

<b>SSD BIO/10</b>	<b>BIOCHIMICA AMBIENTALE</b>			
<b>Docente</b>	<b><u>Prof. Carlo Marya Marobbio</u></b>			
	Telefono: 080/5442791 Orario di ricevimento:		e-mail: <a href="mailto:carlomarya.marobbio@uniba.it">carlomarya.marobbio@uniba.it</a> Presso: Dip.to Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica	
<b>Attività</b>	<b>Lezioni frontali</b>	<b>Esercitazioni</b>	<b>Laboratorio</b>	Totale
<b>Crediti</b>	<b>4,5</b>		<b>0,5</b>	<b>5</b>
<b>Ore attività</b>	<b>36</b>		<b>6</b>	<b>42</b>
<b>Ore studio individuale</b>	<b>76,5</b>		<b>6,5</b>	<b>83</b>
<b>Pre-requisiti</b>	Conoscenza della chimica generale ed organica, con cenni di chimica analitica. Padronanza della biochimica di base			
<b>Obiettivi di Base</b>	Studio dei processi utilizzati nel biorisanamento. Studio delle vie metaboliche importanti per la degradazione di inquinanti. Effetto degli inquinanti sul metabolismo cellulare.			
<b>Obiettivi Formativi Disciplinari</b>	Interazione fra processi biochimici e specie chimiche inquinanti presenti nell'ambiente: formazione e degradazione nei vari comparti ambientali.			
<b>Obiettivi Professionalizzanti</b>	Conoscenza delle procedure e dei metodi da utilizzare per realizzare una bonifica di tipo biologico			
<b>Contenuto</b>	<p>Parte I° Il controllo ambientale e gli inquinanti: cenni sulle normative nazionali, europee ed internazionali sul controllo ambientale. Monitoraggio ed analisi degli inquinanti: metodi di campionamento, conservazione ed analisi dei campioni (D.M. n.471). Uso dei biosensori per il monitoraggio degli inquinanti: test con <i>Vibrio fischeri</i> (MICROTOX®), <i>Daphnia magna</i> e <i>Hyalella azteca</i>. Pianificazione della bonifica: piano di caratterizzazione, piano preliminare di bonifica, piano di bonifica. Analisi del rischio: procedura del <i>Risk-Based Corrective Action</i> (RBCA), modello "tabellare" (Decreto Ronchi).</p> <p>Parte II° Controllo ambientale ed eliminazione degli inquinanti: rimediatazione e biorimediatazione. Principali sistemi chimico-fisici (<i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>) di recupero di ambienti inquinati: <i>Soil Washing</i>, Estrazione con solventi, <i>Soil Vapor Extraction</i>, <i>Air Sparging</i>, <i>Dual Phase Extraction</i>, Desorbimento termico. Metodi biologici di rimediatazione (<i>in situ</i> ed <i>ex situ</i>) di ambienti inquinati: <i>bioattenuation</i>, <i>biostimulation</i>, <i>bioaugmentation</i>, <i>bio-remediation</i> e <i>phytoremediation</i>, <i>landfarming</i>, compostaggio, bioreattori, <i>bioventing</i>, <i>biofilters</i>, etc. Esempi di biorimediatazione: ex-cokeria Italiana Coke (Avenza) ed ex-raffineria Stanic (Bari).</p> <p>Parte III° Biorimediatazione dei metalli. <i>Biosorption</i> ed applicazioni: uso di ceppi mutanti di <i>S. cerevisiae</i> per la riduzione della tossicità dell'alluminio. <i>Bioleaching</i> ed applicazioni: trattamento biologico dei fanghi di depurazione dei reflui civili ad uso agricolo. <i>Bio-mineralization</i> ed applicazioni: biorimediatazione dei suoli contaminati da uranio impoverito. <i>Bioaccumulation</i> ad applicazioni: ceppi "kamikaze" di <i>S. cerevisiae</i> per la rimozione di metalli pesanti.</p> <p>Parte IV° Degradazione ambientale degli xenobiotici: <i>pathway</i> enzimatici nella degradazione degli xenobiotici. Trasformazione enzimatica dei composti aromatici non alogenati in catecolo e acido protocatechico (<i>upper pathway</i>). Degradazione del catecolo e acido protocatechico (<i>lower pathway</i>). Esempi: metabolismo degradativo per il toluene e lo xilene in <i>Pseudomonas putida</i>. Tecniche di ingegneria proteica per aumentare la stabilità degli enzimi coinvolti nella degradazione di xenobiotici. Monoossigenasi batteriche multicomponente. Studio di attività monoossigenasiche e loro potenziali applicazioni. Degradazione microbica dei cloro aromatici (erbicidi, pesticidi e diossine).</p> <p>Parte V° Composti inquinanti e danni cellulari. 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</p>			

