

# Testi del Syllabus

Resp. Did. **SGARRA RICCARDO** Matricola: **008799**

Docente **SGARRA RICCARDO, 7 CFU**

Anno offerta: **2020/2021**

Insegnamento: **917SM - METODOLOGIE PER LO STUDIO DEL PROTEOMA**

Corso di studio: **SM53 - GENOMICA FUNZIONALE**

Anno regolamento: **2020**

CFU: **9**

Settore: **BIO/10**

Tipo Attività: **B - Caratterizzante**

Anno corso: **1**

Periodo: **Annualità Singola**

Sede: **TRIESTE**



## Testi in italiano

**Lingua insegnamento** ITALIANO

**Contenuti (Dipl.Sup.)** Il corso fornisce le principali cognizioni teoriche riguardanti le metodiche biochimiche adottate in ambito proteomico. Gli argomenti trattati riguardano la preparazione del campione, le strategie adottate per frazionarlo, per ricondizionarlo, analizzarlo (metodiche separative di tipo cromatografia ed elettroforetico) ed infine le strategie per identificare le proteine mediante analisi di spettrometria di massa. Vengono infine trattate anche le principali metodiche per lo studio delle interazioni proteina/proteina con una particolare attenzione alle loro applicazioni in ambito proteomico.

Argomenti trattati:  
Introduzione alla Proteomica  
Metodiche di estrazione del campione:  
a) metodi di estrazione "forti"  
b) metodi di estrazione "blandi"  
c) soluzione per l'estrazione di proteine  
Metodiche di prefrazionamento del campione  
Metodiche di ricondizionamento del Campione  
Tecniche analitiche separative per proteine:  
a) Elettroforesi (native e non native; EMSA, Blu-native gels, IEF, SDS-PAGE, A/U gels)  
b) Cromatografia (RP-HPLC, cromatografia a scambio ionico, cromatofocalizzazione, HIC, gel permeazione, cromatografia d'affinità)  
Spettrometria di massa:  
a) ESI e MALDI  
b) Analizzatori (trappole ioniche, quadrupoli, orbitrap, FTICR, TOF)  
Metodiche di frammentazione in spettrometri a di massa (CID e ETD)  
Metodiche per l'identificazione delle proteine:  
a) Peptide mass fingerprinting e spot-picking  
b) Peptide sequencing e teoria del protone mobile  
Metodi per lo studio di Interazioni proteina/proteina

Il corso prevede anche una serie di esercitazioni nelle quali verranno

applicare alcune delle metodiche trattate durante il corso.

## Testi di riferimento

Tutto il materiale necessario per lo studio e la preparazione dell'esame è fornito dal docente sulla piattaforma moodle2.

## Obiettivi formativi

**CONOSCENZA e CAPACITA' di COMPrensione:**

Il corso di prefigge di far conoscere e di far comprendere allo studente:

- a) cosa è la proteomica e quali sono le sue potenzialità e limiti;
- b) quali sono le metodiche biochimiche utilizzate in ambito proteomico;
- b) come queste metodiche possono essere integrate per dar vita ad un progetto sperimentale in ambito proteomico.

**CAPACITA' di APPLICARE CONOSCENZA e COMPrensione:**

Lo studente acquisirà la capacità di valutare e scegliere opportune strategie analitiche in ambito proteomico a seconda dello scopo prefissatosi. La parte sperimentale di laboratorio costituisce un momento rilevante nel trasferimento delle conoscenze dalla teoria alla pratica.

**AUTONOMIA di GIUDIZIO:** L'autonomia di giudizio è sviluppata tramite domande poste in aula dagli studenti sia in maniera autonoma sia sollecitate dal docente, e soprattutto con la preparazione all'esame, che necessita della rielaborazione e assimilazione individuale del materiale presentato in aula.

Il materiale aggiuntivo fornito dal docente (articoli scientifici e materiale di approfondimento) costituiscono un banco di prova per la rielaborazione autonoma delle informazioni contenute nel corso.

