



UNIVERSITÀ DI PAVIA

Anno Accademico 2020/2021

LABORATORIO INTEGRATO DI BIOTECNOLOGIE FARMACEUTICHE

Anno immatricolazione	2018/2019
Anno offerta	2020/2021
Normativa	DM270
SSD	BIO/13 (BIOLOGIA APPLICATA)
Dipartimento	DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA E BIOTECNOLOGIE "LAZZARO SPALLANZANI"
Corso di studio	BIOTECNOLOGIE
Curriculum	Chem- Pharma-Tech
Anno di corso	3°
Periodo didattico	Annualità Singola (05/10/2020 - 14/06/2021)
Crediti	12
Ore	144 ore di attività frontale
Lingua insegnamento	ITALIANO
Tipo esame	ORALE
Docente	UBIALI DANIELA (titolare) - 3 CFU BALESTRA BARBARA - 3 CFU CHIESA ENRICA - 0 CFU DELL'ACQUA SIMONE - 3 CFU DORATI ROSSELLA - 2 CFU PERTEGHELLA SARA - 1 CFU ROBESCU MARINA SIMONA - 0 CFU
Prerequisiti	Conoscenze di base di chimica acquisite nei corsi di Chimica Generale e Inorganica e Laboratorio, Chimica Organica e Laboratorio e Biochimica al primo e al secondo anno delle lauree triennali in Chimica, Biotecnologie e Scienze Biologiche.
Obiettivi formativi	Il corso, attraverso un approccio multidisciplinare integrato, ha l'obiettivo di fornire allo studente conoscenze teoriche e pratiche relative: -all'utilizzo di enzimi come biocatalizzatori per l'ottenimento di principi attivi farmaceutici (API, Active Pharmaceutical Ingredients) e/o

intermedi;

- alla veicolazione di API mediante micro- e nanocarrier;
- alla comprensione di reattività e struttura di metalloproteine e metalloenzimi di interesse biologico;
- alla valutazione dell'effetto di un farmaco e all'analisi delle varianti genetiche che influenzano l'effetto del farmaco.

Inoltre, il corso ha l'obiettivo di:

- formare lo studente sulle principali norme di sicurezza dei laboratori chimico-biologici;
- fornire allo studente il metodo per registrare i dati sperimentali, assisterlo nell'interpretazione critica dei risultati e guidarlo nella fase finale di data reporting;
- formare lo studente nella gestione del lavoro di ricerca individuale e in team.

A conclusione del corso, lo studente sarà in grado di comprendere e applicare, in modo critico, protocolli sperimentali per:

- eseguire in autonomia una semplice reazione enzimatica (dall'allestimento della biotrasformazione all'isolamento del prodotto finale) ed effettuare l'immobilizzazione di un enzima su un supporto solido;
- preparare micro- e nanocarrier biodegradabili di natura polimerica e lipidica a rilascio prolungato e caratterizzarli dal punto di vista chimico-fisico;
- effettuare saggi enzimatici e studi di cinetica enzimatica, in particolare per lo studio di reazioni di trasferimento elettronico nei sistemi biologici, utilizzando tecniche spettroscopiche UV-visibile, NMR (Nuclear Magnetic Resonance) e CD (Circular Dichroism);
- valutare l'effetto di un farmaco mediante la costruzione di una curva dose/risposta, eseguire un dosaggio proteico, una PCR (Polymerase Chain Reaction), un'analisi dei siti di restrizione e un'analisi elettroforetica.

In ultima analisi, lo studente sarà in grado di affrontare le fasi di generazione, acquisizione, elaborazione statistica e grafica dei dati sperimentali, di interpretazione dei risultati sulla base della letteratura scientifica di riferimento e di comunicazione (data reporting).

