

CORSO DI STUDIO: *Corso di Studio in Biotecnologie Mediche e Medicina Molecolare*

ANNO ACCADEMICO: *2023-2024*

DENOMINAZIONE DELL'INSEGNAMENTO: *Proteomica e Metabolomica Applicate*

Principali informazioni sull'insegnamento	
Anno di corso	<i>1 anno</i>
Periodo di erogazione	<i>1 SEMESTRE (ottobre 2023 – gennaio 2024)</i>
Crediti formativi universitari (CFU/ETCS):	<i>9</i>
SSD	<i>BIOCHIMICA BIO/10</i>
Lingua di erogazione	<i>ITALIANO</i>
Modalità di frequenza	<i>Obbligatoria</i>

Docente	
Nome e cognome	<i>Vito Pesce</i>
Indirizzo mail	<i>vito.pesce@uniba.it</i>
Telefono	<i>0805443309</i>
Sede	<i>Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Ambiente</i>
Sede virtuale	
Ricevimento	<i>Mart – Gio dalle 15 alle 17 previo appuntamento telefonico Stanza 42 primo piano Nuovo Palazzo Dipartimenti Biologici</i>

Organizzazione della didattica			
Ore			
Totali	Didattica frontale	Pratica (laboratorio, campo, esercitazione, altro)	Studio individuale
<i>225</i>	<i>56</i>	<i>24</i>	<i>145</i>
CFU/ETCS			
<i>9</i>	<i>7</i>	<i>2</i>	

Obiettivi formativi	<i>L'insegnamento di "Proteomica e Metabolomica Applicate" ha l'obiettivo di fornire le conoscenze necessarie per comprendere la struttura e la funzione del proteoma e del metaboloma umano e di altri organismi e di fornire competenze per sviluppare la padronanza nell'utilizzo delle piattaforme "omiche", in particolare di proteomica e metabolomica in campo biotecnologico, con particolare attenzione alle condizioni fisiologiche e patologiche dell'uomo.</i>
Prerequisiti	<i>L'insegnamento di "Proteomica e Metabolomica Applicate" è un esame del primo anno, primo semestre per cui non vi sono prerequisiti specifici differenti da quelli richiesti per l'accesso al corso di laurea.</i>

<p>Metodi didattici</p>	<p><i>Il corso consiste in lezioni frontali con il supporto di presentazioni PowerPoint che sono fornite agli studenti durante lo svolgimento del corso e pratica laboratoriale. Gli argomenti, sia generali che specifici del corso, si presenteranno fornendo le nozioni essenziali per la comprensione dell'argomento trattato e, anche cercando di aprire discussioni con gli studenti, illustrando come acquisire competenze. L'insegnamento è erogato in presenza.</i></p>
<p>Risultati di apprendimento previsti</p> <p>DD1 Conoscenza e capacità di comprensione</p> <p>DD2 Conoscenza e capacità di comprensione applicate</p>	<p>- <i>Descrittore di Dublino 1: conoscenza e capacità di comprensione;</i></p> <ul style="list-style-type: none"> o <i>Al termine dell'insegnamento, lo studente comprenderà la struttura e la funzione del proteoma e del metaboloma umano e di altri organismi, mediante l'acquisizione di adeguate conoscenze di tecnologie di proteomica e metabolomica, per approcci biotecnologici innovativi.</i> <p>- <i>Descrittore di Dublino 2: capacità di applicare conoscenza e comprensione;</i></p> <ul style="list-style-type: none"> o <i>Al termine dell'insegnamento, lo studente sarà in grado di applicare le conoscenze acquisite nell'utilizzo e applicazione di protocolli sperimentali avanzati per sviluppare la padronanza nell'utilizzo delle piattaforme "omiche", in particolare di proteomica e metabolomica applicate in campo biotecnologico con particolare attenzione all'uomo, nelle sue condizioni fisiologiche e patologiche (es. monitoraggio di proteine e metaboliti target in matrici complesse e applicazioni in medicina rigenerativa).</i>