**ABILITA' COMUNICATIVA:** Il test scritto prevede delle domande semi-aperte a risposta concisa in cui lo studente dovrà dimostrare capacità di inquadramento e sintesi nella rielaborazione delle conoscenze apprese. Opportunità di partecipare in aula alla discussione con il docente.

## Prerequisiti

Non ci sono propedeuticità specifiche per questo corso, ma per una proficua comprensione degli argomenti trattati è suggerito un ripasso dei corsi di biochimica svolti in precedenza.

## Metodi didattici

Il corso si divide in una parte teorica svolta tramite lezioni frontali (6 CFU) ed una parte in laboratorio dove verranno svolte delle esercitazioni riguardanti gli argomenti trattati nella parte teorica (3 CFU).

## Altre informazioni

Per la parte di laboratorio gli studenti vengono suddivisi in gruppi e le esercitazioni vengono effettuate in turni. Il numero di studenti per gruppo, la loro costituzione, e l'orario delle esercitazioni verrà concordato una volta avuta evidenza del numero definitivo di iscritti al corso.

## Modalità di verifica dell'apprendimento

L'esame consiste in una prova scritta (30 domande a risposta semi-sintetica). A ciascuna risposta è assegnato un punteggio da 0 a 1 con incrementali di 0.25 (0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0). Il punteggio ottenuto viene rapportato a 28/30. I rimanenti 2/30 per raggiungere il voto massimo di 30/30 derivano dalla valutazione delle relazioni riguardanti le esperienze di laboratorio, che verranno valutate dal docente e alle quali verrà attribuito un punteggio totale da 0 a 2 che si andrà quindi a sommare al punteggio conseguito nella prova scritta. Durante la visione del compito il docente può richiedere dei chiarimenti ed incrementare il voto globale al massimo di 0.5. La somma totale viene approssimata all'unità.

Tutti i dettagli del sistema di valutazione sono spiegati nella lezione introduttiva del corso e sono comunque disponibili in forma scritta sulla piattaforma Moodle2. La lode viene assegnata sulla base dell'eccellenza delle risposte fornite nel compito scritto e sulla cura della stesura delle relazioni.

Durante la lezione di presentazione del corso vengono fornite delle domande tipo e le loro relative risposte.

Il tempo a disposizione per il compito scritto è di 2 ore.

## Programma esteso

Introduzione alla Proteomica  
Metodiche di estrazione del campione:  
a) metodi di estrazione "forti"  
b) metodi di estrazione "blandi"  
c) soluzione per l'estrazione di proteine  
Metodiche di prefrazione del campione  
Metodiche di ricondizionamento del Campione  
Tecniche analitiche separative per proteine:  
a) Elettroforesi (native e non native; EMSA, Blu-native gels, IEF, SDS-PAGE, A/U gels)  
b) Cromatografia (RP-HPLC, cromatografia a scambio ionico, cromatofocalizzazione, HIC, gel permeazione, cromatografia d'affinità)  
Spettrometria di massa:  
a) ESI e MALDI  
b) Analizzatori (trappole ioniche, quadrupoli, orbitrap, FTICR, TOF)  
Metodiche di frammentazione in spettrometri a di massa (CID e ETD)  
Metodiche per l'identificazione delle proteine:  
a) Peptide mass fingerprinting e spot-picking  
b) Peptide sequencing e teoria del protone mobile  
Metodi per lo studio di Interazioni proteina/proteina



## Testi in inglese

Italian

The course provides the main theoretical knowledge concerning the biochemical methods adopted in the proteomic field. The topics covered concern the preparation of the sample, the strategies adopted to split it, to recondition it, to analyze it (chromatography and electrophoretic separative methods) and finally the strategies to identify proteins by means of mass spectrometry analysis. Finally, the main methods for the study of protein / protein interactions are also treated with particular attention to their applications in the proteomic field.

