

Laurea magistrale in Chimica e Tecnologia Farmaceutiche

Insegnamento: Biochimica Avanzata 3° anno

5 Crediti (40 ore), annuale, didattica frontale

Programma dell'insegnamento

La tecnologia del DNA ricombinante applicata allo studio delle proteine. Richiamo di concetti di base riguardanti i processi di replicazione/trascrizione del DNA. Sistemi di purificazione di acidi nucleici. Elettroforesi, quantificazione e visualizzazione di acidi nucleici. Vettori per il sottoclonaggio di DNA. Enzimi sfruttati dalla tecnologia del DNA ricombinante: endonucleasi di restrizione, enzimi di modificazione, DNA ed RNA polimerasi, trascrittasi inversa. Produzione di genoteche di di cDNA. Ibridazione sequenza-specifica di acidi nucleici. PCR preparativa, semiquantitativa, quantitativa ed in tempo reale. I sistemi d'espressione di proteine ricombinanti: applicazioni, vantaggi e svantaggi. Il sistema baculovirus/cellule d'insetto. Sistemi di studio delle interazioni proteina-proteina. Approcci d'*interaction cloning* per l'individuazione di geni codificanti potenziali interattori di una proteina d'interesse e loro caratterizzazione. **Purificazione ed analisi funzionale di proteine** - Proprietà chimico-fisiche degli amminoacidi. Richiamo di concetti di base riguardanti i processi di traduzione, maturazione e *sorting* delle proteine. Lavorare con le proteine: principi generali. Tecniche di lisi e frazionamento cellulare a partire da differenti tessuti. Elettroforesi di proteine: principi e sistemi. Elettroforesi in condizioni native e denaturanti: SDS-PAGE, isoelectrofocusing, elettroforesi bidimensionale. Tecniche di rivelazione delle proteine separate mediante elettroforesi: colorazioni totali, specifiche ed immunoriconoscimento. Tecniche cromatografiche per la purificazione di proteine: principi generali, materiali e strumentazione. Applicazioni nel dettaglio: cromatografia a scambio ionico, a scambio idrofobico, per affinità e per gel filtrazione. Determinazione della concentrazione in proteine di un dato campione e della purezza di preparazioni enzimatiche. Metodi di concentrazione delle proteine; dialisi ed ultrafiltrazione. Allestimento di saggi dedicati alla caratterizzazione funzionale di enzimi. La cristallizzazione di proteine: principi e tecniche. Quattro ore di lezione verranno tenute in Aula Informatica per introdurre gli studenti all'utilizzo dei principali programmi pubblicamente disponibili per l'analisi e l'allineamento di sequenze nucleotidiche ed amminoacidiche.

Testi di riferimento

- Wilson, Keith and Goulding, Kenneth H. "Biochimica applicata: le metodologie biochimiche in laboratorio". Ed. Cortina Raffaello
- Ninfa, Alexander and J. Ballou, David P. "Metodologie di base per la biochimica e la biotecnologia". Ed. Zanichelli
- Monografie suggerite di volta in volta dal Docente e scaricabili liberamente dal sito di Facoltà alla pagina "Biblioteca", accedendo al catalogo "periodici elettronici" delle riviste in abbonamento.

Risultati di apprendimento previsti

Il corso si propone di fornire gli strumenti intellettuali per affrontare lo studio di un problema biochimico complesso. Viene dato particolare rilievo agli aspetti tecnici ed applicativi degli argomenti trattati ed alle loro ricadute in campo biomedico e biotecnologico

Propedeuticità

N/A

Si richiede, tuttavia, una buona preparazione in biochimica

Requisiti di trasparenza

Curriculum della Dott.ssa Franca ROSSI, Ricercatore Universitario di Biochimica (ssd BIO/10)

1992 - Laurea in Scienze Biologiche conseguita presso l'Università degli Studi di Pavia. 1993 – 1997 - Attività di ricerca post-laurea nel campo della virologia, incentrata sullo studio della biologia molecolare dei virus HIV-1 ed HBV (fruendo di borse di studio erogate dal CNR e dall'Istituto Superiore di Sanità), presso il gruppo diretto da Prof. G. Milanesi all'Istituto di Genetica Biochimica ed Evoluzionistica del C.N.R. di Pavia. 1997 – 2000 - Periodo di ricerca all'estero in qualità di Borsista dell'Istituto Superiore di Sanità e 'Poste Vert' INSERM, sotto la supervisione del Dott. J-F. Peyron, presso l'unità U526 "Activation des Cellules Hématopoïétiques", alla Facoltà di Medicina 'Pasteur' di Nizza, Francia. 2001 - Periodo di ricerca in qualità di assegnista dell'Università degli Studi del Piemonte Orientale "A. Avogadro" (UPO) presso il gruppo diretto dal Prof. Rizzi al Dipartimento di Scienze Chimiche Alimentari Farmaceutiche e Farmacologiche (Novara). Dal 2002 ad oggi ricercatore universitario della Facoltà di Farmacia dell'UPO, afferisce al laboratorio di biochimica strutturale diretto dal Prof. Menico Rizzi al DiSCAFF di Novara. **Principali interessi di ricerca:** Analisi biochimico/strutturale di enzimi che regolano percorsi metabolici conservati nell'uomo ed in specie patogene per l'uomo.

