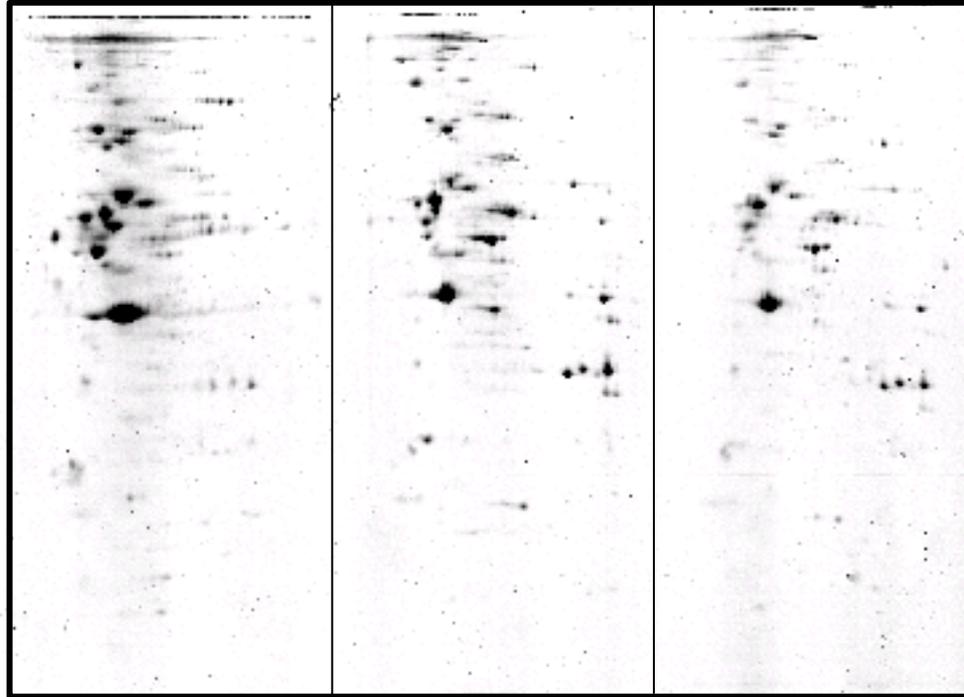


# Proteomica con Laboratorio



Sgarra Riccardo

Dipartimento di Scienze della Vita

Università degli Studi di Trieste

A.A. 2023-2024

# Programma del Corso

- 1) Introduzione alla Proteomica
- 2) Metodi di estrazione delle proteine
- 3) Metodi di prefrazionamento
- 4) Metodi di condizionamento
- 5) Metodi per la determinazione della concentrazione proteica
- 6) Analisi separative di tipo elettroforetico
  - Concetti generali
  - Elettroforesi in condizioni native
  - Elettroforesi in condizioni denaturanti
  - Analisi bidimensionali
- 7) Metodi per la visualizzazione delle proteine in gel
- 8) Analisi elettroforetiche on-line (CE & Chip-elettroforesi)
- 9) Analisi separative di tipo cromatografico
  - Concetti generali
  - Cromatografia a scambio ionico
  - RP-HPLC e ion pair RP-HPLC
  - Cromatografia d'affinità
  - Cromatografia d'esclusione,
  - Cromatofocalizzazione
- 10) Spettrometria di massa
  - Metodi di ionizzazione
  - Analizzatori
  - Tandem mass spectrometry (CID & ETD)
  - Sequenziamento delle proteine
  - Peptide-mass fingerprinting
- 11) Shot-gun proteomics
  - Concetti generali e strumentazione
  - SILAC, ICAT, iTRAQ e metodi label free
- 12) Protein array

## PROTEOMICA CON LABORATORIO

(Sgarra Riccardo – rsgarra@units.it – 040 5588721 – Dip.to Scienze della Vita, Ed. Q, II° Piano, Stanza 210)

**Orari di Lezione:** Come da calendario fornito (6 cfu - frontali + 1 CFU di laboratorio)

**Question Day:** da concordare (corso finito, prima del 1° appello)

**Date di esame:**

Fissate in accordo con i docenti del corso e distribuite 2 o 3 per sessione solitamente distanziate di 1 mese circa.

**Ricevimento:** Tutti i giorni (su appuntamento concordato tramite e-mail )

**Testi consigliati:** nessuno – tutte le informazioni sulle slide presentate a lezione – disponibili in rete - materiale fornito dal docente disponibile sulla piattaforma moodle2

# ORARIO

Su base settimanale (come da calendario)

48 ore lezione frontale (6CFU)

12 ore laboratorio (1CFU)

Laboratorio: date da stabilire - Turni - inizio maggio (laboratorio integrato con gli altri due corsi)

Gruppi da stabilire sulla base del numero, su particolari esigenze degli studenti ed in dipendenza della normativa vigente in merito alle disposizioni sul Covid19.

