

<b>Principali informazioni sull'insegnamento</b>	<b>CORSI DI STUDIO DI BIOTECNOLOGIE</b>
Denominazione insegnamento	Laboratorio di Biochimica Applicata
Corso di studio (classe)	Biotecnologie Industriali e Agro-Alimentari (L-2)
Crediti formativi	6 CFU
Denominazione inglese	Applied Biochemistry Laboratory
Obbligo di frequenza	SI
Lingua di erogazione	Italiano
Anno Accademico	2018/2019

<b>Docente responsabile</b>		
Nome e Cognome	Tiziana Latronico	
indirizzo email	tiziana.latronico@uniba.it	
numero di telefono	0805443376	
Luogo e orario di ricevimento		
<b>Dettaglio insegnamento</b>	SSD	tipologia attività
	BIO/10	Caratterizzante

<b>Periodo di erogazione</b>	Anno di corso		Semestre	
	3°		1°	
<b>Organizzazione della didattica</b>	Lezioni frontali	Laboratori	Esercitazioni	Totale
CFU	2	4		6
Ore totali	50	100		150
Ore di didattica assistita	16	48		64
Ore di studio individuale	34	52		86

<b>Syllabus</b>	
Prerequisiti	Conoscenza della Biochimica
<b>Risultati di apprendimento attesi (declinare rispetto ai Descrittori di Dublino)</b>	
Conoscenza e capacità di comprensione	L'insegnamento di Laboratorio di Biochimica Applicata 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.
Conoscenza e capacità di comprensione applicate	Acquisizione di autonomia in ambiti relativi alla valutazione e interpretazione di protocolli sperimentali e alla scelta delle metodiche da utilizzare nell'ambito sperimentale.

Autonomia di giudizio	Sviluppare la capacità di raccogliere e interpretare dati di tipo biochimico ritenuti utili a determinare giudizi autonomi, inclusa la riflessione su temi scientifici ad essi connessi.
Abilità comunicative	Capacità di esposizione di principi e concetti fondamentali delle tematiche di studio e capacità di descrizione della teoria con chiarezza e proprietà di linguaggio.
Capacità di apprendere	Sviluppare le capacità di apprendimento che sono necessarie per intraprendere studi successivi con un alto grado di autonomia.

### Programma

Contenuti di insegnamento	<p><b>Introduzione alle metodologie biochimiche.</b></p> <p><b>Metodologie per la purificazione delle proteine.</b> 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. Caratteristiche delle proteine della mielina.</p> <p><b>Principali tecniche di separazione e purificazione delle proteine. metodi di frazionamento delle proteine.</b></p> <p>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.</p> <p>Tecniche di centrifugazione. Centrifugazione frazionata in mezzo omogeneo e centrifugazione zonale o isopicnica in gradiente di densità.</p> <p><b>Tecniche cromatografiche</b></p> <p>Principi generali della cromatografia. Bontà di un sistema cromatografico. Cromatografia ad esclusione molecolare o gel filtrazione e sue applicazioni; cromatografia a scambio ionico; cromatografia di affinità; cromatografia di ripartizione; cromatografia di adsorbimento.</p> <p><b>Tecniche elettroforetiche</b></p> <p>Principi generali dell'elettroforesi. Fattori che influenzano la velocità di migrazione. Elettroforesi di proteine su gel di poliacrilammide in condizioni denaturanti e native. Gel in gradiente; zimografia; isoelettrofocalizzazione; elettroforesi bidimensionale su gel di poliacrilammide. Metodi di rivelazione e stima quantitativa delle proteine.</p> <p><b>Tecniche immunochimiche</b></p> <p>Struttura degli anticorpi. Anticorpi monoclonali e policlonali reazione antigene-anticorpo. Western blotting.</p> <p><b>ESERCITAZIONI PRATICHE DI LABORATORIO.</b></p> <p>-Costruzione della retta di taratura mediante dosaggio spettrofotometrico, secondo il metodo Bradford, utilizzando come</p>
---------------------------	---

	<p>proteina standard l'albumina.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Preparazione di soluzioni di saccarosio per la purificazione di proteine mediante centrifugazione in gradiente.</li> <li>-Purificazione della mielina da cervello bovino. Omogenizzazione del cervello bovino. Purificazione della mielina bovina in gradiente di saccarosio mediante centrifugazione. Dosaggio spettrofotometrico dell'omogenato cerebrale, mediante metodo di Bradford, per la determinazione della quantità proteica.</li> <li>-Estrazione di proteine estrinseche di membrana. Estrazione di proteasi dalla mielina mediante l'utilizzo di NaCl.</li> <li>-Estrazione di proteine intrinseche di membrana dalla mielina mediante l'utilizzo del detergente zwitterionico CHAPS.</li> <li>-Purificazione della proteina basica della mielina mediante l'utilizzo della cromatografia per adsorbimento. -Dosaggi spettrofotometrico per la determinazione della quantità proteica ottenuta dopo purificazione della proteina basica della mielina mediante l'utilizzo di idrossiapatite. Determinazione della resa proteica.</li> <li>-Analisi elettroforetica per visualizzare i profili proteici di campioni purificati da tessuto cerebrale bovino, con particolare riferimento alle proteine della mielina.</li> <li>-Cromatografia su strato sottile (TLC). Separazione di lipidi mediante cromatografia su strato sottile per verificare se la proteina basica della mielina è stata purificata nella forma legata ai lipidi.</li> <li>-Estrazione di proteasi da kiwi mediante omogenizzazione e centrifugazione.</li> <li>-Identificazione mediante zimografia della proteasi actinidina estratta da kiwi.</li> </ul>
Testi di riferimento	
Note ai testi di riferimento	<p><b>METODOLOGIE BIOCHIMICHE</b> 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>
Metodi didattici	<p>Lezioni frontali con l'utilizzo del programma PowerPoint e della lavagna per schematizzare concetti teorici.</p> <p>Esercitazioni pratiche di laboratorio</p>
Metodi di valutazione (scritto, orale, prove in itinere)	<p>Orale</p>
Criteri di valutazione (per ogni risultato di apprendimento atteso su indicato, descrivere cosa ci si aspetta lo studente conosca o sia in grado di fare e a quale livello al fine di dimostrare che un risultato di apprendimento è stato raggiunto e a quale livello)	<p>La valutazione finale viene definita accertando la conoscenza teorica da parte dello studente sulle tecnologie presentate a lezione e sulle sue applicazioni in campo biologico/biochimico.</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>
Altro	