

<b>Attività formativa:</b>	Metodi chimico-molecolari per lo studio delle proteine
<b>Modulo didattico:</b>	Modulo unico
<b>CFU</b>	4
<b>Ore</b>	32 ore frontali
<b>Tipo</b>	Lezioni frontali

TEMA	ORE COMPLESSIVE DI CIASCUN TEMA	CONTENUTI	DURATA (ORE) DI CIASCUN CONTENUTO	TIPO (F= frontale, L= Laboratorio, E=esercitazioni)
Introduzione al corso	2	Organizzazione dell'insegnamento e procedura di verifica. Introduzione allo studio delle proteine e ai metodi per isolarle dalla fonte biologica o in forma ricombinante.	2	F
Produzione di proteine	8	Metodi di clonaggio per proteine ricombinanti. Uso di E. coli come ospite di espressione. Ottimizzazione dell'espressione di una proteina in E. coli. Promotori inducibili. Stabilità della proteina. Corpi di inclusione. Come aumentare la solubilità di una proteina: secrezione nel periplasma, uso di chaperones, coespressione. Uso di "tags" e proteine di fusione. Come ottimizzare le condizioni di crescita di E. coli per aumentare la resa in proteina ricombinante.	4	F
		Espressione di proteine ricombinanti in cellule eucariotiche: lievito, insetto, mammifero, pianta. Sistemi di espressione "cell-free".	4	F
Purificazione di proteine	4	Tecniche cromatografiche per la separazione di proteine. Salting in/out.	2	F
		Controllo qualità delle proteine purificate: stabilità e misura della concentrazione e della purezza delle proteine ottenute.	2	F
Stabilità strutturale delle proteine	10	Dicroismo circolare di proteine.	2	F
		Protein-folding": considerazioni termodinamiche e cinetiche. Forze che guidano il ripiegamento proteico. Teoria dell'imbuto conformazionale. Studio della stabilità strutturale attraverso la perturbazione della struttura proteica. Denaturazione chimica e termica seguita da dicroismo circolare, fluorimetria a scansione differenziale e calorimetria a scansione differenziale.	6	F
		Proteine intrinsecamente disordinate	2	F
Interazioni molecolari	8	"Isothermal titration calorimetry". Teoria e applicazioni.	2	F
		"Scattering" della luce per studiare la struttura quaternaria delle proteine. Termoforesi di microscala.	2	F
		Uso di software per analizzare i dati di titolazione di una proteina con ioni metallici e dell'attività di un metallo-enzima con "isothermal titration calorimetry". Interpretazione quantitativa degli spettri di dicroismo circolare.	4	F