Indicativamente equi-distribuiti

i.e. 40 studenti => 2 gruppi da 20 persone

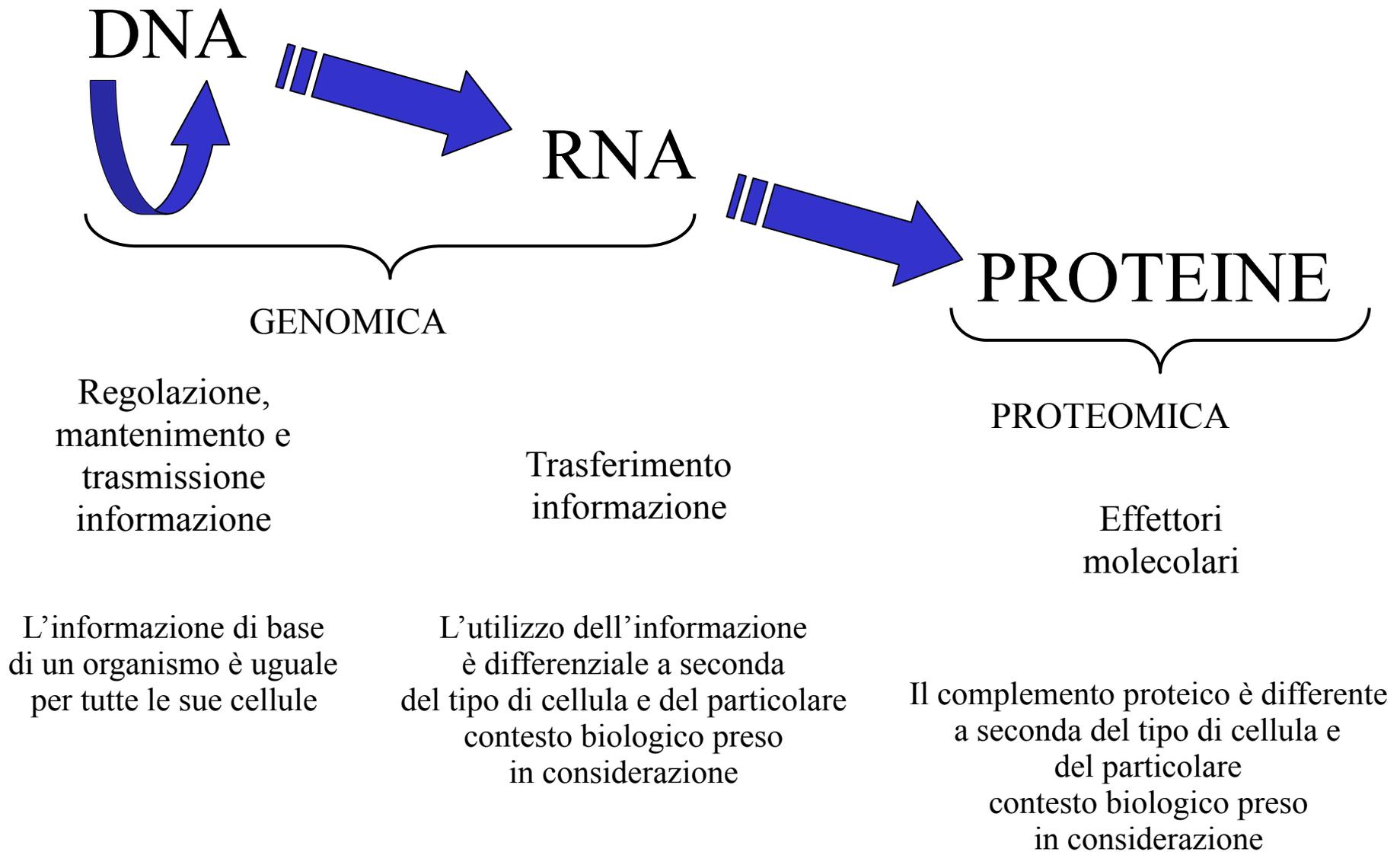
## Esame:

