

Informazioni Corso

Scuola di Farmacia e Nutraceutica
Corso di Laurea Magistrale in Farmacia

Biochimica Generale ed Applicata

SSD: BIO/10

CFU: 9

Anno II, semestre II

a.a. 2019-2020

Informazioni Docente

Prof.ssa Heather Mandy Bond, Ricercatore del Settore Scientifico Disciplinare BIO/10, Biochimica, presso il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi "Magna Græcia" di Catanzaro.

email bond@unicz.it, TEL. 0961/3694081

RICEVIMENTO: 9-12 martedì e giovedì, Campus Germaneto, Biosciences, Livello VII, previo appuntamento via e-mail.

Descrizione del Corso

Il corso ha lo scopo di fornire gli elementi utili per la conoscenza delle biomolecole e del loro coinvolgimento nel metabolismo cellulare e di spiegare le tecniche biochimiche che possono essere usate per la caratterizzazione e analisi delle diverse macromolecole.

Obiettivi del Corso e Risultati di apprendimento attesi

Obiettivo del corso è di far acquisire agli studenti una visione integrata dei sistemi biochimici che compongono il metabolismo cellulare. Lo studente dovrà conoscere la struttura degli intermedi e le reazioni delle diverse vie metaboliche e saper correlare il loro coinvolgimento nel metabolismo energetico; dovrà inoltre conoscere le più importanti metodologie biochimiche, con particolare attenzione ai loro principi teorici ed alle loro applicazioni.

Programma

AMMINOACIDI E PROTEINE

Gli amminoacidi delle proteine: nomenclatura, struttura e classificazione. Amminoacidi rari, amminoacidi non proteici, amminoacidi essenziali. Proprietà chimico-fisiche degli amminoacidi: solubilità, proprietà acido-basiche, proprietà ottiche. Classificazione delle proteine in base alla composizione, alla solubilità e alla funzione. Il legame peptidico. Peptidi naturali. La struttura secondaria delle proteine: proprietà dell'alfa-elica, la struttura a pieghe (beta cheratine), l'elica del collagene. Struttura terziaria delle proteine. Struttura quaternaria delle proteine oligomeriche. Rapporti tra struttura e funzione delle proteine. Proprietà chimico-fisiche delle proteine; peso molecolare, punto isoelettrico, solubilità. Denaturazione e rinaturazione delle proteine.

Struttura dell'eme, della mioglobina ed emoglobina. Curva di saturazione dell'emoglobina con l'ossigeno. Meccanismo di regolazione dell'emoglobina: ruolo del difosfoglicerato e del pH. Variazioni conformazionali dell'emoglobina ossigenata e deossigenata. Emoglobine patologiche. Struttura, funzione e cambiamenti mutazionali della sequenza degli amminoacidi.



Heather Mandy Bond

ENZIMI

Nomenclatura e classificazione. Proprietà generali: capacità catalitica, specificità nei confronti del substrato, effetto sull'energia di attivazione della reazione. Cofattori enzimatici: ioni metallici e coenzimi. Proprietà e conformazione del sito attivo, modelli di interazione enzima-substrato, legami coinvolti nella formazione del complesso enzima-substrato. Fattori che influenzano la velocità delle reazioni enzimatiche: concentrazione del substrato, temperatura, pH. Cinetica delle reazioni enzimatiche: teoria di Michaelis-Menten, la costante di Michaelis-Menten. Equazione di Lineweaver-Burk. Metodi di dosaggio degli enzimi. Unità enzimatica, attività specifica. Inibizione enzimatica: tipo competitivo, tipo non competitivo. Meccanismi di regolazione enzimatica: regolazione della sintesi (induzione e repressione) e della degradazione. Regolazione dell'attività: concetto di "enzima regolatore", effetti eterotropi (inibizione tipo feedback), effetti omotropici (cooperatività positiva e negativa, caratteristiche cinetiche e significato), modificazioni covalenti degli enzimi. Gli isoenzimi: concetto e significato fisiologico.

METABOLISMO

Significato generale del metabolismo intermedio, le varie vie metaboliche (anaboliche, cataboliche, anfiboliche), i vari stadi del metabolismo intermedio.

METABOLISMO DEI GLICIDI

Richiami della struttura chimica e delle proprietà dei monosaccaridi: i principali tipi di composti e loro derivati. Proprietà riducenti, stereoisomeria, mutarotazione. I principali derivati dei monosaccaridi. Richiami sulla struttura e la proprietà dei disaccaridi e dei polisaccaridi: i principali disaccaridi naturali, i più importanti omopolisaccaridi ed eteropolisaccaridi naturali.

Significato della glicolisi anaerobica, localizzazione degli enzimi glicolitici, le fasi della glicolisi, le singole reazioni della glicolisi e degli enzimi coinvolti, bilancio chimico ed energetico della glicolisi. Esempi di regolazione metabolica a livello della glicolisi.

