

CORSO DI STUDIO: *Biotecnologie Industriali per lo Sviluppo Sostenibile (BISS)*

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

INSEGNAMENTO *Laboratorio di tecnologie biochimiche ed enzimologia, 5 CFU*

(Laboratory of biochemical technologies and enzymology, 5 ECTS)

Integrato con “*Laboratorio di tecnologie biomolecolari e bioinformatica*”
(CFU 5) totale= 10 CFU

Principali informazioni sull'insegnamento	
Anno di corso	III anno
Periodo di erogazione	I semestre
Crediti formativi universitari (CFU/ETCS):	5 CFU
SSD	BIOCHIMICA (BIO/10)
Lingua di erogazione	Italiano
Modalità di frequenza	Frequenza obbligatoria per i laboratori (75%), raccomandata per le lezioni frontali

Docente	
Nome e cognome	Tiziana Latronico
Indirizzo mail	tiziana.latronico@uniba.it
Telefono	+39 080 5443376
Sede	Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Ambiente, stanza 35, Palazzo Dipartimenti Biologici, piano terra stanza 35, via Orabona, 4
Sede virtuale	Codice teams: fc9x9kt
Ricevimento	Da concordare

Organizzazione della didattica			
Ore			
Totali	Didattica frontale	Pratica (laboratorio, campo, esercitazione, altro)	Studio individuale
125	16	36	73
CFU/ETCS			
5	2	3	

Obiettivi formativi	L'insegnamento di Laboratorio di tecnologie biochimiche ed enzimologia si propone di fornire le conoscenze per la comprensione delle metodologie biochimiche. Le attività di laboratorio saranno finalizzate sia ad avviare gli studenti all'approccio sperimentale in campo biochimico che alla capacità di individuare in base agli obiettivi le metodologie per poter condurre in modo corretto un esperimento. La teoria insieme alla pratica hanno, quindi, il fine, di condurre lo studente ad essere in grado di progettare, eseguire ed interpretare un esperimento.
Prerequisiti	Conoscenza della Biochimica

Metodi didattici	Il corso è strutturato in lezioni teoriche frontali e laboratori. In particolare sono previste 52 ore complessive di didattica (5 CFU) di cui 16 ore di lezioni frontale e 36 ore di esercitazioni. Le lezioni si svolgono in aula e l'esposizione avviene mediante l'utilizzo di diapositive realizzate con il programma power-point e lavagna per schematizzare concetti teorici. Per i laboratori gli studenti vengono divisi in gruppi (massimo 4 studenti per gruppo).
-------------------------	---

<p>Risultati di apprendimento previsti</p>	<p>Conoscenza e capacità di comprensione Al termine dell'insegnamento lo studente sarà in grado di applicare le conoscenze acquisite per individuare le più opportune tecniche per poter condurre in modo corretto un esperimento ed interpretare adeguatamente i risultati ottenuti.</p> <p>Capacità di applicare conoscenza e comprensione Acquisizione di autonomia in ambiti relativi alla valutazione e interpretazione di protocolli sperimentali e alla scelta delle metodiche da utilizzare nell'ambito sperimentale</p> <ul style="list-style-type: none"> • Autonomia di giudizio <p>Sviluppare la capacità di raccogliere ed interpretare dati di tipo biochimico ritenuti utili a determinare giudizi autonomi, inclusa la riflessione su temi scientifici ad essi connessi.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Abilità comunicative</i> <p><i>Al termine dell'insegnamento lo studente dovrà aver acquisito la capacità di esporre i principi e concetti fondamentali delle tematiche di studio e capacità di descrizione della teoria con chiarezza e proprietà di linguaggio</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Capacità di apprendere in modo autonomo</i> <p><i>Sviluppare le capacità di apprendimento che sono necessarie per intraprendere studi successivi con un alto grado di autonomia</i></p>
<p>Contenuti di insegnamento (Programma)</p>	<p><u>Introduzione alle metodologie biochimiche.</u> <u>Metodologie per la purificazione delle proteine.</u> Strategie da adottare per la purificazione delle proteine. Metodi d'estrazione delle proteine da campioni biologici. Analisi quantitativa delle proteine. Dosaggio spettrofotometrico diretto delle proteine. Dosaggio spettrofotometrico indiretto delle proteine mediante metodi colorimetrici: vantaggi e svantaggi. Tecniche elettroforetiche, SDS-PAGE, isoelettrofocalizzazione, elettroforesi bidimensionale, blotting ed ELISA. <u>Principali tecniche di separazione e purificazione delle proteine. Metodi di frazionamento delle proteine.</u> Principi di base della sedimentazione. Metodi di purificazione delle proteine: precipitazione frazionata al calore, al punto isoelettrico, con solventi organici e sali neutri. Frazionamento delle proteine per ultrafiltrazione. Tecniche di centrifugazione. Centrifugazione frazionata in mezzo omogeneo e centrifugazione zonale o isopicnica in gradiente di densità. <u>Tecniche cromatografiche</u> Principi generali della cromatografia. Bontà di un sistema cromatografico. Cromatografia ad esclusione molecolare o gel filtrazione e sue applicazioni; cromatografia a scambio ionico ESERCITAZIONI PRATICHE DI LABORATORIO. -Costruzione della retta di taratura mediante dosaggio spettrofotometrico, secondo il metodo Bradford, utilizzando come proteina standard l'albumina. - Purificazione di proteine mediante centrifugazione in gradiente. -Purificazione di membrane cellulari in gradiente di saccarosio mediante centrifugazione.. -Estrazione di proteine estrinseche di membrana. Estrazione di proteasi dalla mielina mediante l'utilizzo di NaCl. -Estrazione di proteine intrinseche di membrana mediante l'utilizzo del detergente zwitterionico CHAPS. -Purificazione di proteine mediante l'utilizzo della cromatografia per adsorbimento.</p>

