UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI DI MILANO-BICOCCA

COURSE SYLLABUS

Spectroscopy for Biotechnology

2526-3-E0201Q077

Obiettivi

L'insegnamento si propone di fornire le conoscenze di base sui principali metodi spettroscopici e di microscopia per la caratterizzazione delle proprietà strutturali e/o morfologiche dei sistemi biologici, dalle biomacromolecole alle cellule intatte e ai tessuti.

Conoscenza e capacità di comprensione.
Lo studente dovrà conoscere i principali metodi spettroscopici e microscopici utilizzati in ambito biotecnologico. La conoscenza dei principi di base renderà lo studente in grado di comprendere anche alcuni aspetti più avanzati di tali metodiche.

Capacità di applicare conoscenza e comprensione.
Lo studente dovrà conoscere le potenzialità applicative della spettroscopia e della microscopia in diversi settori delle biotecnologie, dallo studio delle biomolecole isolate a quello di cellule intatte e tessuti.

Autonomia di giudizio.
Al termine dell'insegnamento lo studente avrà acquisito la capacità di: (i) leggere criticamente lavori scientifici dove vengono presentati risultati ottenuti con i metodi presentati a lezione; (ii) scegliere il metodo spettroscopico e di microscopia più adatto allo studio di uno specifico campione biologico, tenendo in considerazione le peculiarità del tipo di campione e lo scopo dell'attività di ricerca; (iii) interpretare i dati sperimentali ottenuti con i diversi metodi affrontati nell'insegnamento.

Abilità comunicative.
Alla fine dell'insegnamento lo studente avrà acquisito la capacità di descrivere i risultati derivanti dall'utilizzo dei metodi oggetto di studio con proprietà di linguaggio.

Capacità di apprendimento.
Alla fine dell'insegnamento lo studente avrà acquisito le conoscenze di base utili alla comprensione di approcci spettroscopici e microscopi più avanzati, oppure rivolti ad applicazioni innovative anche se non espressamente trattate a lezione.

Contenuti sintetici

Nell'insegnamento saranno illustrati i principali metodi spettroscopici e di microscopia per la caratterizzazione delle proprietà strutturali e/o morfologiche di sistemi biologici, dalle biomacromolecole, alle cellule intatte e ai tessuti. Gli approcci spettroscopici e di microscopia verranno illustrati attraverso esempi applicativi di interesse biotecnologico, biomedico e biochimico. Ampio spazio verrà dato alla discussione degli aspetti pratici e all'interpretazione dei dati sperimentali attraverso l'analisi di articoli scientifici originali.

L'insegnamento prevede 10 ore di attività sperimentale con l'utilizzo di metodi avanzati di spettroscopia. In particolare verranno eseguiti studi sulle proprietà conformazionali e sulle interazioni di proteine attraverso spettroscopia di dicroismo circolare, spettroscopia infrarossa e di fluorescenza.

Programma esteso

Capitolo 1: **spettroscopia e sue applicazioni biologiche**.
Generalità sulle onde elettromagnetiche e sull'interazione radiazione–materia.
Assorbimento UV-visibile delle biomolecole. Dicroismo circolare.
Principi generali della fluorescenza. Fluorescenza di proteine e sonde fluorescenti. Quencing, trasferimento di energia alla Förster (FRET) e anisotropia di fluorescenza. Spettroscopia Raman e di assorbimento infrarosso di biosistemi.
Verranno presentati esempi applicativi sull'analisi di biomacromolecole e di bioprocessi in vitro e in vivo. Particolare rilevanza verrà data allo studio del ripiegamento, della stabilità e dell'aggregazione di proteine di interesse biotecnologico (corpi di inclusione e biofarmaci) e biomedico. In quest'ultimo caso, rilevanza verrà data all'analisi dell'aggregazione amiloide in malattie neurodegenerative e amiloidosi sistemiche sia in provetta che in situ. Verrà affrontato lo studio della relazione tra struttura, funzione e tossicità di proteine e aggregati proteici. Verranno discusse in dettaglio le informazioni che gli approcci spettroscopici possono fornire sull'interazione tra proteine e altri elementi (metalli, lipidi, ect.) coinvolti nello sviluppo dell'amiloide.
Nell'ambito delle biotecnologie industriali verranno discussi esempi applicativi dei diversi approcci spettroscopici per il monitoraggio di reazioni enzimatiche in vitro e per la caratterizzazione di bioprocessi in situ (per esempio, l'accumulo di lipidi in lieviti oleaginosi per la produzione di biocarburanti).
Verranno, inoltre, mostrati esempi di analisi delle interazioni biomolecolari (es. interazione proteina-ligando e proteina-nanoparticella) e di caratterizzazione di biomateriali (es. scaffold per ingegneria tissutale).