Specific topics:

Introduction to Proteomics

Sample extraction methods:

- a) "strong" extraction methods
- b) "mild" extraction methods
- c) solution for the extraction of proteins

Sample prefractionation methods

Sample reconditioning methods

Separative analytical techniques for proteins:

- a) Electrophoresis (native and non-native; EMSA, Blu-native gels, IEF, SDS-PAGE, A / U gels)
- b) Chromatography (RP-HPLC, ion exchange chromatography, chromatophocalization, HIC, permeation gel, affinity chromatography)

Mass spectrometry:

- a) ESI and MALDI
  - b) Analyzers (ion traps, quadrupoles, orbitrap, FTICR, TOF)
- Fragmentation methods in mass spectrometers (CID and ETD)

Methods for protein identification:

- a) Peptide mass fingerprinting and spot-picking
  - b) Peptide sequencing and mobile proton theory
- Methods for the study of protein / protein interactions

The course also includes a series of laboratory in which some of the methods discussed during the course will be applied.

All the material necessary for the study and preparation of the exam is provided by the teacher on the moodle2 platform.

#### KNOWLEDGE and UNDERSTANDING CAPACITY:

The course aims to make the student known and understood:

- a) what is proteomics and what are its potentials and limits;
- b) what are the biochemical methods used in the proteomics field;
- b) how these methods can be integrated to create an experimental proteomics project.

#### ABILITY to APPLY KNOWLEDGE and UNDERSTANDING:

The student will acquire the ability to evaluate and choose appropriate analytical strategies in the proteomic field according to the intended purpose. The experimental laboratory part constitutes an important moment in the transfer of knowledge from theory to practice.

**AUTONOMY OF JUDGMENT:** The autonomy of judgment is developed through questions posed in the classroom by students both independently and solicited by the teacher, and above all with the preparation for the exam, which requires individual reworking and assimilation of the material presented in the classroom.

The additional material provided by the teacher (scientific articles and in-depth material) constitute a test bench for the autonomous re-elaboration of the information contained in the course.

**COMMUNICATION SKILL:** The written test includes semi-open questions with a concise answer in which the student will have to demonstrate framing and synthesis skills in the reworking of the knowledge learned. Opportunity to participate in the classroom in the discussion with the teacher.

There are no specific preparations for this course, but for a fruitful understanding of the topics covered, a review of the biochemistry courses previously attended is suggested.

The course divides into a theoretical part carried out through lectures (6 CFU) and a part in the laboratory where experiments will be carried out regarding the topics covered in the theoretical part (3 CFU).

For the laboratory part the students are divided into groups and the experiments are carried out in shifts. The number of students per group, their establishment, and the timetable will be given once the final number of students has been found.

The exam consists of a written test (30 semi-synthetic answer questions). Each answer is assigned a score from 0 to 1 with increments of 0.25 (0.0, 0.25, 0.5, 0.75, 1.0). The score obtained is compared to 28/30. The remaining 2/30 to reach the maximum score of 30/30 derive from the evaluation of the reports concerning the laboratory experiences, which will be evaluated by the professor and to which a total score from 0 to 2 will be attributed which will then be added to the score achieved in the written test. While viewing the assignment, the professor can request clarifications and increase the overall mark by a maximum of 0.5. The total sum is approximated to the unit.

All the details of the evaluation system are explained in the introductory lesson of the course and are however available in written form on the Moodle2 platform. Honors are awarded on the basis of the excellence of the answers given in the written assignment and on the care of the drafting of the reports.

Typical questions and their answers are provided during the course presentation lesson.

The time available for the written assignment is 2 hours.

#### Introduction to Proteomics

Sample extraction methods:

- a) "strong" extraction methods
- b) "mild" extraction methods
- c) solution for the extraction of proteins

Sample prefractionation methods

Sample reconditioning methods

Separative analytical techniques for proteins:

- a) Electrophoresis (native and non-native; EMSA, Blu-native gels, IEF,

SDS-PAGE, A / U gels)

b) Chromatography (RP-HPLC, ion exchange chromatography, chromatophocalization, HIC, permeation gel, affinity chromatography)

Mass spectrometry:

a) ESI and MALDI

b) Analyzers (ion traps, quadrupoles, orbitrap, FTICR, TOF)

Fragmentation methods in mass spectrometers (CID and ETD)

Methods for protein identification:

a) Peptide mass fingerprinting and spot-picking

b) Peptide sequencing and mobile proton theory

Methods for the study of protein / protein interactions