UNIVERSITÀ DI PISA

METODOLOGIE BIOCHIMICHE

MARIO CAPPIELLO

Anno accademico	2022/23
CdS	BIOTECNOLOGIE
Codice	123EE
CFU	6

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
METODOLOGIE BIOCHIMICHE	BIO/10	LEZIONI	56	MARIO CAPPIELLO FRANCESCA FELICE

Obiettivi di apprendimento

Conoscenze

Conoscenza di

- terminologia biochimica e basi teoriche delle metodologie biochimiche,
- tecniche impiegate nella ricerca biochimica: centrifugazione, cromatografia, elettroforesi, spettrofotometria, tecniche radiochimiche, tecniche immunochimiche
- strategie per la purificazione delle proteine

Modalità di verifica delle conoscenze

Le conoscenze dello studente e la sua abilità di esporre i principali argomenti presentati durante il corso impiegando la terminologia corretta ed appropriata sarà valutata attraverso l'esame orale finale.

Capacità

Saper effettuare

- centrifugazioni
- cromatografie a bassa pressione
- elettroforesi
- misure di attivita' enzimatica e di concentrazione proteica

Modalità di verifica delle capacità

La capacità dello studente di utilizzare le tecniche di base impiegate nella ricerca biochimica sarà valutata tramite la presentazione in sede di esame di una relazione scritta avente per oggetto l'attività di laboratorio svolta.

Prerequisiti (conoscenze iniziali)

Matematica, Chimica generale, Chimica Organica, Fisica, Biologia, Biochimica

Indicazioni metodologiche

Metodi di insegnamento:

- lezioni frontali con l'ausilio di lucidi
- attività di laboratorio

Il corso comprende sedici ore di laboratorio. Durante quattro ore di laboratorio gli studenti sono posti di fronte alla simulazione al computer della purificazione di proteine. Durante le restanti ore di laboratorio gli studenti affrontano un passaggio di purificazione di un enzima e imparano a misurare l'attività enzimatica e la concentrazione di proteine e ad eseguire un'elettroforesi.
Frequenza alle lezioni: consigliata
Frequenza al laboratorio: obbligatoria

Programma (contenuti dell'insegnamento)

La centrifugazione: Principi fondamentali della centrifugazione. Principali tipi di centrifugazione. Le centrifughe.

UNIVERSITÀ DI PISA

I sistemi cromatografici: Principi fondamentali della cromatografia. Cromatografia di ripartizione liquido-liquido: cromatografia su carta e su strato sottile. Cromatografia per esclusione molecolare. Cromatografia per scambio ionico. Cromatografia di affinità. Cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC).
Elettroforesi: Concetti fondamentali della teoria dell'elettroforesi. Elettroforesi a fronte mobile (cenni) ed elettroforesi zonale. Elettroforesi discontinua. Elettroforesi in presenza di sodio dodecilsolfato. Isoelectrofocusing. Elettroforesi bidimensionale. Elettroforesi capillare.
Spettrofotometria: Principi fondamentali della spettrofotometria. La legge di Lambert-Beer. Gli spettrofotometri. Applicazioni della spettrofotometria di assorbimento: determinazione quantitativa di un composto mediante l'uso dello spettrofotometro; curve di taratura; dosaggi spettrofotometrici di enzimi diretti ed accoppiati. Cenni di spettrofluorimetria.
Tecniche radiochimiche: Principi fondamentali. Apparecchi per la misurazione della radioattività. Misura della radioattività.
Tecniche immunochimiche: Concetti di base. Saggio radioimmunologico (RIA). Saggio immunoenzimatico (ELISA). Immunodosaggi mediante fluorescenza.
Purificazione delle proteine: Preparazione di un estratto proteico. Dialisi. Ultrafiltrazione. Metodi di precipitazione delle proteine. Strategie di purificazione delle proteine.

Bibliografia e materiale didattico

Testi di riferimento
“Metodologie Biochimiche” di M.C Bonaccorsi di Patti, R. Contestabile e M.L. Di Salvo, Casa Editrice Ambrosiana, Edizione 2012 o seguenti
oppure
“Principi di Metodologia Biochimica” di C. De Marco e C. Cini, Piccin Nuova Libraria, Edizione 2009 o seguenti
oppure
“Principles and Techniques of Practical Biochemistry” di K. Wilson e J. Walker, Cambridge University Press, fifth edition, 2000 o seguenti

Altro
Lucidi delle lezioni

Modalità d'esame

Esame orale finale e verifica (relazione scritta) per il Laboratorio

Ultimo aggiornamento 18/10/2022 15:50