

SSD BIO/10	BIOCHIMICA AMBIENTALE			
Docente	Prof. Francesco Massimo La Sorsa Telefono: 080/5442741 e-mail: fm.lasorsa@ibbe.cnr.it Orario di ricevimento: il mercoledì dalle 11 alle 12 Presso: Dip.to Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica			
Attività	Lezioni frontali	Esercitazioni	Laboratorio	Totale
Crediti	4,5		0,5	5
Ore attività	36		6	42
Ore studio individuale	76,5		6,5	83
Pre-requisiti	<i>Conoscenza della chimica generale ed organica, con cenni di chimica analitica. Padronanza della biochimica di base</i>			
Obiettivi di Base	Conoscenza dei fenomeni alla base delle interazioni biologiche delle sostanze xenobiotiche.			
Obiettivi Formativi Disciplinari	Poiche' quasi tutti i processi biochimici sono profondamente influenzati dalle specie chimiche presenti nell'ambiente e, nello stesso tempo, determinano la natura di queste specie, si studieranno in particolare alcune delle interazioni tra processi metabolici e sostanze xenobiotiche. Si studieranno inoltre alcuni meccanismi biochimici di adattamento e risposta a condizioni ambientali naturali ed estreme.			
Obiettivi Professionalizzanti	Conoscenza dei processi biochimici alla base del metabolismo delle sostanze xenobiotiche ed anche di quelli responsabili per l'adattamento alle diverse condizioni ambientali. Conoscenza di alcuni metodi per determinare la presenza di fenomeni di tossicità, ambientale e non. Conoscenza della strumentazione utile a compiere indagini biochimiche sull'ambiente.			
Contenuto	<p>CICLI BIOGEOCHIMICI E LORO ALTERAZIONE DA ATTIVITÀ ANTROPOGENICHE. Ciclo del carbonio: fotosintesi ossigenica e anossigenica; organismi metanogeni e metanotrofi, e applicazioni biotecnologiche. Ciclo dell'azoto: biochimica dei microorganismi coinvolti nella fissazione biologica, ammonificazione, nitrificazione, denitrificazione e anammox, e applicazioni biotecnologiche.</p> <p>METABOLISMO DELLE SOSTANZE ESOGENE. Definizione di xenobiotici, meccanismi di bioaccumulo, biotrasformazione e detossificazione. Reazioni di fase I, meccanismi di azione di ossidasi a funzione mista contenenti citocromo P450, ossidasi flaviniche, reductasi e deidrogenasi, reazioni di idrolisi e idratazione. Reazioni di fase II, coniugazione con acido glucuronico, glutatione, solfato, aminoacidi; reazioni di metilazione e acetilazione, Meccanismi di detossificazione ed eliminazione di metaboliti.</p> <p>SPECIE REATTIVE DELL'OSSIGENO. Meccanismi di produzione di radicali liberi dell'ossigeno. Stress ossidativo e danni molecolari indotti da agenti chimici e fisici presenti nell'ambiente. Meccanismi cellulari di protezione da stress ossidativo: ruolo degli enzimi catalasi, superossido dismutasi, glutatione perossidasi e reductasi. Gli agenti antiossidanti naturali e sintetici.</p> <p>EFFETTI DI AGENTI CHIMICI E FISICI AMBIENTALI SUI MECCANISMI DI PROLIFERAZIONE E DI MORTE CELLULARE. Proliferazione cellulare: fattori di crescita e regolazione di agenti mitogeni. Apoptosi, necrosi, aneokis, autofagia e perossifagia. Agenti cancerogeni: esempi di meccanismo d'azione, fonti e accumulo a livello ambientale.</p> <p>METALLI PESANTI E INQUINAMENTO AMBIENTALE. Arsenico, cadmio, piombo, amianto, mercurio: fonti di inquinamento, bioaccumulo ed effetti sul metabolismo cellulare. Detossificazione ed eliminazione mediante metallotioneine.</p> <p>ATTIVITÀ DI LABORATORIO. Saggi di proliferazione su cellule animali in presenza di agenti tossici e/o cancerogeni mediante microscopia ottica a fluorescenza.</p>			
Testi consigliati	Nelson, Cox, I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER, Ed. Zanichelli. Devlin T, BIOCHIMICA - ED. EDISES			
Propedeuticità	Obbligatorie: nessuna		Consigliate: nessuna	