Decarbossilazione ossidativa dell'acido piruvico: il sistema multienzimatico della piruvato-deidrogenasi. Il ciclo di Krebs: significato generale; bilancio chimico ed energetico, le singole reazioni del ciclo, gli enzimi e la loro localizzazione, esempi di regolazione.

La fosforilazione ossidativa; il modello chemio-osmotico, i disaccoppianti della fosforilazione ossidativa, il controllo respiratorio, i principali inibitori della catena e della fosforilazione ossidativa. Il ciclo dell'ATP.

Catabolismo degli altri monosaccaridi: galattosio, mannosio, fruttosio.

Via dell'ossidazione diretta del glucosio (via del pentosio fosfato): significato biologico, le singole reazioni, gli enzimi e la loro localizzazione.

La biosintesi dei monosaccaridi: le reazioni anaplerotiche del metabolismo, gluconeogenesi. Biosintesi, catabolismo ed regolazione del glicogeno.

METABOLISMO DEI LIPIDI

Richiami sulla struttura e le proprietà degli acidi grassi saturi ed insaturi, dei gliceridi, degli steroli. Lipidi con Omega 3. I lipidi complessi: fosfogliceridi e sfingolipidi. La struttura delle membrane biologiche: il ruolo e la struttura dei principali lipidi, i fosfolipidi e i glicolipidi, le proteine e le glicoproteine di membrana. Digestione ed assorbimento. Chilomicroni e lipoproteine.



Lipolisi e sua regolazione. Attivazione degli acidi grassi e loro trasporto carnitina-mediato nei mitocondri. Beta-ossidazione degli acidi grassi e sua regolazione. Corpi chetonici.

Biosintesi degli acidi grassi saturi: formazione del malonil-CoA, il sistema multienzimatico dell'acido grasso sintetasi, l'allungamento della catena carboniosa degli acidi grassi, localizzazione dei rispettivi enzimi e sua regolazione. Bilancio energetico

Biosintesi del colesterolo, regolazione di HMG-CoA riduttasi.

La formazione degli ormoni steroidei e gli acidi biliari.

METABOLISMO DELLE PROTEINE

Catabolismo delle proteine: endopeptidasi e esopeptidasi. Reazioni generali del catabolismo degli amminoacidi: deaminazione, transaminazione, decarbossilazione. Metabolismo terminale dell'azoto proteico: sintesi di carbammilfosfato, ciclo dell'ornitina, cicli sussidiari al ciclo dell'ornitina e la localizzazione intracellulare dei relativi enzimi, bilancio energetico e fattori di regolazione del ciclo dell'ornitina. Metabolismo dei singoli amminoacidi: amminoacidi glucogenici e chetogenici.

ORMONI

Classificazione chimica. Meccanismo di azione a livello molecolare e biosintesi di Insuline e glucagone.

BIOSINTESI DEGLI ACIDI NUCLEICI

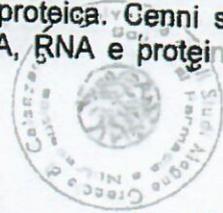
Basi puriniche e pirimidiniche. Nucleosidi, legame fosfodiesterico. Dinucleotidi, polinucleotidi. Struttura del DNA: doppia elica, complementarità, regole di Chargaff; proprietà del DNA in soluzione. Denaturazione del DNA: effetto ipercromico. Polarità antiparallela dei filamenti del DNA. Dimensioni delle molecole del DNA nativo. Struttura circolare del DNA batterico. Sequenze ripetitive del DNA degli animali superiori. Struttura dell'RNA messaggero, transfer e ribosomale. Dimensioni molecolari delle varie specie di RNA. Complessi acido nucleico-proteina: ribosomi e virus.

La replicazione del DNA: meccanismo semiconservativo. DNA polimerasi: funzioni e meccanismo di azione. DNA ligasi. Replicazione in vivo del DNA a doppio filamento. Riparazione del DNA. La trascrittasi inversa. Trascrizione del DNA da parte di RNA polimerasi DNA-dipendenti. Replicazione dell'RNA virale: DNA replicasi. Polinucleotide fosforilasi. Meccanismo molecolare della maturazione degli RNA.

Metabolismo dei nucleotidi: biosintesi *ex novo* di purine e pirimidine. Catabolismo delle purine e pirimidine. Via di recupero delle purine. Inibitori della biosintesi purinica e pirimidinica come agenti chemioterapici. Xantina ossidasi, gotta, sindrome di Lesch-Nyhan.

BIOSINTESI DELLE PROTEINE

Biosintesi proteica: codice genetico. Universalità e degenerazione del codice genetico. Direzione della lettura dell'RNA messaggero. Ruolo del tRNA. Specificità e reazione degli enzimi attivanti. Struttura dei ribosomi. Ribosomi come sito della sintesi proteica. Formazione del legame peptidico. Inizio, allungamento e terminazione della catena polipeptidica. Inibitori della sintesi proteica. Geni sul meccanismo di azione degli antibiotici nella biosintesi del DNA, RNA e proteine.