<p>DD3-5 Competenze trasversali</p>	<p>- Descrittore di Dublino 3: capacità critiche e di giudizio</p> <ul style="list-style-type: none"> • Autonomia di giudizio <p>Al termine dell'insegnamento lo/la studente/studentessa dovrà essere in grado di</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ acquisire la capacità di interpretare criticamente ed elaborare in autonomia i dati sperimentali; ○ acquisire autonomia e capacità di valutazione ed interpretazione di dati provenienti da ricerche su scala "omica"; ○ sviluppare disegni sperimentali originali, per una ampia varietà di problematiche connesse a pratiche di Medicina di Precisione. <p>- Descrittore di Dublino 4: capacità di comunicare quanto si è appreso</p> <ul style="list-style-type: none"> • Abilità comunicative <p>Al termine dell'insegnamento lo/la studente/studentessa dovrà essere in grado di</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ acquisire il lessico e la terminologia utile a scrivere e presentare risultati sperimentali in modo chiaro e sintetico; ○ acquisire adeguate competenze e strumenti di comunicazione scritta e orale, in lingua italiana e in inglese, finalizzata allo scambio di idee, informazioni, dati e metodologie con interlocutori specialisti e non specialisti; ○ acquisire abilità comunicative specifiche per confrontarsi e lavorare in gruppo con esperti sia in ambito clinico che tecnologico (informatici, ingegneri, etc.) allo scopo di sviluppare gli approcci multidisciplinari necessari. <p>- Descrittore di Dublino 5: capacità di proseguire lo studio in modo autonomo nel corso della vita</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ Capacità di apprendere in modo autonomo <p>Al termine dell'insegnamento lo/la studente/studentessa dovrà essere in grado di</p> <ul style="list-style-type: none"> ○ acquisire la capacità di apprendimento di tematiche di ricerca e tecniche proteomiche e metabolomiche applicate alle biotecnologie in campo medico, per rispondere a diversi quesiti biotecnologici anche tramite la consultazione di materiale bibliografico cartaceo o disponibile in rete nonché mediante l'utilizzo di banche dati.
<p>Contenuti di insegnamento (Programma)</p>	<p><u>Parte I</u></p> <p><i>Le omiche. Introduzione alla proteomica e alla metabolomica. Il campionamento, la preparazione e l'analisi del metaboloma e del proteoma nei fluidi biologici: sangue, urina, saliva, liquido cefalo-rachidiano.</i></p> <p><u>Parte II</u></p> <p><i>Tecniche NMR: principi generali. NMR monodimensionali: 1H. Shift chimico e Molteplicità di spin. NMR 13C. NMR bidimensionali: 2D J-RES. NMR fingerprinting e profiling. Librerie di spettri NMR: analisi differenziali. Individuazione mediante HMDB di metaboliti presenti in differenti biofluidi umani.</i></p> <p><i>Tecniche cromatografiche: principi generali della separazione del metaboloma e del proteoma mediante tecniche di gas cromatografia. Gascromatografia gas-liquida e gas-solida. Effetti della temperatura, tipi di matrici e tecniche di derivatizzazione di metaboliti. Cromatogramma: parametri e analisi qualitativa e quantitativa. Applicazioni della cromatografia nella analisi del metaboloma e del proteoma in patologie tumorali, malattie cardiovascolari, diabete etc.</i></p>

