CORSO INTEGRATO: BIOCHIMICA

Organizzazione del corso:

Modulo	CFU	ore	Collocazione	Docente
Biochimica I	8	64	Anno I - Sem 2	F.Sinigaglia
Biochimica II	7	56	Anno II- Sem 1	F.Sinigaglia
Biol. Molecolare	2	24	Anno II- Sem 1	A.Graziani

Sedi del Corso: Caserma Perrone-Aula 104

V.le Ferrucci 33 Aula Pt 3-1 (Ist. Salesiani) dal 5/03

Testi consigliati:

- Nelson, Cox,PRINCIPI DI BIOCHIMICA di LEHNINGER Zanichelli -Va Edizione**
- C.K.Mathews, K.E.Van Holde BIOCHIMICA Ambrosiana-Milano**
- L. Stryer BIOCHIMICA Casa editrice:Zanichelli – Via Edizione**
- Voet D., Voet J.G, Pratt. C.W. FONDAMENTI DI BIOCHIMICA Zanichelli**

Quando e come comunicare con i Docenti del C.I.?

- Al termine di ciascuna lezione
- per appuntamento
- e-mail: fabiola.sinigaglia@med.unipmn.it
andrea.graziani@med.unipmn.it

Quando e Come si svolgera' l'esame del Corso integrato?

L'esame relativo all'INTERO CORSO INTEGRATO potra' essere sostenuto al termine dell'intero corso, ovvero alla fine del primo semestre del secondo anno.

L'esame si compone di 2 diverse prove:

- prova scritta
- prova orale (limitata agli studenti con voto non inferiore a 18/30 nella prova scritta)

N.B. Al termine del primo modulo di Corso verranno svolte 2 prove scritte di autovalutazione (mese di giugno e settembre) sui contenuti della prima prima parte del Corso. Tali prove saranno facoltative.

Di che cosa si occupa la Biochimica?

MACROMOLECOLE

- PROTEINE
- ACIDI NUCLEICI
- LIPIDI
- POLISACCARDI

LIPIDI

Tipi di lipidi

Acidi grassi
Saturi
insaturi

Gliceridi
Neutri
fosfolipidi

Lipidi complessi
Lipoproteine
Glicolipidi

Non gliceridi
Sfingolipidi
Steroidi
Cere
terpeni

Funzione dei lipidi

Struttura della membrana cellulare

Creare una barriera

Controllare il flusso di materiale

Immagazzinamento di “energia”

Grasso

Ormoni. Comunicazione tra cellule

Vitamine.

Regolazione processi biologici

ACIDI GRASSI

NOMENCLATURA

Desinenza – OICO

Acido STERICO (C18) → acido OTTADECANOICO

Acido PALMITICO (C16) → acido ESADECANOICO

ACIDI GRASSI

SATURI

INSATURI

Carboxyl
group

Hydrocarbon
chain

(a)

(b)

Grassi insaturi

trans

cis

cis, cis

Oleic acid

ORGANIZZAZIONE DI ACIDI GRASSI IN AMBIENTE ACQUOSO

Saturated fatty acids

Mixture of saturated and unsaturated fatty acids

Some common fatty acids

Common	IUPAC Name	MP	Formula
Lauric	n-dodecanoic	44	$C_{11}H_{23}COOH$
Palmitic	n-hexadecanoic	63	$C_{15}H_{31}COOH$
Stearic	n-octadecanoic	70	$C_{17}H_{35}COOH$
Palmitoleic	cis-9-hexadecenoic	0	$C_{15}H_{29}COOH$
Oleic	cis-9-octadecenoic	16	$C_{17}H_{33}COOH$
Linoleic	cis,cis,9,12-octadecadienoic	5	$C_{17}H_{31}COOH$

Presence of double bonds reduces melting point.

