

Corso di Laurea magistrale in Medicina Veterinaria (LM42)

Anno Accademico 2018/2019

Programma dell'insegnamento di **Biochimica 2**

Anno di corso I
Bimestre III

N° CFU **6**
Ore complessive **65**

Obiettivi formativi specifici dell'insegnamento

Introduzione al linguaggio e alla metodologia scientifica, con particolare riguardo alle tecnologie biochimiche e agli aspetti applicativi.

Risultati d'apprendimento attesi

Acquisire le conoscenze generali dei principi di base delle tecnologie biochimiche e le loro potenziali applicazioni in campo veterinario.

Conoscenze: Gli obiettivi del corso sono la comprensione dei principi teorici delle più importanti tecniche biochimiche e le modalità di esecuzione

Competenze: Alla fine del percorso di studio lo studente avrà sviluppato la conoscenza delle principali metodologie biochimiche e il loro campo di applicazione.

Abilità: Al termine del corso lo studente dovrà essere in grado di descrivere, con il linguaggio appropriato, i principi teorici dei processi analitici a carico delle macromolecole, e dovrà saper individuare la metodologia più idonea nello studio di determinati processi biologici

Programma di studio ed argomenti di lezione dell'insegnamento

PARTE GENERALE

- **Tecniche spettroscopiche e applicazioni in campo biomedico.**

Assorbimento delle radiazioni elettromagnetiche. Interazione luce-materia. Legge di Lambert e Beer. Spettrofotometro. Spettroscopia di assorbimento UV-VIS. Spettroscopia di fluorescenza. Spettrofluorimetri. Fluorofori intrinseci ed estrinseci. Composti fluorescenti di interesse biologico. Proteine fluorescenti (Green fluorescent protein) e loro applicazione in biologia molecolare. Fluorescence resonance energy transfer (FRET) e applicazioni in biologia cellulare e molecolare. Chemiluminescenza e Bioluminescenza.

- **Tecniche cromatografiche e applicazioni in campo biomedico**

Principi generali della cromatografia. Cromatogrammi. Cromatografia su colonna: scambio ionico, esclusione molecolare, affinità, interazione idrofobica. Gas cromatografia. Cromatografia liquida ad alta pressione (HPLC).

- **Spettrometria di massa e applicazioni in campo biomedico.**

Caratteristiche generali dello spettrometro di massa. Metodi di ionizzazione. Analizzatori. Spettrometri di massa MALDI.

- **Tecniche elettroforetiche e applicazioni in campo biomedico.**

Principi generali e mobilità elettroforetica. Elettroforesi su gel d'agarosio. Elettroforesi su gel di poliaccrilammide (PAGE). Isoelettrofocusing. Gel elettroforesi bidimensionale.

- **Immunochimica e applicazioni in campo biomedico**

Anticorpi. Anticorpi monoclonali, impieghi degli anticorpi monoclonali. Immunodiffusione. Immunoprecipitazione. ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay*). RIA (*Radio ImmunoAssay*).

PARTE SPECIALE

- **Purificazione delle proteine**

Preparazione del campione. Metodi di solubilizzazione delle proteine. Tecniche di frazionamento e precipitazione. Filtrazione, dialisi, concentrazione del campione. Elettroforesi di proteine. SDS PAGE. Elettroforesi in condizioni native. Colorazione delle proteine su gel. Blotting delle proteine (Western blotting). Applicazioni in Medicina Veterinaria.

- **Determinazione di attività enzimatica**

Principi generali. Preparati attivi in vitro. Separazione elettroforetica degli isozimi. Applicazioni in Medicina Veterinaria.

- **Analisi dei glucidi**

Procedimenti di estrazione, analisi qualitative e quantitative. Applicazioni in Medicina Veterinaria.

- **Analisi dei lipidi**

Procedimenti di estrazione, analisi qualitative e quantitative. Applicazioni in Medicina Veterinaria.

- **Analisi degli amminoacidi:**

Analisi qualitative e quantitative. Applicazioni in Medicina Veterinaria.

- **Azoto non proteico**

Urea. Creatina e creatinina. Acido Urico. Applicazioni in Medicina Veterinaria.

- **Cenni di analisi delle vitamine**

- **Biosensori:** Biorecettori e trasduttori

Modalità di erogazione della didattica

Lezioni frontali: **CFU 5 Ore 40**

Esercitazioni pratiche: **CFU 1 Ore 25**

Frequenza

Obbligatoria

Prerequisiti (propedeuticità e competenze acquisite)

Biochimica 1. Si richiede una buona conoscenza della biochimica di base.

Metodi didattici

Il corso si articola in una serie di lezioni frontali avvalendosi della proiezione di presentazioni PP e PDF. Le slide utilizzate a supporto delle lezioni verranno rilasciate prima dell'inizio del Corso presso l'aula degli studenti. Le slide vengono considerate parte integrante del materiale didattico. Le lezioni pratiche si effettuano nel laboratorio opportunamente attrezzato della sezione di "Ispezione degli alimenti".

Accertamento dell'acquisizione delle conoscenze/competenze

Prove in itinere: NO

Test di autovalutazione: NO

Prova Pratica: NO

Esame di profitto finale: Orale

Modalità di svolgimento dell'esame e criteri di valutazione dell'apprendimento:

La verifica della preparazione consiste in una verifica orale

Gli studenti devono dimostrare: piena padronanza nell'individuare e applicare le tecniche biochimiche più opportune, tra quelle esaminate, nell'analisi di vari processi; -capacità di operare in laboratorio

rispettando le norme di sicurezza; -capacità di valutazione critica dei risultati delle procedure sperimentali; -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 corsi.