	<p><i>Separazione ed analisi del metaboloma e del proteoma mediante tecniche HPLC, HPLC in fase inversa e HPLC-MS.</i> <i>Separazione del metaboloma e del proteoma mediante tecniche di elettroforesi capillare accoppiata alla spettrometria di massa (EC-MS).</i></p> <p>Parte III <i>Metaboloma di interesse diagnostico e prognostico in patologie tumorali, in malattie cardiovascolari, in diabete. Metaboloma nei fluidi biologici: identificazione di metaboliti biomarker in condizioni fisiologiche e non (es. doping). Identificazione ed analisi comparativa di metaboliti biomarker (NIST, SIMCA).</i></p> <p>Parte IV <i>Strategie bottom up e top down in proteomica. Principi della spettrometria di massa. Elettroforesi bidimensionali DIGE. Struttura di uno spettrometro di massa. Sorgente di ionizzazione MALDI e analizzatore TOF. Sorgente di ionizzazione elettrospray (ESI). Analizzatori a quadrupolo, trappola ionica, FT-ICR e Orbitrap. Triplo quadrupolo e frammentazione di peptidi per dissociazione indotta da collisione (CID) e dissociazione per trasferimento elettronico (ETD). Analisi di spettri di massa di proteine. Frammentazione di peptidi. Risoluzione ed accuratezza nelle analisi proteomiche. Procedura di identificazione di proteine. Strategie di proteomica quantitativa (SILAC, iTRAQ). SRM e MRM. Marcatura SILAC, IMAC. Proteomica d'espressione e funzionale. Strategie immunoprecipitazione TAP-TAG. Proteomica differenziale. Pattern isotopico. MALDI vs TANDEM. Strategia MASCOT per PMF (Peptide Mass Finger Printing). La proteomica nello studio di modifiche post-traduzionali. Identificazione di proteine fosforilate e del sito di fosforilazione. Metodi di acquisizione di campioni proteici complessi utilizzando la spettrometria di massa e analisi bioinformatica mediante ricerca in banca dati e validazione dei risultati (ANOVA, PCA).</i></p> <p>Parte V <i>Esercitazioni di laboratorio:</i> <i>Preparazione di lisati cellulari per l'analisi proteomica. Separazione mediante elettroforesi mono e bidimensionali. Digestione enzimatica. Estrazione dei peptidi, microconcentrazione e analisi per spettrometria di massa. Interpretazione di spettri di massa delle principali classi di molecole organiche. Utilizzo di database (HMDB) per l'individuazione di metaboliti presenti in differenti biofluidi. Spettri metabolomici NMR. Analisi e identificazione di metaboliti (NIST).</i></p>
Testi di riferimento	<p><i>"Introduction to Proteomics", Daniel C. Liebler, Humana Press;</i> <i>"Clinical Metabolomics- Methods and Protocols", M. Giera, Humana Press, 2017.</i></p>
Note ai testi di riferimento	<p><i>Sono disponibili come supporto i power point delle lezioni.</i></p>
Materiali didattici	<p><i>Il materiale didattico è reperibile in classe Teams opportunamente approntato.</i></p>
Valutazione	
Modalità di verifica dell'apprendimento	<p><i>Per conseguire la votazione finale, espressa in trentesimi, lo studente dovrà dimostrare di aver compreso e di saper applicare i concetti fondamentali degli argomenti trattati, rispondendo a domande su argomenti di proteomica e metabolomica applicate. Non sono previste prove intermedie. La votazione finale terrà conto di diversi fattori quali: adeguatezza, correttezza e congruenza di conoscenze, abilità e competenze possedute e/o manifestate.</i></p>

<p>Criteria di valutazione</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Conoscenza e capacità di comprensione: <ul style="list-style-type: none"> ○ Conoscenza e comprensione delle applicazioni delle principali tecniche di proteomica e metabolomica e del loro utilizzo in un sistema complesso quale l'uomo; ○ Capacità di individuare e applicare le tecniche più opportune, tra quelle esaminate in proteomica e metabolomica, per rispondere a diversi quesiti biotecnologici. • Conoscenza e capacità di comprensione applicate: <ul style="list-style-type: none"> ○ Capacità di applicare le conoscenze pregresse (biochimica, biologia molecolare) allo studio della proteomica e metabolomica. ○ chiarezza e completezza nell'esposizione orale dei contenuti del programma e nella redazione delle relazioni sulle esperienze di laboratorio; ○ capacità di operare collegamenti con i contenuti di altri insegnamenti. • Autonomia di giudizio: <ul style="list-style-type: none"> ○ Capacità di collegare le varie nozioni arrivando ad una conoscenza organica della materia nonché la capacità di interpretare criticamente ed elaborare in autonomia i dati sperimentali. • Abilità comunicative: <ul style="list-style-type: none"> ○ valutazione della chiarezza e completezza delle risposte dello studente. • Capacità di apprendere: <ul style="list-style-type: none"> ○ capacità di approfondimento delle conoscenze in maniera critica.
<p>Criteria di misurazione dell'apprendimento e di attribuzione del voto finale</p>	<p><i>Per conseguire la votazione finale, espressa in trentesimi, lo studente dovrà dimostrare di aver compreso e di saper applicare i concetti fondamentali degli argomenti trattati, rispondendo a domande su argomenti di proteomica e metabolomica applicata. L'esame si intende superato quando il voto è maggiore o uguale a 18. Per conseguire una valutazione finale elevata lo/la studente/studentessa deve avere sviluppato autonomia di giudizio e adeguata capacità di argomentazione ed esposizione.</i></p>
<p>Altro</p>	

COURSE OF STUDY IN Medical Biotechnology and Molecular Medicine
ACADEMIC YEAR 2023-22024
ACADEMIC SUBJECT Proteomics and Metabolomics Applied

General information	
Year of the course	I YEAR
Academic calendar (starting and ending date)	I Semester OCTOBER 2023 – JANUARY 2024
Credits (CFU/ETCS):	9
SSD	BIOCHEMISTRY/BIO10
Language	ITALIAN
Mode of attendance	Obligatory