	<p>-Determinazione della resa proteica.</p> <p>-Analisi elettroforetica per visualizzare i profili proteici di campioni purificati da tessuto cerebrale bovino, con particolare riferimento alle proteine della mielina.</p> <p>-Cromatografia su strato sottile (TLC). Separazione di lipidi mediante cromatografia su strato sottile.</p> <p>-Estrazione di proteasi da campioni biologici e loro analisi</p>
Testi di riferimento	<p>METODOLOGIE BIOCHIMICHE di Bonaccorsi di Patti, Contestabile, Di Salvo, Casa Editrice Ambrosiana.</p> <p>I testi sono integrati con le diapositive delle lezioni e con le schede dei laboratori, distribuite dal docente durante le lezioni e i laboratori</p>
Note ai testi di riferimento	
Materiali didattici	<p>Lezioni frontali con l'utilizzo del programma PowerPoint e della lavagna per schematizzare concetti teorici.</p> <p>Esercitazioni pratiche di laboratorio</p>

Valutazione	
Modalità di verifica dell'apprendimento	<p>L'esame prevede una prova orale individuale finalizzata ad accertare il livello di conoscenza e la capacità di comprensione raggiunti dallo studente sui contenuti teorici e metodologici degli argomenti trattati ed indicati nel programma</p> <p>Lo studente, inoltre, dovrà dimostrare di aver acquisito buone capacità di approfondimento e criticità che gli consentano di svolgere protocolli sperimentali in autonomia.</p>
Criteri di valutazione	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Conoscenza e capacità di comprensione:</i> Acquisizione di conoscenze sulle principali tecniche di biochimica • <i>Conoscenza e capacità di comprensione applicate:</i> Lo studente dovrà dimostrare di saper applicare le conoscenze acquisite nell'ambito dello studio di sistemi biochimici e tecniche metodologiche. • <i>Autonomia di giudizio:</i> Capacità di elaborare quanto appreso, al fine di interpretare e discutere criticamente i risultati di esperimenti. • <i>Abilità comunicative:</i> Acquisizione della terminologia scientifica adeguata ed esposizione degli argomenti con proprietà di linguaggio. • <i>Capacità di apprendere:</i> Capacità di apprendimento necessarie per affrontare in autonomia studi successivi che richiedano conoscenza di metodologie biochimiche e capacità di applicare anche ad altri ambiti il metodo di studio acquisito
Criteri di misurazione dell'apprendimento e di attribuzione del voto finale	<p>Il voto finale è attribuito in trentesimi. L'esame si intende superato quando il voto è maggiore o uguale a 18. La valutazione finale verrà determinata considerando il grado di apprendimento di autonomia di giudizio e la capacità di argomentazione ed esposizione dello studente</p>
Altro	

COURSE OF STUDY *Industrial Biotechnology for Sustainable Development (SIBB)*
ACADEMIC YEAR: 2023-2024

ACADEMIC SUBJECT *“Laboratory of biochemical technologies and enzymology”*

General information	
Year of the course	third
Academic calendar (starting and ending date)	1st semester (October-January)
Credits (CFU/ETCS):	6
SSD	BIO/10
Language	Italian
Mode of attendance	Frequency to laboratory activities is mandatory (students are required to attend at least 75% of the laboratory activities)and it is recommended for frontal lessons

Professor/ Lecturer	
Name and Surname	Tiziana Latronico
E-mail	Tiziana.latronico@uniba.it
Telephone	+39 080 5443376
Department and address	Department of Biosciences, Biotechnologies and Environment, Building of Biological Departments, room 35, University of Bari Aldo Moro, via Orabona 4, 70125, Bari
Virtual room	Teams fc9x9kt
Office Hours (and modalities: e.g., by appointment, on line, etc.)	Agree with the teacher by email

Work schedule			
Hours			
Total	Lectures	Hands-on (laboratory, workshops, working groups, seminars, field trips)	Out-of-class study hours/ Self-study hours
125	16	36	73
CFU/ETCS			
5	2	3	

