



**Università del
Sannio-Benevento
Dipartimento di Scienze e Tecnologie
Corso di Laurea in Biotecnologie
Programma del Corso di Biotecnologie Industriali-Modulo Processi
Anno Accademico 2017-2018
Docente Prof. Angelo Lupo**

Le Biotecnologie Industriali. Cenni storici e generalità. Applicazioni in campo medico, zootecnia, alimentare, agricoltura, chimico. Principali microrganismi di interesse biotecnologico: *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Saccaromyces cerevisiae*, Funghi filamentosi.

Caratteristiche generali di *Escherichia coli*. Elementi genici del genoma di *E. coli* e processi genetici. Ricombinazione. Restrizione e Modificazione. Trasferimento genico. Clonazione. Produzione di beni e servizi mediante l'uso di *E. coli*.

Caratteristiche generali di *Streptomyces*. Il genoma degli streptomiceti. Differenziamento e regolazione della biosintesi degli antibiotici. Applicazioni biotecnologiche (produzione di antibiotici e proteine).

Caratteristiche generali di *Bacillus*. Genetica e Genomica. Differenziamento e sporificazione. Applicazioni biotecnologiche (produzione di enzimi, antibiotici, proteine)

Caratteristiche generali di *Saccaromyces cerevisiae*. Genetica e genomica di *S. cerevisiae*. *Pichia pastoris*. Applicazioni biotecnologiche (birra, vino, proteine).

Caratteristiche generali dei Funghi filamentosi. Riproduzione dei funghi. Genetica e genomica. Applicazioni biotecnologiche (Acidi organici, vitamine, enzimi, antibiotici, antifungini, fitormoni,). Il cladosporolo quale esempio di metabolita secondario prodotto dal fungo *Cladosporium tenuissimum* iperparassita dei funghi della ruggine.

Proteine ricombinanti. Concetto di dominio strutturale e funzionale. Principali motivi strutturali delle Proteine (il motivo elica-ansa-elica; il motivo a forcina β ; il motivo a chiave greca; il motivo β - α - β ; il motivo "jelly roll"; strutture proteiche a domini α - β e α - β . Esempi di domini specifici ritrovati nelle proteine fibrose e nelle proteine globulari. Cambiamenti conformazionali e cambiamenti funzionali.

Regole e Predizione della Struttura spaziale e tridimensionale di una proteina. La Bioinformatica nello Studio strutturale e funzionale di una Proteina. Isolamento e purificazione di una proteina : il fattore di trascrizione ZNF224. I domini strutturali e funzionali delle proteine che legano il DNA, Studi di espressione di una proteina in sistemi cellulari procariotici. Proteine di fusione in *E. coli*; Proteine mutate per delezione e con mutazioni sito dirette mediante PCR ; Anticorpi e Western Blotting. Saggio di Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA). Studi di espressione di una proteina in sistemi cellulari eucariotici.

Proteine prodotte in *Lievito*, *Baculovirus*. Cellule di Mammiferi.

Espressione costitutiva ed inducibile. Studio di pathways proteici funzionali attraverso approcci *in vitro* (Immunoprecipitazione, GST-pull down) e *in vivo* (Two hybrid system).

Vaccini convenzionali. Vaccini ricombinanti. Vaccini a DNA. Reverse vaccinology.

Testi consigliati

Glick-Pasternak - Biotecnologia Molecolare, Zanichelli ed.

Branden-Tooze - Struttura e Funzione delle Proteine, Zanichelli ed.

Carey – Transcriptional Regulation in Eukariotes, CSH, ed.

Donadio-Marino - Biotecnologie microbiche Casa Editrice Ambrosiana.



University of Sannio
Department of Sciences and Technologies
Degree in Biotechnology
Program of the Industrial Biotechnology course -Modulo Processi
Academic year 2017-2018
Associate Professor Angelo Lupo

Industrial Biotechnologies. Historical and general information. Applications in human and veterinary medicine, food, agriculture, chemical industry. Microorganisms of biotechnological interest: *Escherichia coli*, *Bacillus*, *Streptomyces*, *Saccaromyces cerevisiae*, *Filamentous fungi*.

General features of *Escherichia coli*. *E. coli* genome elements and genetic processes.

Recombination. Restriction and Modification systems. Gene transfer. Cloning. Production of goods and facilities through the use of *E. coli*.

General characteristics of *Streptomyces*. The genome of streptomycetes. Differentiation of *Streptomyces* and regulation of antibiotic biosynthesis. Biotechnological applications (production of antibiotics and proteins).

General features of *Bacillus*. Genetics and Genomics. Differentiation and sporification.

Biotechnological applications (production of enzymes, antibiotics, proteins)

General features of *Saccaromyces cerevisiae*. Genetics and genomics of *S. cerevisiae*. *Pichia pastoris*. Biotechnological applications (beer, wine, protein).

General characteristics of filamentous fungi. Reproduction of fungi. Genetics and genomics.

Biotechnological applications (Organic acids, vitamins, enzymes, antibiotics, antifungals, phytohormones).

Cladosporol as an example of secondary metabolism produced by the hyperparasitic *Cladosporium tenuissimum* of rust fungi.

Recombinant proteins. Structural and functional of protein domain. The structural motifs of the proteins (the helix-helical motif, the β module, the Greek-style motif, the module $\beta\alpha\beta$, the "jelly roll" motif, and the α , α and α domain proteins. Examples of specific domains found in fibrous proteins and globular proteins. Conformational changes and functional changes.

Rules and prediction of the three-dimensional structure of a protein. Bioinformatics in the structural and functional study of proteins. Isolation and purification of a protein: the transcription factor ZNF224. The structural and functional domains of DNA-binding proteins, Protein expression studies in prokaryotic cellular systems. *E. coli* fusion proteins. Mutated proteins by deletion and by directed site mutagenesis. Antibodies and Western Blotting. Electrophoretic Mobility Shift Assay (EMSA). Expression study of a protein in eukaryotic cell systems. Proteins produced in *Yeast*, Baculovirus and mammalian cells. Constitutive and inducible protein expression. Study of functional protein pathways through in vitro approaches (Immunoprecipitation, GST-pull down) and in vivo (Two hybrid system).

Conventional vaccines. Recombinant vaccines. DNA vaccines. Reverse vaccinology

Suggested Texts :

Glick-Pasternak - Biotecnologia Molecolare, Zanichelli ed.

Branden-Tooze - Struttura e Funzione delle Proteine, Zanichelli ed.

Carey – Transcriptional Regulation in Eukariotes, CSH, ed.

Donadio-Marino - Biotecnologie microbiche Casa Editrice Ambrosiana.