Capitolo 2: **microscopia**.
Generalità sulla microscopia ottica convenzionale, a fluorescenza, confocale a scansione laser, a due fotoni, microscopia ad alta risoluzione spaziale (STED, stimulation emission depletion) e descrizione delle principali sonde fluorescenti utilizzate in ambito cellulare e biomolecolare.
Verranno presentate anche la microscopia elettronica (TEM, SEM e Cryo-EM), la microscopia a forza atomica, la microspettroscopia e la nanospettroscopia.
Per illustrare le potenzialità di questi approcci, verranno discussi lavori applicativi sulla caratterizzazione di complessi macromolecolari, cellule, strutture e sensori intracellulari, e tessuti.

Capitolo 3: **Attività in laboratorio.**
Cambiamenti conformazionali e aggregazione di proteine studiati attraverso spettroscopia di dicroismo circolare e spettroscopia nell'infrarosso.
Interazioni biomolecolari studiate attraverso spettroscopia di dicroismo circolare e di fluorescenza.
L'attività sperimentale prevedete la preparazione dei campioni, la raccolta dei dati spettroscopici e la loro successiva analisi.

Prerequisiti

Prerequisiti: Conoscenze di base di biochimica.
Propedeuticità specifiche: Nessuna.
Propedeuticità generali: Lo studente può sostenere gli esami del terzo anno dopo aver superato tutti gli esami del primo anno di corso

Modalità didattica

- 17.5 lezioni da 2 ore costituite da:
  • metà lezione in modalità erogativa (didattica erogativa, DE) focalizzata sulla presentazione-illustrazione di contenuti, concetti, principi scientifici.
  • metà lezione in modalità interattiva (didattica interattiva, DI), che prevede discussioni interattive con gli studenti sull'interpretazione di dati sperimentali forniti dal docente, raccolti durante il laboratorio e ottenuti da articoli scientifici originali, brevi interventi effettuati dai corsisti, dimostrazioni aggiuntive di applicazioni pratiche dei contenuti della parte erogativa.

Tutte le attività sono svolte in presenza.

- Laboratorio – 3 attività interattive di laboratorio (preparazione dei campioni e raccolta dei dati spettroscopici) per complessive 10 ore (1 CFU).
  La frequenza del laboratorio è obbligatoria.

L'insegnamento è tenuto in lingua italiana.

Materiale didattico

Il materiale presentato durante le lezioni (slide e articoli scientifici discussi in classe) è disponibile alla pagina e-learning dell'insegnamento.
Verranno fornite le videoregistrazioni delle lezioni frontali usufruibili in modalità asincrona come supporto allo studio.
Libri di testo suggeriti:
Dagmar Klostermeier, Markus G. Rudolph, Biophysical Chemistry
CRC Press; December 19, 2017. Prestabile come e-book presso la biblioteca di Ateneo.

Periodo di erogazione dell'insegnamento

Primo semestre

Modalità di verifica del profitto e valutazione

Esame orale.
L'esame consiste di tre parti:
-(50% del voto finale) interpretazione dei dati sperimentali di un articolo scientifico;
-(30 % del voto finale) verifica delle conoscenze di base relative ad almeno due metodi spettroscopici tra quelli presentati;
-(20% del voto finale) verifica delle conoscenze di base relative a uno dei metodi di microscopia tra quelli presentati.

Orario di ricevimento

Ricevimento: su appuntamento, previa e-mail al docente.

Sustainable Development Goals

SALUTE E BENESSERE | ISTRUZIONE DI QUALITÁ