Learning Objectives	The course aims to provide the knowledge for understanding biochemical methodologies. The theory together with the laboratory activities have the aim of leading the student to be able to design, execute and interpret an experiment.
Course prerequisites	Knowledge of biochemical disciplines

Teaching strategie	The course is structured in frontal theoretical lessons and laboratories. In particular, a total of 52 hours of teaching (5 CFU) are foreseen, of which 16 hours of frontal lessons and 36 hours of exercises. The lessons take place in the classroom and the presentation takes place through the use of slides made with the power-point program and blackboard to schematize theoretical concepts. For the laboratories, the students are divided into groups (maximum 4 students per group).
Expected learning outcomes in terms of	

Knowledge and understanding on:	At the end of the course the students will be able to apply the acquired knowledge to identify the most appropriate techniques and to conduct an experiment correctly and interpret the results obtained
Applying knowledge and understanding on:	Acquisition of autonomy in the evaluation and interpretation of experimental protocols and in the choice of methods in the setting up of experiment
Soft skills	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Making informed judgments and choices</i> Develop the ability to collect and interpret biochemical data useful for determining autonomous judgments, including reflection on relevant scientific topics • <i>Communicating knowledge and understanding</i> At the end of the course the student must have acquired the ability to expose the fundamental principles and concepts of the subjects of study and the ability to describe the theory with clarity and proper language • <i>Capacities to continue learning</i> Develop the learning skills that are necessary to undertake further studies with a high degree of autonomy.
Syllabus	
Content knowledge	<p><u>Introduction to biochemical methodologies.</u> Protein purification methodologies. Protein extraction methods from biological samples. Quantitative analysis of proteins. Direct spectrophotometric assay of proteins. Indirect spectrophotometric assay of proteins by colorimetric methods: advantages and disadvantages. Electrophoresis techniques, SDS-PAGE, 2D electrophoresis for proteomics. Protein blotting.</p> <p><u>Main techniques of separation and purification of proteins.</u> Methods for fractionation, separation and profiling of proteins and peptide. Basic principles of sedimentation. Protein purification methods: heat fractionated precipitation, at the isoelectric point, with organic solvents and neutral salts. Protein separation using ultrafiltration.</p> <p><u>Centrifugation techniques.</u> Fractional centrifugation, zonal or isopycnic centrifugation, density gradient centrifugation.</p> <p><u>Chromatographic techniques</u> General principles of chromatography. Gel exclusion chromatography. Ion exchange chromatography.</p> <p>Laboratory exercises.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Construction of the calibration curve by spectrophotometric dosage, according to the Bradford method- Purification of proteins by gradient centrifugation. -Purification of cell membranes in sucrose gradient centrifugation. -Extraction of extrinsic membrane proteins. Extraction of proteases from myelin using NaCl. -Extraction of intrinsic membrane proteins by using the zwitterionic detergent CHAPS. -Purification of proteins through the use of adsorption chromatography. -Determination of protein yield. -Electrophoretic analysis to visualize the protein profiles of samples purified from bovine brain tissue, with particular reference to myelin proteins. -Thin Layer Chromatography (TLC). Separation of lipids by thin layer chromatography. <p>Extraction and analysis of proteases from biological samples</p>
Texts and readings	METODOLOGIE BIOCHIMICHE di Bonaccorsi di Patti, Contestabile, Di Salvo, Casa Editrice Ambrosiana.
Notes, additional materials	Integrate personal study with lesson notes. Images of PowerPoint slides

	projected during the lessons (images) are available.
Repository	
Assessment	
Assessment methods	The examination includes an individual oral test aimed at ascertaining the acquisition of the skills of student. Furthermore, the student will have to demonstrate that he has acquired good in-depth analysis and criticality skills that allow him to carry out experimental protocols independently
Assessment criteria	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Knowledge and understanding</i> <ul style="list-style-type: none"> o Acquisition of knowledge on the main techniques of biochemistry o <i>Applying knowledge and understanding</i> • The student must demonstrate the ability to apply the knowledge acquired in the study of biochemical systems and methodological techniques • <i>Autonomy of judgment</i> the ability to integrate the knowledge learned in the course in order to interpret and critically discuss the experimental results. • <i>Communicating knowledge and understanding</i> Acquisition of adequate scientific terminology and presentation of topics with language skills • <i>Communication skills</i> The property of language and the clarity of the exposition are evaluated. • <i>Capacities to continue learning</i> Learning skills necessary to autonomously undertake subsequent studies that require knowledge of biochemical methodologies and the ability to apply the method acquired to other areas
Final exam and grading criteria	The final grade is awarded out of thirty; the exam is passed when the grade is greater than or equal to 18. In the assessment, transversal skills are taken into account. To achieve a high evaluation, the student must show adequate argumentation and presentation skills.
Further information	
	.