Metodi di valutazione	Prova scritta NO	Colloquio orale SI
Collocazione	Anno di Corso: I	Semestre: I

SSD BIO/11	BIOTECNOLOGIE AMBIENTALI (c.i.)			
Docente	<u>Prof. Guglielmina Chimienti</u>			
	Telefono: 080/5443312	e-mail: g.chimienti@biologia.uniba.it		
	Orario di ricevimento: concordato via e-mail	Presso: Dip.to Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica		
Attività	Lezioni frontali	Esercitazioni	Laboratorio	Totale
Crediti	3,5		1,5	5
Ore attività	28		18	46
Ore studio individuale	59,5		19,5	79
Pre-requisiti	Conoscenze di Biologia molecolare con metodologie biomolecolari e tecnologia del DNA ricombinante, acquisite durante la laurea triennale.			
Obiettivi di Base	Studio dei meccanismi molecolari in grado di indurre variazioni del genoma			
Obiettivi Formativi Disciplinari	Analisi delle interazioni tra fattori ambientali e genotipo.			
Obiettivi Professionalizzanti	Conoscenza di tecnologie molecolari per analisi di popolazioni e valutazione della biodiversità, anche grazie ai laboratori previsti			
Contenuto	<p>1) Le mutazioni. Spontanee e indotte da mutageni. Effetti fenotipici delle mutazioni negli organismi pluricellulari. Mutazioni nelle linee somatiche e germinali. Perdita di funzione e acquisizione di funzione. Effetti fenotipici delle mutazioni nei microrganismi. Tasso di mutazione. Mutazioni geniche: missenso, non senso, silenti e neutre, inserzioni e delezioni, espansioni o riduzioni di sequenze ripetute. Cause endogene di mutazioni: tautomerizzazione, idrolisi, deaminazione, metaboliti endogeni mutageni.</p> <p>Mutazioni cromosomiche: numeriche e strutturali. Rotture cromosomiche e cromatidiche. Agenti clastogeni ad effetto immediato o ritardato. Errori nella ricombinazione.</p> <p>Metodiche per la caratterizzazione di mutazioni geniche.</p> <p>a) metodi per determinare la presenza/assenza di una mutazione: analisi SSCP, dell'eteroduplex, DGGE, TGGE, Protein truncation test (PTT).</p> <p>b) metodi per identificare una specifica variazione già nota: analisi RFLP. Sonde oligonucleotidiche allele-specifiche. Analisi di fenotipi mutatori.</p> <p>c) metodiche "ad alta resa": Macro-array e micro-array. Array di EST. Analisi comparative di trascrittomi. Screening differenziale di library di cDNA. Produzione di library di cDNA in vettori di tipi I. Ibridazione sottrattiva. Analisi delle differenze di rappresentatività. Metodiche per la caratterizzazione di mutazioni cromosomiche: ibridazione Southern, PFGE, FISH.</p> <p>Testi di riferimento: Mutagenesi ambientale. Migliore (Ed. Zanichelli). Cap. 1 e 2. Dai geni ai genomi. Dale, von Schantz (Ed. Zanichelli). Cap.14</p> <p>2) Effetti epigenetici degli inquinanti ambientali. Meccanismi epigenetici: metilazione del DNA, modificazioni degli istoni, microRNA. Effetti sull'espressione genica. MiRNA e shRNA. Effetti dei metalli pesanti. Metodiche per l'analisi dello stato di metilazione del DNA:</p>			

a) analisi con isoschizomeri. Methylation specific- multiplex ligation-dependent probe amplification (MS-MLPA).