Libri di Testo e materiale didattico di riferimento

- M. C. Bonaccorsi di Patti, R. Contestabile, M. L. Di Salvo - Metodologie biochimiche– Casa Editrice Ambrosiana
- M. Stoppini, V. Bellotti – Biochimica Applicata – Edises
- C. De Marco, C. Cini – Principi di Metodologia Biochimica – Piccin Editore
- Appunti dalle lezioni
- Slides proiettate a lezione

Sedi delle attività didattiche:

Aula “Mastronardi” - Dipartimento di Medicina Veterinaria, strada provinciale 62 per Casamassima Km 3, 70010 Valenzano (BA)

Laboratori: Ispezione degli alimenti

Materiale ed abbigliamento di biosicurezza richiesti per la frequenza al corso

(Camice bianco o Camice monouso, Guanti monouso, cuffia)

Camice bianco

Titolare del corso

Dott. Ceci Edmondo

Dipartimento di Medicina Veterinaria

Strada Prov. Casamassima km.3, 70010 Valenzano (BA)

tel.0805443851; Fax 0805443851

e-mail: edmondo.ceci@uniba.it

Orario di ricevimento studenti

Martedì: ore 11:30-12:30

Mercoledì: ore 14:30-15:30

Syllabus

<u>Conoscenze</u>	<u>Argomenti</u>	<u>Descrizione</u>	<u>Ore</u>
	Presentazione del corso: finalità e modalità. Criteri di valutazione	Presentazione del corso e modalità di verifica finale. Verifica delle conoscenze preliminari essenziali per la comprensione degli argomenti trattati nel corso.	1
Acquisizione dei principi teorici su cui si basano le tecniche spettroscopiche e loro applicazioni in medicina veterinaria	Tecniche spettroscopiche	Interazione luce-materia Spettroscopia di Assorbimento UV-Vis	1
		Aspetti quali-quantitativi della spettrofotometria	1
		Metodi colorimetrici	1
		Spettroscopia di emissione e	2

		fluorescenza	
Acquisizione dei principi teorici su cui si basano le tecniche cromatografiche e loro applicazioni in medicina veterinaria	Tecniche cromatografiche	Principi di cromatografia	1
		Cromatografia liquida	1
		Cromatografia in fase gassosa	1
		Cromatografia a scambio ionico e a esclusione dimensionale, per affinità	2
Acquisizione dei principi teorici su cui si basa la spettrometria di massa e applicazioni in medicina veterinaria	Cenni di Spettrometria di Massa	Caratteristiche generali della spettrometria di massa. Ionizzazione. Analizzatori Maldi	4
Acquisizione dei principi teorici su cui si basano le tecniche elettroforetiche e loro applicazioni in medicina veterinaria	Tecniche elettroforetiche	Principi generali	1
		Elettroforesi su gel d'agarosio e poliacrilammide. Elettroforesi bidimensionale	1
		Isoelettrofocusing	1
Acquisizione dei principi teorici su cui si basano le tecniche immunochimiche e loro applicazioni in medicina veterinaria	Tecniche immunochimiche	Generalità sugli anticorpi e anticorpi monoclonali	1
		Immunodiffusione e immunoprecipitazione	1
		Elisa. RIA	1
Acquisizione di alcune applicazioni delle metodologie biochimiche allo studio delle proteine	Purificazione e analisi delle proteine	Preparazione del campione. Metodi di solubilizzazione delle proteine. Tecniche di frazionamento e precipitazione. Filtrazione, dialisi, concentrazione del campione. Elettroforesi di proteine. SDS PAGE. Elettroforesi in condizioni native. Colorazione delle proteine su gel. Blotting delle proteine (Western blotting).	4
	Determinazione di attività enzimatica	Dosaggio spettrofotometrico e separazione	2

		elettroforetica degli isozimi	
Acquisizione di alcune applicazioni delle metodologie biochimiche alla determinazione qualitativa di macromolecole di interesse in campo veterinario.	Analisi dei glucidi	Procedimenti di estrazione, analisi qualitative e quantitative	2
	Analisi dei lipidi	Procedimenti di estrazione, analisi qualitative e quantitative	2
	Analisi degli amminoacidi	Analisi qualitative e quantitative	2
	Determinazione dell'azoto non proteico	Urea. Creatina e creatinina. Acido Urico	3
	Analisi delle vitamine	Descrizione di alcuni metodi fisici e chimici per la determinazione qualitativa e quantitativa delle vitamine	2
	<u>Biosensori</u>	<u>Biorecettori e trasduttori</u>	2
ESERCITAZIONI			
Acquisizione dei principi pratici su cui si basano le tecniche biochimiche	Tecniche spettroscopiche	Spettrofotometria UV-Vis: -Determinazione della concentrazione proteica di un campione biologico - Determinazione di attività enzimatica di interesse clinico	5
	Tecniche cromatografiche	HPLC; GC: -approccio allo strumento -esempio di analisi di interesse in campo veterinario	6
	Tecniche elettroforetiche	Esempio di elettroforesi orizzontale in gel di agarosio Esempio di elettroforesi verticale su poliacrilammide (PAGE)	6
	Tecniche immunochimiche	Esempio di analisi ELISA per la ricerca di un antigene di interesse in campo veterinario	4
	Biosensori	Esempio di biosensori e loro utilizzo in campo veterinario	4