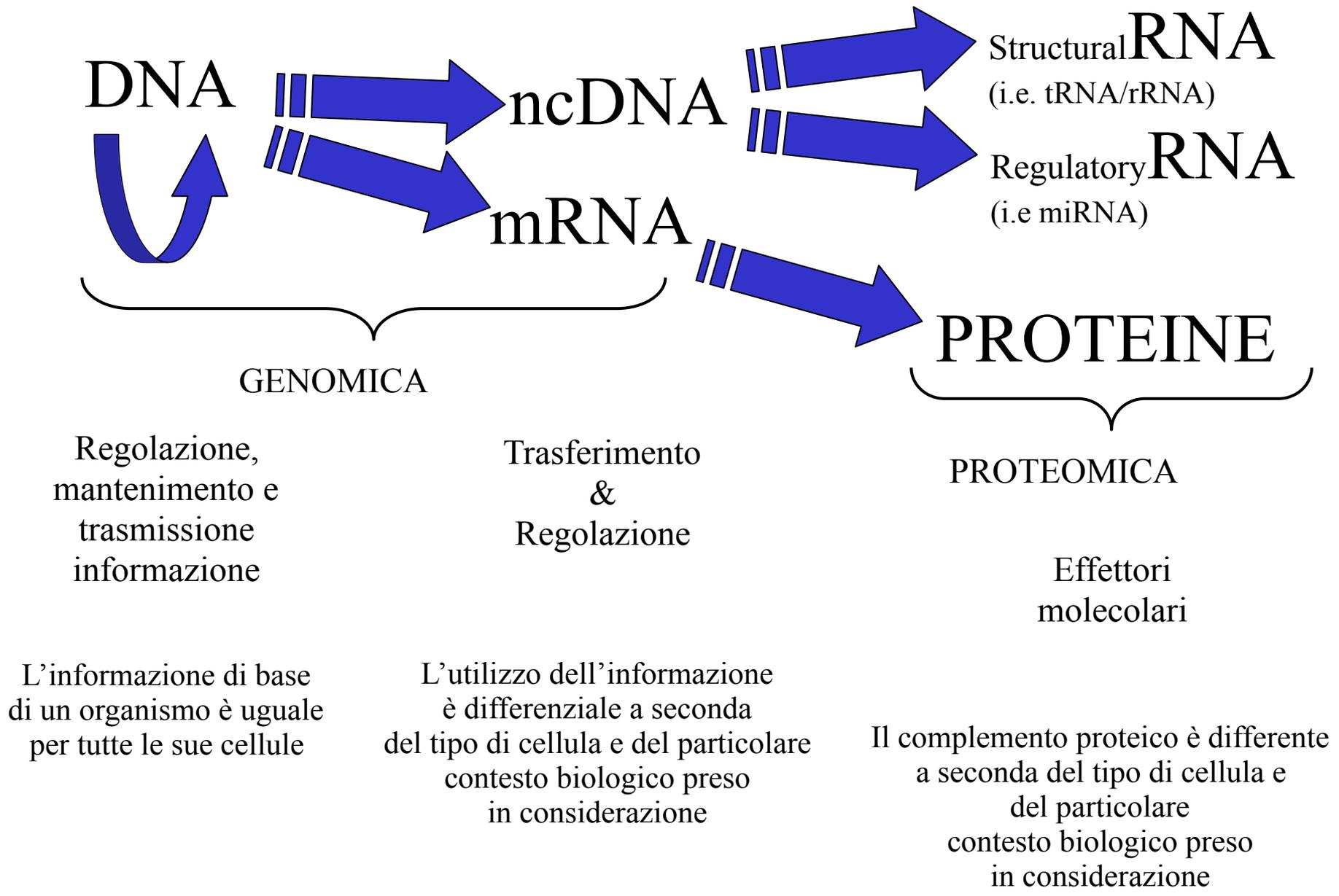
- a) Compito Scritto (2 ore - circa 4 minuti a domanda) - **orale in caso di problemi relativi a Covid-19**;
- b) 30 domande con risposta puntuale o “semi aperta”;
- c) Possibilità di sostituire 1 domanda con una domanda a scelta (Formulazione di una domanda e relativa risposta);
- d) Punteggio: Ciascuna domanda può essere valutata 1, 0.75, 0.5, 0.25 o 0;
- e) Voto finale: Sommatoria dei punteggi relativi alle 30 domande. Questo voto è rapportato a 29.
- f) 1 punto deriva dalle esercitazioni (presenza, consegna e valutazione delle relazioni). Se uno studente non frequenta una o più esercitazioni deve sostenere un esame scritto relativo alla parte pratica non seguita.
- g) Possibile arrotondamento o aumento massimo di 0,5 punti attribuiti dal docente durante la correzione del compito ed eventualmente in dipendenza della qualità generale delle risposte fornite e/o relativamente ai chiarimenti richiesti durante la visione del compito (su richiesta dello studente/opzionale).  
Arrotondamento per eccesso: i.e. da  $x.0$  a  $x.4 \Rightarrow x.0$ ; da  $x.5$  a  $x.9 \Rightarrow x+1$
- f) Lode a discrezione del docente sulla base della qualità generale delle risposte e delle relazioni consegnate

Esempio:

1) Operare con un metodo per l'estrazione delle proteine che preveda molti passaggi e che richieda molto tempo cosa potrebbe comportare? (si consideri naturalmente conseguenze a livello del campione proteico estratto)

.....  
.....  
.....  
2) I campioni proteici sottoposti ad analisi di tipo proteomico sono solitamente estremamente complessi (in termini di numero di componenti). Per analizzare questi campioni è dunque necessario adottare delle metodiche ..... caratterizzate da un'elevata .....