table 11-1

Some Naturally Occurring Fatty Acids

Carbon skeleton	Structure*	Systematic name [†]	Common name (derivation)	Melting point (°C)	Solubility at 30 °C (mg/g solvent)	
					Water	Benzene
12:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH	<i>n</i> -Dodecanoic acid	Lauric acid (Latin <i>laurus</i> , "laurel plant")	44.2	0.063	2,600
14:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH	<i>n</i> -Tetradecanoic acid	Myristic acid (Latin <i>Myristica</i> , nutmeg genus)	53.9	0.024	874
16:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH	<i>n</i> -Hexadecanoic acid	Palmitic acid (Latin <i>palma</i> , "palm tree")	63.1	0.0083	348
18:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH	<i>n</i> -Octadecanoic acid	Stearic acid (Greek <i>stear</i> , "hard fat")	69.6	0.0034	124
20:0	CH ₃ (CH ₂) ₁₈ COOH	<i>n</i> -Eicosanoic acid	Arachidic acid (Latin <i>Arachis</i> , legume genus)	76.5		
24:0	CH ₃ (CH ₂) ₂₂ COOH	<i>n</i> -Tetracosanoic acid	Lignoceric acid (Latin <i>lignum</i> , "wood" + <i>cera</i> , "wax")	86.0		
16:1(Δ ⁹)	CH ₃ (CH ₂) ₅ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -9-Hexadecenoic acid	Palmitoleic acid	-0.5		
18:1(Δ ⁹)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -9-Octadecenoic acid	Oleic acid (Latin <i>oleum</i> , "oil")	13.4		
18:2(Δ ^{9,12})	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -, <i>cis</i> -9,12-Octadecadienoic acid	Linoleic acid (Greek <i>linon</i> , "flax")	-5		
18:3(Δ ^{9,12,15})	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH	<i>cis</i> -, <i>cis</i> -, <i>cis</i> -9,12,15-Octadecatrienoic acid	α-Linolenic acid	-11		
20:4(Δ ^{5,8,11,14})	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₃ COOH	<i>cis</i> -, <i>cis</i> -, <i>cis</i> -, <i>cis</i> -5,8,11,14-Icosatetraenoic acid	Arachidonic acid	-49.5		

*All acids are shown in their nonionized form. At pH 7, all free fatty acids have an ionized carboxylate. Note that numbering of carbon atoms begins at the carboxyl carbon.

[†]The prefix *n*- indicates the "normal" unbranched structure. For instance, "dodecanoic" simply indicates 12 carbon atoms, which could

Lipidi semplici e complessi

Gliceridi neutri

Gliceridi: esteri del glicerolo

Mono, di e trigliceridi

Neutral glycerides

Esempio di trigliceride

GLICEROFOSFOLIPIDE

GLICEROFOSFOLIPIDI DI MEMBRANA

Name of glycerophospholipid	Name of X	Formula of X	Net charge (at pH 7)
Phosphatidic acid	—	— H	-1
Phosphatidylethanolamine	Ethanolamine	— CH ₂ —CH ₂ —NH ₃ ⁺	0
Phosphatidylcholine	Choline	— CH ₂ —CH ₂ —N ⁺ (CH ₃) ₃	0
Phosphatidylserine	Serine	— CH ₂ —CH—NH ₃ ⁺ COO ⁻	-1
Phosphatidylglycerol	Glycerol	— CH ₂ —CH—CH ₂ —OH OH	-1
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate	<i>myo</i> -Inositol 4,5-bisphosphate		-4
Cardiolipin	Phosphatidyl-glycerol		-2

Fat

SFINGOLIPIDI

Name of sphingolipid	Name of X	Formula of X
Ceramide	—	— H
Sphingomyelin	Phosphocholine	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ -\text{P}-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \\ \\ \text{O}^- \end{array}$
Neutral glycolipids Glucosylcerebroside	Glucose	
Lactosylceramide (a globoside)	Di-, tri-, or tetrasaccharide	
Ganglioside GM2	Complex oligosaccharide	

Sfingolipidi

Assenti nei grassi di deposito.

