Modulo Proteomica, Insegnamento di Scienze Omiche, Esame scritto del 17-2-2021.

Risultati.

Per: non accettare il voto, fare l’esame orale, consultare il compito, scrivere entro il 26 febbraio 2021 a: alessandramaria.bossi@univr.it.

A partire da lunedi 1 marzo 2021 I voti saranno registrati

|  |  |
| --- | --- |
| VR457480 | 29 |
| VR461514 | 26,5 |
| VR460992 | 30 |
| VR459608 | 30 e lode |
| VR464683 | 30 e lode |
| VR461245 | 27 |
| VR458634 | 28 |
| VR457660 | 26 |
| VR456514 | 28 |
| VR457816 | 30 |
| VR458528 | 30 e lode |
| VR457964 | 30 e lode |
| VR457640 | 28,5 |
| VR463602 | 27 |
| VR457672 | 27 |
| VR456885 | 28 |

Salvato: La proteomica gel free permette di superare le criticità della proteomica gel based, è ottimale, cioè, anche per le proteine a bassa o ad elevata densità ??, per le proteine molto piccole o ad alto peso molecolare, inoltre, le proteine idrosolubili non precipitano e non esiste il problema di creare un gradiente di pH. La proteomica gel based può essere mono,bi o multi-dimensionale e si può seguire uno schema buttom up o top down. Gli steps della proteomica gel free sono essenzialmente due: - la separazione delle proteine o dei peptidi grazie al metodo della cromatografia, le proteine vengono ripartite tra una fase mobile e una stazionaria: - la detection di queste. Esistono diverse tipologie di cromatografia, ovvero la resina usata può catturare le proteine per diverse caratteristiche. Si può separare per dimensione con la tecnica dell esclusione molecolare dove la resina avrà pori di determinata grandezza, separazione in funzione della carica ionica con la tecnica dello scambio ionico, oppure, in funzione della solubilià con la fase inversa. La fase inversa è quella maggiormente usata, alla resina sono attaccate catene C4 o C8 C18, importante è aggiungere al solvente gli pair  reagent elements, ovvero acidi o basi, come lacido trifluoroacetico che permette alle proteine di caricarsi dello stesso segno, per cui non ci possa essere aggregazione. Se si vuole ampliare la detection dei picchi è possibile unire più tecniche, è importante, però, che ci sia ortogonalità, ovvero le due tecniche devono separare per caratteristiche diverse. Lunione delle due colonne può essere on line, ovvero cè collegamento tra le due e si può fare se i due solventi sono compatibili e comunque è richiesta una maggiore complessità di costruzione, infatti oggi sono presenti sistemi con il track in colon per monitorare e viene molto usato il sistema a sei porte e sei vie. Questo sistema permette meno perdite, più throughput. Al contrario le due colonne possono essere discontinue con sistema off line, sistema più sempliche ma che comporta perdite. Per aumentare ulteriormente la sensibilità si possono usare micro colonne e il sistema UPLC. Ad oggi, considerando tutti i parametri la tecnica migliore è LCXLC. La detection può avvenire per fluorescenza, UV, NMR, ma la più usata e sensibile e la spettrometria di massa (MS), questa divide e capta le molecole per il loro rapporto m/z. Prima della detection è necessaria la ionizzazione delle molecole e può essere effetuata tramite ESI o MALDI, la prima è da preferire poichè la seconda è più variabile a seconda della composizione amminoacidica e sono necessari degli standard interni. La MS poi, può essere condotta con tecnica di fingerprinting, ovvero con una sola separazione della proteina si ha la mappa peptidica caratteristica di questa, con cui interrogare il database oppure con tecnica MS/MS, ovvero dopo la prima separazione, ne segue una seconda dei peptidi stessi, ottenendo una più specifica frammentazione.

Un po superficiale