Programma e contenuti

Le esercitazioni pratiche di laboratorio sono finalizzate a far sperimentare direttamente allo studente:

- l'intero processo di una sintesi biocatalizzata: determinazione dell'attività specifica dell'enzima in esame; immobilizzazione dell'enzima su supporto solido e monitoraggio della reazione di immobilizzazione mediante saggio di attività e saggio proteico (Bradford assay); determinazione dell'attività del biocatalizzatore immobilizzato, calcolo della resa di immobilizzazione (proteina e attività immobilizzate), calcolo dell'activity recovery; allestimento della reazione enzimatica, monitoraggio della bioconversione (TLC, Thin Layer Chromatography), isolamento del prodotto (work-up) e purificazione mediante flash chromatography; calcolo della resa finale di reazione. Le esercitazioni prevedono l'impiego anche di altre tecniche separative oltre alla cromatografia (estrazione con solvente, filtrazione, distillazione a

pressione ridotta);

-la preparazione di sistemi micro e nanoparticellari per la veicolazione di molecole bioattive: sistemi microparticellari a base di alginato di calcio; sistemi nanoparticellari a base di polimeri sintetici mediante le tecniche di nanoprecipitazione e doppia emulsione; sistemi liposomiali. I sistemi allestiti saranno caratterizzati in termini di efficienza di incapsulazione, distribuzione dimensionale e carica superficiale.

-lo studio cinetico di reazioni di ossidazione catalizzate da perossidasi e lo studio dell'inibizione enzimatica; l'uso di tecniche NMR per caratterizzare substrati e prodotti; l'uso di algoritmi di calcolo per la simulazione di complessi di trasferimento elettronico proteina-enzima (docking); la titolazione acido-base e la spettroscopia CD di proteine di trasferimento elettronico;

-come costruire una curva dose/risposta (senza l'impiego dell'animale per questioni etiche) per lo studio dell'interazione farmaco-recettore (agonisti ed antagonisti) e come interpretare criticamente i dati sperimentali ottenuti (rappresentazione grafica e analisi statistica); come dosare le proteine totali di un campione mediante saggio colorimetrico (metodo di Lowry); le tecniche di biologia molecolare applicate alla farmacologia (farmacogenetica): analisi di una comune variante genetica che non comporta alcun fenotipo patologico utilizzando il DNA contenuto nella saliva, amplificazione di una porzione del gene in analisi mediante PCR, individuazione del polimorfismo mediante digestione con enzima di restrizione dei frammenti di DNA amplificati (analisi RFLP, Restriction Fragment Length Polymorphism) e visualizzazione dei risultati mediante elettroforesi su gel di agarosio.

Metodi didattici

Il corso è costituito da esercitazioni di Biocatalisi, Tecnologia Farmaceutica, Chimica Bioinorganica, Farmacologia Molecolare e Cellulare, strettamente interconnesse. Le esercitazioni sono precedute da brevi spiegazioni per introdurre lo studente all'attività sperimentale programmata.

Lo studente è tenuto a registrare le attività sperimentali effettuate durante le esercitazioni del Laboratorio Integrato di Biotecnologie Farmaceutiche su un unico quaderno di laboratorio individuale, comune ai 4 moduli, secondo il protocollo fornito dai docenti. I dati acquisiti nei 4 moduli del Laboratorio Integrato di Biotecnologie Farmaceutiche saranno utilizzati dallo studente per la redazione della relazione finale, previa elaborazione con la supervisione dei docenti.

La frequenza del laboratorio, verificata mediante appello nominale, è obbligatoria.

Testi di riferimento

Appunti e materiale fornito dai docenti (disponibile su Kiro).

K. Faber. "Biotransformations in Organic Chemistry – A textbook" Springer Ed.

P. Colombo et al. "Principi di Tecnologie Farmaceutiche". Casa Editrice Ambrosiana, Milano.

A.T. Florence et al. "Physical Pharmacy". Pharmaceutical Press, London.

M.E. Aulton "Pharmaceutics: the Science of Dosage Form Design". Churchill Livingstone, New York.

	Rang & Dale "Farmacologia". 8° edizione, Edra Masson.
Modalità verifica apprendimento	L'insegnamento si intende superato in seguito a valutazione positiva del quaderno di laboratorio e della relazione finale sull'attività svolta nei 4 moduli dell'insegnamento. La relazione finale, individuale o di gruppo in base alla numerosità degli studenti, dovrà essere redatta utilizzando un modello unico, concordato tra i docenti, che sarà fornito allo studente all'inizio delle esercitazioni. In caso di giudizio negativo in uno o più moduli, l'insegnamento si intende non superato, e lo studente è tenuto a recuperare il debito formativo secondo le indicazioni del/i docente/i.
Altre informazioni	Nessuna.
Obiettivi Agenda 2030 per lo sviluppo sostenibile	\$lbl_legenda_sviluppo_sostenibile