	eliminazione di metaboliti. 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 reduttasi. Gli agenti antiossidanti naturali e sintetici. 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.	
<b>Testi consigliati</b>	"Mutagenesi ambientale" - Migliore L. - Ed. Zanichelli, 2004. "Biotecnologia molecolare" - B.R. Glick & J. Pasternak - Ed. Zanichelli Articoli scientifici. Appunti delle lezioni.	
<b>Propedeuticità</b>	<b>Obbligatorie:</b> nessuna	<b>Consigliate:</b> nessuna
<b>Metodi di valutazione</b>	<b>Prova scritta</b> NO	<b>Colloquio orale</b> SI
<b>Collocazione</b>	<b>Anno di Corso:</b> I	<b>Semestre:</b> II

<b>SSD BIO/11</b>	<b>BIOTECNOLOGIE AMBIENTALI (c.i.)</b>			
<b>Docente</b>	<b><u>Prof. Guglielmina Chimienti</u></b> Telefono: 080/5443312 e-mail: <a href="mailto:g.chimienti@biologia.uniba.it">g.chimienti@biologia.uniba.it</a> Orario di ricevimento: concordato via e-mail Presso: Dip.to Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica			
<b>Attività</b>	<b>Lezioni frontali</b>	<b>Esercitazioni</b>	<b>Laboratorio</b>	<b>Totale</b>
<b>Crediti</b>	<b>3,5</b>		<b>1,5</b>	<b>5</b>
<b>Ore attività</b>	<b>28</b>		<b>18</b>	<b>46</b>
<b>Ore studio individuale</b>	<b>59,5</b>		<b>19,5</b>	<b>79</b>
<b>Pre-requisiti</b>	Conoscenze di Biologia molecolare con metodologie biomolecolari e tecnologia del DNA ricombinante, acquisite durante la laurea triennale.			
<b>Obiettivi di Base</b>	Studio dei meccanismi molecolari in grado di indurre variazioni del genoma			
<b>Obiettivi Formativi Disciplinari</b>	Analisi delle interazioni tra fattori ambientali e genotipo.			
<b>Obiettivi Professionalizzanti</b>	Conoscenza di tecnologie molecolari per analisi di popolazioni e valutazione della biodiversità, anche grazie ai laboratori previsti			
<b>Contenuto</b>	<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</p>			

di rappresentatività. Metodiche per la caratterizzazione di mutazioni cromosomiche: ibridazione Southern, PFGE, FISH.

Testi di riferimento: Mutagenesi ambientale. Migliore (Ed. Zanichelli). Cap. 1 e 2. Dai geni ai genomi. Dale, von Schantz (Ed. Zanichelli). Cap. 14

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:

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 time 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, aflatossine 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. Trasfezione transiente. Vettori episomali: TOPO vector. Geni reporter. GFP. Trasfezione stabile. Vettori retro virali. Terapia genica. Produzione di topi transgenici. Gene pharming. Linker based sperm-mediated gene transfer. Gene targeting.

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