Sono abbondanti nel tessuto nervoso
(Guaina mielinica)

Circa il 25% dei lipidi negli esseri umani è
costituito da sfingolipidi

SFINGOMIELINA

Lecithin

Steroids

Colesterolo

Costituente principale delle membrane lipidiche

Steroids

Ormoni sessuali maschili e femminili.

progesterone

testosterone

10Å
1mm

H₂O

TESTE POLAR

CODE

APOLAR

CODE

APOLAR

TESTE POLAR

COLESTENOL

H₂O

TESTE POLARI

CODE
APOLAR

_____

CODE
APOLAR

TESTE POLARI

Figure 7.3 (a) Electron micrograph of a thin section of a phosphoglyceride vesicle isolated from an ultrasonicated lipid vesicle from a phosphoglyceride mixture derived from soybeans. The vesicles were negatively stained after fixation in osmium tetroxide. The thickness of the lipid wall of the vesicle is $45 \pm 5 \text{ \AA}$. (b) Diagrammatic representation of a phosphoglyceride bilayer found in vesicles of the type shown in part a. The dimensions of the individual lipid are not on the same scale as actually observed in part a. The head groups and tails are designated as (O) and (—), respectively. It should be emphasized that vesicles of this type are spherical or ellipsoidal in three dimensions and contain solvent inside as well as outside. [Part a from V. K. Miyamoto and W. Stoekenijs, *J. Membr. Biol.* 4:257 (1971).]

(a)

(b)

Cell membrane

Intercellular space

Cell membrane

Mosaic structure of membranes

Facilitated diffusion

Permeases - Specific protein transports materials across a membrane.

PROTEINE

L-Gliceraldeide

D-Gliceraldeide

L-Alanina

D-Alanina

Gruppi R alifatici, non polari

Gruppi R aromatici

Gruppi R carichi positivamente

Gruppi R polari, non carichi

Gruppi R carichi negativamente

**Glicina
(Gly, G)**

**Alanina
(Ala, A)**

**Glicina
(Gly, G)**

**Alanina
(Ala, A)**

Valina
(Val, V)

Valina
(Val, V)

Leucina
(Leu, L)

Leucina
(Leu, L)

Isoleucina
(Ile, I)

Isoleucina
(Ile, I)

Metionina
(Met, M)

Metionina
(Met, M)

Fenilalanina
(Phe, F)

Tirosina
(Tyr, Y)

Triptofano
(Trp, W)

Fenilalanina
(Phe, F)

Tirosina
(Tyr, Y)

Triptofano
(Trp, W)

Serina
(Ser, S)

Serina
(Ser, S)

Treonina
(Thr, T)

Treonina
(Thr, T)

**Asparagina
(Asn, N)**

**Glutamina
(Gln, Q)**

**Asparagina
(Asn, N)**

**Glutamina
(Gln, Q)**

Lisina
(Lys, K)

Arginina
(Arg, R)

Istidina
(His, H)

Lisina
(Lys, K)

Arginina
(Arg, R)

Istidina
(His, H)

Idrossiprolina

Idrossilisina

Metil-lisina

Ac. gamma-carbossigluttammico

Desmosina

(a)

Selenocisteina

Ornitina

Citrullina

(b)

Citrullina

Forma
non ionica

Forma
zwitterionica
(Anfoionica)

Cose' il punto isoelettrico di un amminoacido?

Il punto isoelettrico (pI) è il valore di pH al quale una molecola non reca alcuna carica elettrica netta

Il pI di un anfoione e' uguale ad 1/2 della somma algebrica dei valori di pKa dei gruppi ionizzabili.

Per un amminoacido avente un solo gruppo amminico ed un solo gruppo carbossilico il valore di pI e' calcolabile dalla seguente espressione:

$$pI = \frac{pK_{COOH} + pK_{NH_3^+}}{2}$$

pK_a

2

4

6

8

10

12

Gruppo carbossilico e gruppo amminico sostituito con un gruppo metilico

Acido acetico

Il valore normale di pK_a per un gruppo carbossilico è di circa 4,8

Metilammina

Il valore normale di pK_a per un gruppo amminico è di circa 10,6

Gruppo carbossilico e gruppo amminico nella glicina

α-Amminoacido (glicina)

pK_a = 2,34

La repulsione tra il gruppo amminico e il protone che sta uscendo abbassa il valore di pK_a del gruppo carbossilico; gruppi con cariche opposte abbassano il valore di pK_a stabilizzando lo zwitterione