Professor/ Lecturer	
Name and Surname	Vito Pesce
E-mail	vito.pesce@uniba.it
Telephone	0805443309
Department and address	Department of Biosciences, Biotechnology and Environment Campus "E. Quagliariello" - New Biological buildings- first floor, room 42
Virtual room	Microsoft TEAM
Office Hours (and modalities: e.g., by appointment, on line, etc.)	Tuesday-Thursday 15-17 upon appointment. Dip. Biosciences, Biotechn. and Environ. P1-Room 42 +39-0805443309

Work schedule			
Hours			
Total	Lectures	Hands-on (laboratory, workshops, working groups, seminars, field trips)	Out-of-class study hours/ Self-study hours
225	56	24	145
CFU/ETCS			
9	7	2	

Learning Objectives	<i>The course of "Applied Proteomics and Metabolomics" aims to provide the knowledge necessary to understand the structure and function of the proteome and metabolome in humans and other organisms and to provide skills to develop mastery in the use of platforms " omics", in particular of proteomics and metabolomics in the biotechnological field, with particular attention to the human physiological and pathological conditions.</i>
Course prerequisites	<i>The course of "Applied Proteomics and Metabolomics" is a first year, first semester exam for which there are no specific prerequisites other than those required for access to the degree course.</i>

Teaching strategie	<i>The course consists of lectures with the support of PowerPoint presentations that are provided to students during the course and laboratory practice. The topics, both general and specific to the course, will be presented providing the essential notions for understanding the subject matter and, also trying to open discussions with the students, illustrating how to acquire skills. Teaching is delivered face-to-face.</i>
---------------------------	--

Expected learning outcomes in terms of	
Knowledge and understanding on:	<ul style="list-style-type: none"> ○ <i>At the end of the course, the student will understand the structure and function of the proteome and metabolome of humans and other organisms, through the acquisition of adequate knowledge of proteomics and metabolomics technologies, for innovative biotechnological approaches.</i>
Applying knowledge and understanding on:	<ul style="list-style-type: none"> ○ <i>At the end of the course, the student will be able to apply the knowledge acquired in the use and application of advanced experimental protocols to develop mastery in the use of "omics" platforms, in particular of proteomics and metabolomics applied in the biotechnological field with particular attention to human, in physiological and pathological conditions (eg monitoring of target proteins and metabolites in complex matrices and applications in regenerative medicine).</i>
Soft skills	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Making informed judgments and choices</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>At the end of the course the students must be able to</i> <ul style="list-style-type: none"> - <i>acquire the ability to critically interpret and autonomously process experimental data;</i> - <i>acquire autonomy and ability to evaluate and interpret data from research on an "omics" scale;</i> - <i>develop original experimental designs, for a wide variety of problems related to Precision Medicine practices.</i>

	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Communicating knowledge and understanding</i> At the end of the course the student must be able to <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>acquire the vocabulary and terminology useful for writing and presenting experimental results in a clear and concise way;</i> ○ <i>acquire adequate written and oral communication skills and tools, in Italian and English, aimed at exchanging ideas, information, data and methodologies with specialist and non-specialist interlocutors;</i> ○ <i>acquire specific communication skills to discuss and work in groups with experts in both the clinical and technological fields (i.e. engineers, etc.) in order to develop the necessary multidisciplinary approaches.</i> • <i>Capacities to continue learning</i> At the end of the course the student must be able to <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>acquire the ability to learn research topics and proteomic and metabolomic techniques applied to biotechnology in the medical field, to respond to various biotechnological questions also by consulting paper or online bibliographic material as well as by using databases.</i>
Syllabus	
Content knowledge	<p>Part I Omics. Introduction to proteomics and metabolomics. Sampling, preparation and analysis of metaboloma and proteoma in biological fluids: blood, urine, saliva, cerebral-rachidian fluid.</p> <p>Part II NMR techniques: general principles. One-dimensional NMR: ¹H. Chemical shift and spin multiplicity. NMR ¹³C. Two-dimensional NMR: 2D J-RES. NMR fingerprinting and profiling. NMR spectral libraries: differential analysis. HMDB detection of metabolites in different human biofluids. Chromatographic techniques: general principles of metaboloma and proteoma separation by gas chromatography techniques. Gas chromatography gas-liquid and gas-solid. Effects of temperature, types of matrices and techniques of derivatization of metabolites. Chromatogram: parameters and qualitative and quantitative analysis. Applications of chromatography in metaboloma and proteoma analysis in cancer, cardiovascular disease, diabetes etc. Separation and analysis of metaboloma and proteoma by HPLC, reverse phase HPLC and HPLC-MS techniques. Separation of metaboloma and proteoma by capillary electrophoresis techniques coupled to mass spectrometry (EC-MS).</p> <p>Part III Metaboloma of diagnostic and prognostic interest in tumoral pathologies, in cardiovascular diseases, in diabetes. Metaboloma in biological fluids: identification of biomarker metabolites under physiological and non-physiological conditions (e.g. doping). Identification and comparative analysis of biomarker metabolites (NIST, SIMCA).</p> <p>Part IV Bottom up and top down strategies in proteomics. Principles of mass spectrometry. Two-dimensional electrophoresis DIGE. Structure of a mass spectrometer. MALDI ionization source and TOF analyser. Electrospray ionization source (ESI). Quadrupole analyzers, ion trap, FT-ICR and Orbitrap. Triple quadrupole and fragmentation of peptides by collision-induced dissociation (CID) and electronic transfer dissociation (ETD). Analysis of protein mass spectra. Fragmentation of peptides. Resolution and accuracy in proteomic</p>

