoni.
- Cenni di Meccanica cellulare e traction force microscopy (TFM).

Materia attiva bio-ispirata

- Macchine biochimiche e motori molecolari.
- Emoglobina e legame con O₂: modello di Pauling, MWC, PKNF. Ligandi multipli: inibizione e attivazione. Effetto di pH e CO. Fenomeni cooperativi: segnali e stimoli, logica booleana.
- Polimerizzazione dell'actina e forze meccaniche esercitate. Simmetrie nella materia attiva: isotropiche, nematiche e polari e difetti topologici.
- Il citoscheletro cellulare. Self assembly e polimerizzazione dei microtubuli. Ruolo dell'idrolisi dell'ATP. Polimerizzazione e crescita dei microtubuli. Polimerizzazione e stabilizzazione dei filamenti di actina. Trasporto intracellulare e motori molecolari.
- Trasduttori di energia. Trasduttori di segnali e fosforilazione. Motori molecolari: dinamica della Kinesina su microtubuli
- Motori molecolari: brownian ratchet e eventi di legame e rilascio guidati da fluttuazioni di energia.



UNIVERSITÀ DI PISA

- Recettore TRPV1, proteine di membrana a canale ionico "voltage-gate"
- Struttura del DNA. DNA melting e annealing. Nanostrutture a DNA. Processo di fabbricazione dei DNA origami.

Esperimenti di singola molecola per studi di biomolecole

- Esperimenti di singola molecola. Manipolazione di biomacromolecole, misurazioni di distribuzione di proprietà fisiche della singola molecola
- Piccoli sistemi, grandi fluttuazioni e deviazione dai comportamenti usuali. Tecniche sperimentali: single molecule fluorescence. FRET per folding/unfolding
- Microscopia a Forza Atomica. Esempi di esperimenti di pulling su acidi nucleici e proteine. Pinzette ottiche e laser optical tweezers.
- Biomolecole sotto tensione. Trazione e torsione su DNA. Misure isotensionali e isometriche. Teorema di Fluttuazione. Equazione di Crooks e uguaglianza di Jarzinski. Esempio per esperimenti di singola molecola

Bibliografia e materiale didattico

Tecniche di imaging:

"Principles of fluorescence spectroscopy", J.R. Lakowicz, Third edition, Springer

"Optical Fluorescence Microscopy -From the Spectral to the Nano Dimension" A. Diaspro, Springer

"Principles of Optics" Born and Wolf, Cambridge Univ. Press

Indicazioni per non frequentanti

Nessuna

Modalità d'esame

Esame finale orale attraverso colloquio tra il candidato e il docente anche in forma di domanda/risposta, sui vari argomenti trattati nel corso.

Ultimo aggiornamento 15/09/2023 11:00