DNA

ncDNA

mRNA

Structural RNA

(i.e. tRNA/rRNA)

Regulatory RNA

(i.e. miRNA)

PROTEINE

GENOMICA

PROTEOMICA

Regolazione,  
mantenimento e  
trasmissione  
informazione

Trasferimento  
&  
Regolazione

Effettori  
molecolari

L'informazione di base  
di un organismo è uguale  
per tutte le sue cellule

L'utilizzo dell'informazione  
è differenziale a seconda  
del tipo di cellula e del particolare  
contesto biologico preso  
in considerazione

Il complemento proteico è differente  
a seconda del tipo di cellula e  
del particolare  
contesto biologico preso  
in considerazione

# Approcci globali nello studio della biologia cellulare

FINGERPRINT – IMPRONTA molecolare

## Genomica/trascrittomica

Studia il genoma e come l'informazione in esso contenuta è utilizzata

- i.e. **profilo di espressione genica** -

ovvero quali geni sono attivi in un determinato momento

STIMOLO

=>

Risposta cellulare in termini di geni attivati/disattivati

---

## Proteomica

Studia il complemento proteico di una determinata cellula

- **profilo di espressione proteica** -

ovvero quali proteine sono presenti in un determinato momento

STIMOLO

=>

Risposta cellulare in termini di variazioni del complemento proteico

# Approcci globali nello studio della biologia cellulare

FINGERPRINT – IMPRONTA DIGITALE

## Genomica e trascrittomica

Studia il genoma e come l'informazione in esso contenuta è utilizzata

- i.e. **profilo di trascrizione** -

ovvero quali geni/ncDNA sono trascritti in un determinato momento

STIMOLO

=>

Risposta cellulare in termini di geni/ncDNA/miRNA, etc.

attivati/disattivati

---

## Proteomica

Studia il complemento proteico di una determinata cellula

- **profilo di espressione proteica** -

ovvero quali proteine sono presenti in un determinato momento

STIMOLO

=>

Risposta cellulare in termini di variazioni del complemento proteico

# Genomica

equivale a

# Proteomica ?

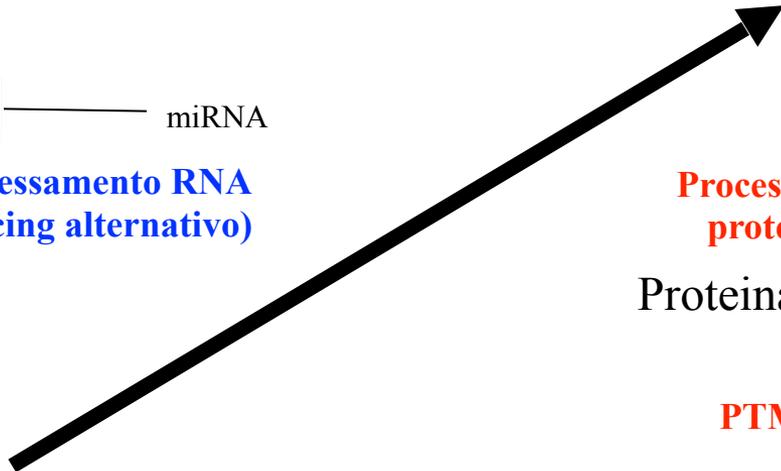
DNA (x)



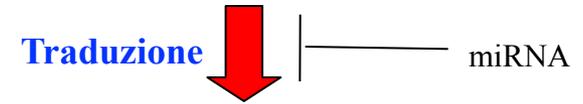
mRNA (x) |—— miRNA



mRNA (x<sub>1</sub>)  
mRNA (x<sub>2</sub>)  
mRNA (x<sub>3</sub>)  
mRNA (x<sub>4</sub>)



mRNA (x<sub>3</sub>)



Pro-Proteina (x<sub>3</sub>)



Proteina (x<sub>3.1</sub>) Proteina (x<sub>3.2</sub>) ....



Proteina (x<sub>3.1A</sub>) Proteina (x<sub>3.1B</sub>) ....



Proteina (x<sub>3.1A-α</sub>) Proteina (x<sub>3.1A-β</sub>) ....



Proteina (x<sub>3.1A-α1</sub>) Proteina (x<sub>3.1A-α2</sub>) ....