

Attività formativa	STRUTTURISTICA PROTEICA				
Modulo didattico	BIOCRISTALLOGRAFIA				
CFU	3				
Ore	28				
tipo	Lezioni frontali + esercitazioni				
Obiettivo formativo	Al termine del corso, lo studente possiede le conoscenze di base necessarie per l'indagine strutturale mediante cristallografia di raggi X di macromolecole biologiche, anche attraverso esercitazioni pratiche. In particolare, lo studente acquisisce familiarità con gli aspetti teorici e sperimentali della biocristallografia, e in particolare conosce le basi fisiche e teoriche della, biocristallografia e gli esperimenti utilizzati per la determinazione della struttura di proteine. Lo studente acquisisce inoltre conoscenze pratiche, tramite esercitazioni in laboratorio ed al computer, di tutti gli steps necessari per la determinazione della struttura di una proteina tramite indagini biocristallografiche.				
TEMATICA			LEZIONI		
Tema	Obiettivo	Ore		Argomenti	Durata (ore)
Introduzione	Lo studente conosce l'organizzazione dell'insegnamento, della verifica e degli argomenti da studiare.	2	1	Organizzazione delle lezioni e modalità di verifica dell'apprendimento. Introduzione agli argomenti del programma. Presentazione della biocristallografia, dei suoi strumenti e dei suoi obiettivi.	2
Basi fisiche della diffrazione di raggi X	Lo studente conosce le basi fisiche del fenomeno della diffrazione di RX e comprende le modalità teoriche e sperimentali della cristallizzazione ed acquisizione dati sperimentali.	8	2	Basi elementari della biocristallografia. La natura dei cristalli. Caratteristiche, proprietà e crescita dei cristalli proteici.	2
			3	Principi geometrici della diffrazione e legge di Bragg. Simmetria nei cristalli ed operazioni di simmetria consentite per molecole chirali.	2
			4	Reticolo reale e reticolo reciproco per oggetti semplici. Insieme 3D di oggetti complessi. Introduzione alle funzioni periodiche ed equazioni d'onda. Funzioni periodiche complesse. Trasformata di Fourier: funzione matematica per ottenere la densità elettronica della molecola in esame.	2
			5	Caratteristiche e produzione dei raggi X, sorgenti convenzionali e luce di sincrotrone, tecniche di raccolta della intensità di diffrazione. Dai dati di diffrazione alla densità elettronica attraverso somme e trasformate di Fourier.	2
Basi chimiche della biocristallografia applicata alle proteine	Lo studente apprende le informazioni che si possono derivare dalle figure di diffrazione di proteine.	4	6	La cella elementare e gli indici dei piani reticolari in un cristallo. Dimensioni e simmetria della cella elementare, posizioni ed intensità dei riflessi, risoluzione dei dati.	2
			7	Il fattore di struttura come somma di Fourier; la densità elettronica come somma di Fourier. Calcolo della densità elettronica dai dati sperimentali. Introduzione al problema della fase.	2
	Lo studente comprende la necessità di attribuire i valori di fase ai riflessi misurati ai fini della costruzione di mappe Fourier e dell'ottenimento del modello molecolare.	4	8	Fattori di struttura come vettori complessi sul piano di Argand con fase esplicitata. Soluzioni al problema della fase: sostituzione isomorfa (SIR e MIR) e mappe Patterson, scattering anomalo (SAD e MAD) (SIRAS e MIRAS) metodi diretti combinati con MAD sostituzione molecolare isomorfa e non isomorfa. Miglioramento delle fasi.	2
			9	Affinamento del modello strutturale e convergenza ad un modello finale. Valutazione della qualità del modello. Interpretazione dei risultati dell'indagine strutturale: esempi tratti da pubblicazioni recenti.	2
TEMATICA			ESERCITAZIONI		
Indagine strutturale a raggi X di proteine mediante cristallizzazione del campione ed utilizzo dei dati strutturali dei cristalli proteici	Lo studente comprende come le informazioni derivate dalla diffrazione di raggi X sono utilizzate per il calcolo della struttura proteica allo stato solido e le mette in pratica nelle esercitazioni.	10	10	Cristallizzazione di una proteina campione mediante elaborazione di una procedura individuale di lavoro, dato un range di precipitanti e di valori di concentrazione di proteina, tampone e precipitante.	4
			11	Esame dei cristalli ottenuti al microscopio per valutarne qualità, scelta dei campioni adatti all'indagine a RX. Esercitazione al diffrattometro a RX: illustrazione dello strumento, delle fasi preliminari e della registrazione dei dati di diffrazione dei cristalli ottenuti dagli studenti.	4
			12	Esercitazione con uso di software adeguato per la visualizzazione del modello di proteina ottenuto, delle mappe di densità elettronica, dei processi di map fitting e della regolarizzazione del modello.	2