α-Amminoacido (glicina)

pK_a = 9,60

Gli atomi di ossigeno elettronegativi nel gruppo carbossilico tendono a sottrarre elettroni al gruppo amminico, abbassando il valore del suo pK_a

CALCOLO DEL PUNTO ISOELETTRICO DI AMMINOACIDI ACIDI O BASICI

Per quanto riguarda gli amminoacidi con un gruppo ionizzabile nella catena laterale, per esempio la lisina o l'aspartato, si utilizza la stessa formula utilizzata per gli anioni.

Operativamente e' necessario considerare unicamente i pKa dei gruppi maggiormente rappresentati:

Es: -per lisina si considerano unicamente i pKa dei due gruppi amminici
-per glutammato si considerano unicamente i pKa dei due gruppi carbossilici.

LISINA presenta tre pKa:

l' α -Carbossile 2,16;

l' α -ammino gruppo 9,06

l' ϵ -ammino gruppo 10,54.

Il calcolo del pI prende in considerazione solamente i pKa dei due gruppi amminici, per cui:

$$pI = \frac{9,06 + 10,54}{2} = 9,80$$

(a)

PI ?

b)

Formazione del legame peptidico

Legame carbammidico

Una catena polipeptidica è costituita da una catena principale (scheletro covalente) con struttura ripetitiva (in nero) e da catene variabili (in verde)

Le sequenze amminoacidiche hanno una direzionalità ben precisa

Prima sequenza di una proteina (l'insulina) ad opera di Sanger

COME GLI AMMINOACIDI ANCHE I POLIPEPTIDI HANNO UN pI

Viene incorporata nel gel una soluzione di anfolti

Si viene a stabilire un gradiente di pH stabile nel gel dopo l'applicazione di un campo elettrico

Viene caricata la soluzione proteica e si applica ancora un campo elettrico

Dopo colorazione, le proteine sono distribuite lungo il gradiente di pH secondo il loro pI

TITINA contiene 26926 aa
3000kDa

Hemoglobina 4 catene
574 aa 60kDa

TABLE 3-2 Molecular Data on Some Proteins

	<i>Molecular weight</i>	<i>Number of residues</i>	<i>Number of polypeptide chains</i>
Cytochrome c (human)	13,000	104	1
Ribonuclease A (bovine pancreas)	13,700	124	1
Lysozyme (chicken egg white)	13,930	129	1
Myoglobin (equine heart)	16,890	153	1
Chymotrypsin (bovine pancreas)	21,600	241	3
Chymotrypsinogen (bovine)	22,000	245	1
Hemoglobin (human)	64,500	574	4
Serum albumin (human)	68,500	609	1
Hexokinase (yeast)	102,000	972	2
RNA polymerase (<i>E. coli</i>)	450,000	4,158	5
Apolipoprotein B (human)	513,000	4,536	1
Glutamine synthetase (<i>E. coli</i>)	619,000	5,628	12
Titin (human)	2,993,000	26,926	1

ALCUNE PROTEINE CONTENGONO GRUPPI CHIMICI DIVERSI DAGLI AMMINOACIDI

TABLE 3-4 Conjugated Proteins

<i>Class</i>	<i>Prosthetic group</i>	<i>Example</i>
Lipoproteins	Lipids	β_1 -Lipoprotein of blood
Glycoproteins	Carbohydrates	Immunoglobulin G
Phosphoproteins	Phosphate groups	Casein of milk
Hemoproteins	Heme (iron porphyrin)	Hemoglobin
Flavoproteins	Flavin nucleotides	Succinate dehydrogenase
Metalloproteins	Iron	Ferritin
	Zinc	Alcohol dehydrogenase
	Calcium	Calmodulin
	Molybdenum	Dinitrogenase
	Copper	Plastocyanin

La sequenza amminoacidica di una proteina ne determina la struttura secondaria, terziaria e quaternaria

La struttura secondaria:

- le catene polipeptidiche si possono ripiegare in strutture regolari come l'alfa-elica e foglietto beta