Pubblicazioni del Docente (2010-2011):

1. Cavagnino A, **Rossi F**, Rizzi M (2011) The Potent Antiplasmodial Calmodulin-Antagonist Trifluoperazine Inhibits Plasmodium Falciparum Calcium-Dependent Protein Kinase. *Protein Pept Lett.* 2011 Jul 25. [Epub ahead of print]
2. **Rossi F**, Khanduja JS, Bortoluzzi A, Houghton J, Sander P, Güthlein C, Davis EO, Springer B, Böttger EC, Relini A, Penco A, Muniyappa K, Rizzi M. (2011) The biological and structural characterization of Mycobacterium tuberculosis UvrA provides novel insights into its mechanism of action. *Nucleic Acids Res.* 2011 May 27. [Epub ahead of print].
3. Passera E, Campanini B, **Rossi F**, Casazza V, Rizzi M, Pellicciari R, Mozzarelli A. (2011) Human kynurenine aminotransferase II - reactivity with substrates and inhibitors. *FEBS J.* **278**, 1882-1900.
4. Casazza V, **Rossi F**, Rizzi M (2011) Biochemical and structural investigations on kynurenine aminotransferase II: an example of conformation-driven species-specific inhibition? *Curr Top Med Chem.* **11**, 148-57.
5. **Rossi F**, Valentina C, Garavaglia S, Sathyaikumar KV, Schwarcz R, Kojima S, Okuwaki K, Ono S, Kajii Y, Rizzi M. (2010) Crystal structure-based selective targeting of the pyridoxal 5'-phosphate dependent enzyme kynurenine aminotransferase II for cognitive enhancement. *J Med Chem.* **53**, 5684-9.
6. Singh P, Patil KN, Khanduja JS, Kumar PS, Williams A, **Rossi F**, Rizzi M, Davis EO, Muniyappa K. (2010) Mycobacterium tuberculosis UvrD1 and UvrA proteins suppress DNA strand exchange promoted by cognate and noncognate RecA proteins. *Biochemistry* **49**, 4872-83.

Modalità di erogazione del corso

Tradizionale

Sede del corso

Facoltà di Farmacia, Largo Donegani 2, Novara

Modalità di frequenza

Obbligatoria

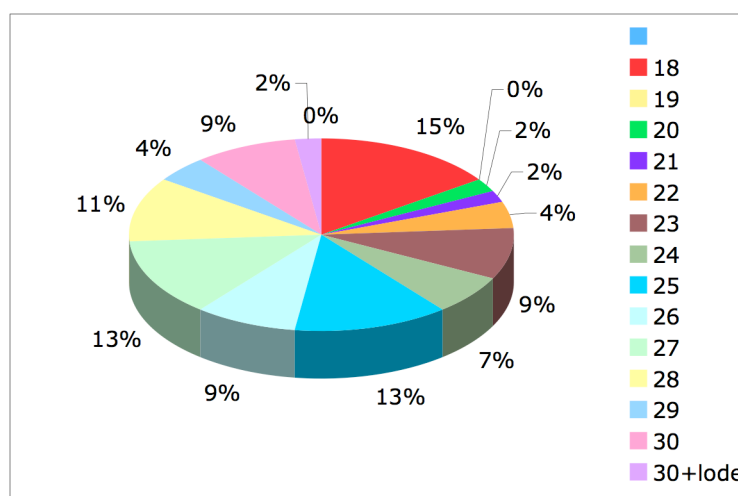
Metodi di valutazione

Scritto (esercizi e domande aperte)

Dati relativi al superamento degli esami (A. A. di riferimento: 2010-2011) ed alle relative votazioni ottenute dagli Studenti.

TOTALE: 46

VALUTAZIONE MEDIA: 24.76/30



Calendario delle attività didattiche

Si prega di consultare l'orario delle lezioni, relativo al primo ed al secondo semestre del Corso di Laurea in CTF, sul sito di Facoltà. Eventuali modificazioni apportate al calendario ufficiale, previa segnalazione alla Segreteria di Presidenza, saranno concordate dal Docente con gli Studenti e ne sarà dato avviso alla pagina "Studenti" del sito di Facoltà.

Attività di supporto alla didattica

N/A

Orario ricevimento studenti

Il Docente riceve gli studenti nel suo presso il DiSCAFF, sito al 1° piano dell'edificio, 5° studio a destra, dalle 14 alle 15 ogni 2° e 3° giovedì del mese, sotto appuntamento da concordare telefonicamente (0321-375812) o tramite messaggio di posta elettronica (franca.rossi@pharm.unipmn.it).

Calendario delle prove di esame

Ore 11:00				
Febbraio 2012	Giugno 2012	Luglio 2012	Settembre 2012	Febbraio 2013
6	4	12	3	4
27	25		27	25