b) metodiche basate sul trattamento del DNA con bisolfito di sodio. Analisi COBRA, PCR metilazione-specifica. Metodiche “ad alta resa”. Real tyme PCR. Methylight.
 Testo di riferimento: Allison. Fondamenti di Biologia Molecolare. (Ed. Zanichelli). Cap. 12

3) Metabolismo degli xenobiotici. Bioaccumulo e biotrasformazione. I mutageni chimici. Mutageni diretti: analoghi delle basi, agenti che reagiscono col DNA, alchilanti, intercalanti. Mutageni indiretti: ossidativi, antimetaboliti, mutageni mitocondriali. Promutageni. Bioattivazione. Ammine aromatiche, idrocarburi policiclici aromatici, aflatoossine e nitrosammine. Enzimi del metabolismo degli xenobiotici. Monossigenasi citocromo P450 dipendenti (CYP). Regolazione trascrizionale dei geni CYP: recettore degli xenobiotici e l'esempio della diossina. Fattori che influenzano il metabolismo degli xenobiotici. Farmacogenomica e ecogenetica.
 Testo di riferimento: Mutagenesi ambientale. Cap. 4 e 5.
 Ricerca di contaminanti chimici mediante SPME-GC/MS (solid phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry).

4) Il monitoraggio biologico. Biomarcatori di esposizione o dose interna, di effetto biologico o di suscettibilità. Metodi per la valutazione della genotossicità di sostanze esogene. Test di genotossicità con i batteri: Test di Ames. Determinazione degli addotti al DNA e alle proteine. Test di mutagenesi con le cellule animali. Colture cellulari: colture primarie, linee stabilizzate e trasformate. Test HPRT; TK. Metodi per l'analisi delle rotture del DNA: metodi diretti (eluizione alcalina e Comet test); metodi indiretti (UDS).
 Testo di riferimento: Mutagenesi ambientale. Cap. 9, 10, 15.

Elementi di epidemiologia. Epidemiologia descrittiva: mortalità e morbilità. Epidemiologia analitica. Studi retrospettivi e prospettici. Definizione di errore. Analisi multivariata. Risk ratio, Odds ratio e rischio attribuibile. Modelli di interazione tra genotipo e ambiente.

5) Biorisanamento: la degradazione microbica degli xenobiotici. Manipolazioni geniche di microrganismi. Trasferimento di plasmidi. Trasferimento di geni.
 Testo di riferimento: Biotecnologia molecolare. Glick, Pasternak (Ed. Zanichelli) Cap. 13.

6) Applicazioni biotecnologiche del DNA ricombinante: produzione di proteine eterologhe in cellule procariotiche. Vettori di espressione, promotori, proteine di fusione, purificazione delle proteine ricombinanti. Mutagenesi in vitro, casuale e sito specifica. Clonaggio in cellule di mammiferi. Metodi per il trasferimento di geni. Transfezione transiente. Vettori episomali: TOPO vector. Geni reporter. GFP. Transfezione stabile. Vettori retro virali. Terapia genica. Produzione di topi transgenici. Gene pharming. Linker based sperm-mediated gene transfer. Gene targeting.
 Testi di riferimento: Dai geni ai genomi. Dale, von Schantz (Ed. Zanichelli). Cap.11 e 15.
 Fondamenti di biologia molecolare. Allison (Ed. Zanichelli). Cap. 9 e 15.

7) Analisi genomiche: piattaforme di sequenziamento di nuova generazione
 Metagenomica. Progetto DNA barcode
 Biologia molecolare. Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani (Ed. Casa Editrice Ambrosiana). Cap. 21
 Dai geni ai genomi. Cap.12

	Appunti delle lezioni	
Testi consigliati	Biologia molecolare. Amaldi, Benedetti, Pesole, Plevani (Ed. Casa Editrice Ambrosiana). Cap. 21 Dai geni ai genomi. Cap.12 Appunti delle lezioni	
Propedeuticità	Obbligatorie: nessuna	Consigliate: nessuna
Metodi di valutazione	Prova scritta NO	Colloquio orale SI
Collocazione	Anno di Corso: I	Semestre: I