	<p>analysis. Protein identification procedure. Quantitative proteomic strategies (SILAC, iTRAQ). SRM and MRM. SILAC marking, IMAC. Expression and functional proteomics. TAP-TAG immunoprecipitation strategies. Differential proteomics. Isotopic pattern. MALDI vs TANDEM. MASCOT strategy for PMF (Peptide Mass Finger Printing). Proteomics in the study of post-translational modifications. Identification of phosphorylated proteins and phosphorylation site. Methods of acquisition of complex protein samples using mass spectrometry and bioinformatic analysis by database research and validation of results (ANOVA, PCA).</p> <p>Part V Laboratory exercises in the following areas: Preparation of cell lysates for proteomic analysis. Separation by mono and bidimensional electrophoresis. Enzymatic digestion. Peptide extraction, microconcentration and mass spectrometry analysis. Interpretation of mass spectra of the main classes of organic molecules. Use of databases (HMDB) for the detection of metabolites present in different biofluids. NMR metabolomic spectra. Analysis and identification of metabolites (NIST).</p>
Texts and readings	<p>“Introduction to Proteomics”, Daniel C. Liebler, Humana Press; “Clinical Metabolomics- Methods and Protocols”, M. Giera, Humana Press, 2017;</p>
Notes, additional materials	<p>The power points of the lessons are available as support.</p>
Repository	<p>The teaching material is available in the Teams.</p>

Assessment	
Assessment methods	<p><i>To achieve the final exam, expressed out of thirty, the student must demonstrate that he has understood and knows how to apply the fundamental concepts of the topics covered, by answering questions on applied proteomics and metabolomics topics. There are no intermediate tests. The final grade will take into account various factors such as: adequacy, correctness and congruence of knowledge, skills and competences possessed and/or demonstrated.</i></p>
Assessment criteria	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Knowledge and understanding</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ knowledge and understanding of the applications of the main proteomics and metabolomics techniques and their use in a complex system such as human; ○ ability to identify and apply the most appropriate techniques, among those examined in proteomics and metabolomics, to answer various biotechnological questions. • <i>Applying knowledge and understanding</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ ability to apply previous knowledge (biochemistry, molecular biology) to the study of proteomics and metabolomics; ○ clarity and completeness in the oral presentation of the contents of the program and in the drafting of reports on laboratory experiences; ○ ability to make connections with the contents of other teachings. • <i>Autonomy of judgment</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ ability to connect the various notions arriving at an organic knowledge of the subject as well as the ability to critically interpret and autonomously process experimental data. • <i>Communication skills</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ <i>evaluation of the clarity and completeness of the student's answers.</i> • <i>Capacities to continue learning</i> <ul style="list-style-type: none"> ○ ability to deepen knowledge in a critical way.

Final exam and grading criteria	<p><i>To achieve the final grade, expressed out of thirty, the student will have to demonstrate that he has understood and knows how to apply the fundamental concepts of the topics covered, by answering questions on topics of proteomics and applied metabolomics. The exam is considered passed when the vote is greater than or equal to 18. To achieve a high final evaluation, the student must have developed independent judgment and adequate argumentation and exposition skills.</i></p>
Further information	