Esigenze energetiche della sintesi proteica. Regolazione della biosintesi proteica: induzione e repressione enzimatica.

Biochimica applicato

I PRINCIPI GENERALI DELLE COLTURE CELLULARI. Allestimento di colture batteriche. Colture di cellule di mammifero: aspetti teorici, equipaggiamento, principi di sterilità, terreni di coltura, conta cellulare, curva di crescita e tempo di duplicazione. Colture primarie e linee cellulari. Conservazione di cellule.

LA CENTRIFUGAZIONE. Principi e generalità. Centrifughe e rotori.

TECNICHE SPETTROSCOPICHE Spettroscopia nell'ultravioletto, visibile e nell'infrarosso. Legge di Lambert-Beer.

TECNICHE CROMATOGRAFICHE. Polimeri utilizzati per le fasi stazionarie. Cromatografia su strato sottile e su colonna. Cromatografia di assorbimento, di ripartizione, a scambio ionico, di gel filtrazione, di interazione idrofobica, di affinità. Applicazioni.

TECNICHE ELETTROFORETICHE. Mobilità elettroforetica. Elettroforesi su carta, su acetato di cellulosa e su gel. Elettroforesi verticale ed orizzontale. Elettroforesi di proteine (SDS-PAGE) e di acidi nucleici: determinazione della mobilità elettroforetica. Isoelettrofocalizzazione ed elettroforesi bidimensionale.

TECNICHE IMMUNOCHEMICHE. Antisieri ed anticorpi monoclonali e policlonali. Immunoprecipitazione. Western blotting, ELISA.

TECNICHE DI BIOLOGIA MOLECOLARE. Enzimi di restrizione e modificazione. Vettori plasmidici, fagi, cosmidi. Isolamento di acidi nucleici. Separazione e rivelazione di acidi nucleici: Southern e Northern blotting. Determinazione della sequenza del DNA. Amplificazione del DNA mediante la reazione di polimerizzazione a catena (PCR). Clonaggio del DNA in plasmidi ed altri vettori. Trasferimento di DNA in cellule di mammifero: trasfezione transiente e selezione di cloni stabili. Produzione di proteine ricombinanti in sistemi d'espressione procariotici ed eucariotici. "Microarray" di DNA.

PRINCIPI DI BIOINFORMATICA. Interrogazioni di banche dati biologiche.

Stima dell'impegno orario richiesto per lo studio individuale del programma
153 ore.

Metodi Insegnamento utilizzati

Lezioni frontali: 72 ore

Risorse per l'apprendimento

Testi consigliati per la consultazione (Edizione più recente)

NELSON, COX - I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER, Ed. Zanichelli
CAMPBELL. BIOCHIMICA EDISES ALLISON
FONDAMENTI DI BIOLOGIA MOLECOLARE Zanichelli Wilson k., Walker, J.
METODOLOGIE BIOCHIMICHE.



Heur M R52

Le bioscienze biotecnologie in laboratorio. Raffaello Cortina Editore
Bonaccorsi di Patti, Contestabile, Di Salvo.
METODOLOGIE BIOCHIMICHE. Ambrosiana

Attività di supporto

Il docente titolare riceve gli studenti previa comunicazione via email

Modalità di frequenza

La frequenza è obbligatoria.

Modalità di accertamento

Durante il corso saranno effettuate prove in itinere la cui partecipazione è facoltativa. La verifica a fine corso avverrà con una prova scritta, composta di 30 domanda- 15 multiple a,b,c,d,e ed 15 domande aperta - formula e reazione di via metabolica e un colloquio e per il voto finale saranno utilizzati i seguenti criteri di valutazione:

	CONOSCENZA E COMPRESIONE DEGLI ARGOMENTI	CAPACITA' DI ANALISI E SINTESI	UTILIZZO DEL LINGUAGGIO DI COMUNICAZIONE
NON IDONEO	Importanti carenze. Significative in accuratezze.	Irrelevanti. Frequenti generalizzazioni. Incapacità di sintesi.	Inappropriato.
18 - 20	Appena sufficienti con evidenti arrangiamenti.	Appena sufficienti.	Appena sufficienti.
21 - 23	Conoscenza routinaria.	E' in grado di analisi e sintesi corrette. Argomenta in modo buono.	Utilizza un linguaggio corretto.
24 - 26	Conoscenza buona.	Ha buona capacità di analisi e sintesi.	Utilizza un linguaggio adeguato.
27 - 29	Conoscenza più che buona	Ha una capacità più che buona di analisi e sintesi	Utilizza un linguaggio tecnico.
30 - 30 e lode	Massimo livello di conoscenza e comprensione	Ha il massimo delle capacità di analisi e sintesi	Utilizza un linguaggio specifico ed altamente professionale

