

<b>Attività formativa</b>	STRUTTURISTICA PROTEICA				
<b>Modulo didattico</b>	SPETTROSCOPIA NMR BIOMOLECOLARE				
<b>CFU</b>	3				
<b>Ore</b>	24				
<b>tipo</b>	Lezioni frontali				
<b>Obiettivo formativo</b>	Al termine del corso, lo studente possiede le conoscenze di base necessarie per la determinazione, a livello atomico/molecolare, della struttura di macromolecole biologiche mediante la spettroscopia di risonanza magnetica nucleare (NMR) biomolecolare. In particolare, lo studente acquisisce familiarità con gli aspetti teorici e sperimentali della spettroscopia NMR, e in particolare conosce le basi fisiche e teoriche della spettroscopia NMR, gli esperimenti NMR utilizzati per la determinazione della struttura e della dinamica di proteine, e gli approcci basati sulla spettroscopia NMR per lo studio delle interazioni intermolecolari. Al termine del corso lo studente acquisisce inoltre conoscenze, tramite esercitazioni al computer, di tutti i passaggi necessari per la determinazione della struttura di una proteina in soluzione tramite la spettroscopia NMR.				
<b>TEMATICA</b>			<b>LEZIONI</b>		
<b>Tema</b>	<b>Obiettivo</b>	<b>Ore</b>		<b>Argomenti</b>	<b>Durata (ore)</b>
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 spettroscopia NMR biomolecolare, dei suoi strumenti e dei suoi obiettivi.	2
Basi fisiche della spettroscopia NMR	Lo studente conosce le basi fisiche del fenomeno della risonanza magnetica nucleare e comprende le modalità teoriche e sperimentali della registrazione e osservazione di spettri NMR.	8	2	Basi elementari dell'elettromagnetismo. Momento angolare di spin nucleare. Isotopi NMR attivi. Magnetismo nucleare. Energia di un nucleo magnetico in un campo magnetico esterno. Rapporto giromagnetico. Equazione di Larmor e frequenza di eccitazione nucleare magnetica.	2
			3	Magnetismo microscopico e macroscopico. Moti di precessione magnetica. Magnetizzazione e rilassamento longitudinale e trasversale. Principi di funzionamento dello spettrometro NMR. Visualizzazione del fenomeno NMR tramite software dedicato. Spettroscopia CW-NMR e rapporto segnale/rumore negli spettri NMR.	2
			4	Spettroscopia FT-NMR e rapporto segnale/rumore negli spettri NMR. Principi base della trasformata di Fourier e sua visualizzazione tramite software dedicato.	2
			5	Procedure di processing del segnale NMR per l'ottenimento dello spettro: digitalizzazione, zero-filling, apodizzazione, trasformata di Fourier, correzione della fase e della linea di base in spettri mono- e multi-dimensionali.	2
Basi chimiche della spettroscopia NMR applicata alle proteine	Lo studente apprende le informazioni che si possono derivare dallo spettro NMR di proteine, ed in particolare le basi dell'interazione magnetica tra nuclei legati da legami chimici covalenti e tra nuclei vicini nello spazio.	4	6	Parametri dello spettro NMR: scala di energia e, chemical shift, Il chemical shift e la struttura degli aminoacidi. Il chemical shift e la struttura secondaria delle proteine.	2
			7	Molteplicità del segnale e accoppiamento scalare (through-bond). Angoli diedri e costanti di accoppiamento, relazione di Karplus. Intensità del segnale e fenomeni di rilassamento. L'effetto nucleare Overhauser (NOE) through-space.	2
Spettroscopia NMR multidimensionale	Lo studente comprende le procedure di registrazione ed il significato di spettri NMR in due e tre dimensioni, omo- ed etero-nucleari, per l'assegnamento sequenza-specifico dei segnali NMR.	4	8	Sequenze di impulsi per spettri mono-dimensionali e multi-dimensionali. Illustrazione di spettri COSY e TOCSY di aminoacidi. Approccio omo-nucleare per l'assegnamento sequenza-specifico tramite spettri COSY-TOCSY-NOESY omo-nucleari. Spettri etero-nucleari HSQC. Descrizione di sequenze di impulsi tri-dimensionali: NOESY-TOCSY, NOESY-HSQC.	2
			9	Descrizione di esperimenti NMR in tripla risonanza per l'assegnamento dei nuclei del backbone proteico: HNC/HNcaCO, HNCA/HNcoCA, HNCACB/CBCAcoNH, HBHANH, HBHAcoNH. Descrizione di esperimenti NMR in tripla risonanza per l'assegnamento dei nuclei delle catene laterali delle proteine: hCCcoNH, HcccocNH, hCCH-TOCSY. Misura delle costanti di accoppiamento scalare con esperimenti HNHA	2
Determinazione della struttura delle proteine mediante utilizzo dei parametri derivati dagli spettri NMR	Lo studente comprende come le informazioni derivate dallo spettro NMR sono utilizzate per il calcolo della struttura proteica in soluzione tramite la spettroscopia NMR, e le mette in pratica nelle esercitazioni.	6	10	Basi teoriche del calcolo della struttura NMR in soluzione tramite Torsion Angle Dynamics (TAD). Descrizione dei software UNIO, ATNOS, CANDID, CARA, CYANA. Discussione critica del confronto tra strutture NMR, cristallografiche e modelli teorici.	2
			11	Esercitazione al computer, in postazione singola.	4

				Utilizzo del programma CARA (Computer Assisted Resonance Assignment) per l'assegnamento sequenza-specifico dei nuclei del backbone proteico dell'ubiquitina con spettri HNCO/HNcaCO, HNCA/HNcoCA, HNCACB/CBCAcoNH. Utilizzo del programma CYANA per il calcolo della struttura di una proteina a partire da vincoli strutturali di distanze e angoli diedri.	
--	--	--	--	--	--