

# BIOCHIMICA STRUTTURALE CON ELEMENTI DI ENZIMOLOGIA

## *Insegnamento di Biomolecole e Propedeutica al Laboratorio*

|  |                         |   |
|--|-------------------------|---|
| <b>Codice Disciplina:</b> BT019<br><b>Codice Insegnamento:</b><br>MS0440 | <b>Settore :</b> BIO/10 | <b>N° CFU:</b> 5  |
| <b>Docente:</b> Daniela Capello  | <b>Ore :</b> 40         | <b>Corso di Laurea :</b> Biotecnologie<br><b>Anno :</b> I<br><b>Semestre :</b> II |

### Obiettivo del modulo

Creare nello studente le basi per un approccio molecolare alla fisiologia ed alla patologia, tramite la definizione del rapporto struttura-funzione delle macromolecole biologiche, con particolare attenzione alle proteine trasportatrici o dotate di attività enzimatica.

### Conoscenze ed abilità attese

Al termine del corso lo studente dovrà essere in grado di descrivere, in termini molecolari, la struttura della materia biologica, sapendo riconoscere il ruolo della struttura sulla funzionalità delle macromolecole stesse. Dovrà inoltre mostrare padronanza dei principali meccanismi di azione degli enzimi e dei tipi di reazione da essi catalizzate e conseguire un'adeguata conoscenza dei principi di bioenergetica e delle principali vie metaboliche deputate alla produzione di energia.

### Programma del corso

- **Carboidrati.** Monosaccaridi, monosaccaridi modificati. Disaccaridi, legame glicosidico. Polisaccaridi di riserva e strutturali: amido, glicogeno, cellulosa, chitina, glucomannani, glicosamminoglicani.
- **Lipidi.** Acidi grassi saturi ed insaturi. Nomenclatura e struttura dei principali acidi grassi di interesse biologico. Glicerolipidi e glicerofosfolipidi. Sfingolipidi, glicolipidi. Organizzazione dei lipidi in ambiente acquoso: vescicole, micelle, doppio strato. Struttura del colesterolo e suoi derivati: colesterolo esterificato, acidi colici, cenni su ormoni sessuali e corticosurrenali.
- **Acidi nucleici:** Struttura e proprietà
- **Amminoacidi:** struttura, classificazione in base alla catena laterale. Amminoacidi non proteici. Proprietà anfioniche degli aa. Punto isoelettrico. Legame peptidico: proprietà chimico fisiche. Cenni sulle molecole derivate degli amminoacidi ad attività biologica.
- **Proteine.** Struttura delle proteine: struttura primaria, strutture secondarie (alfa elica e beta-foglietto), struttura terziaria. Interazioni deboli di stabilizzazione di ogni livello strutturale. Legami a ponte disolfuro. I domini funzionali. Denaturazione proteica.
- **Struttura quaternaria.** Metodi di studio della struttura delle proteine: cristallografia a raggi x e risonanza magnetica. Errori di folding: proteine APP – peptidi beta-amiloidi. Proteine glicate.
- **Organizzazione delle membrane cellulari e subcellulari.** Interazione fisica e funzionale fra i diversi costituenti della membrana: lipidi, glicolipidi, proteine, glicoproteine e lipoproteine. Trasporto di soluti attraverso le membrane: trasportatori e canali.
- **Rapporto struttura-funzione delle proteine:** Immunoglobuline e complemento: meccanismi d'azione. Unità strutturale contrattile: organizzazione morfologica e molecolare. Meccanismo biochimico della contrazione: ruolo di ATP e degli ioni calcio. Proteine della matrice extracellulare: laminine, fibronectina, collageni. Recettori integrinici. Proteine del citoscheletro. Ruolo delle integrine nella comunicazione matrice-cellula. Meccanismo di polimerizzazione di actina e cenni su proteine di regolatorie. Microtubuli: struttura, meccanismo di polimerizzazione e ruolo intracellulare. Motori molecolari: chinesine e dineine. Struttura e meccanismo di

avanzamento ATP-dipendente sul microtubulo.

- **Proteine trasportatrici.** Proteine trasportatrici nel plasma: generalità. Processo di riconoscimento e di legame:  $K_a$  e  $K_d$ . Calcolo del grado di Saturazione.
- **Proteine che legano l'O<sub>2</sub>.** struttura ed interazioni con il gruppo EME. Mioglobina: struttura e funzione. Curva di saturazione. Emoglobina: struttura e funzione. Curva di saturazione. Allosteria T/R. Interazione tra i siti di legame: cooperativita'. Calcolo del grado di cooperativita' tra siti di legame uguali appartenenti alla stessa proteina oligomera. Coefficiente di Hill. Regolazione dell'affinita' di Hb per il suo ligando da parte di: O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, H<sup>+</sup> e loro ruolo negli scambi gassosi a livello polmonare e tissutale. Ruolo di 2,3 bisfosfoglicerato (BPG) nella regolazione della affinita' di Hb per O<sub>2</sub>. Scambi materno-fetali. Basi molecolari delle Emoglobinopatie: Talassemie ed emoglobinopatie.
- **Enzimi e cinetica enzimatica.** Meccanismo generale d'azione degli enzimi. Classificazione degli enzimi. Trasformazioni chimiche: aspetti termodinamici. Energia libera di Gibbs. Equazione di Van't Hoff. Energia di attivazione suo impatto sulla velocità di reazione. Velocità di reazione. Costante di velocità. Equazione di Arrhenius. Ipotesi dello stato stazionario. Equazione di Michaelis-Menten. Rappresentazione secondo Lineweaver-Burk. Parametri cinetici fondamentali: significato e metodo di calcolo. Effetto pH ed effetto T. Numero di turnover e costante di specificità. Inibizione competitiva e non competitiva: aspetti cinetici. Reazioni a due substrati: meccanismo sequenziale e a ping pong e loro rappresentazione grafica.
- **Meccanismi di regolazione delle vie metaboliche.** Attivazione/inibizione per proteolisi, associazione/ dissociazione di subunità. Allosteria: effetti di cooperativita' omotropi, eterotropi, positivi e negativi. Aspartico transcarbamilasi. Cinetica degli enzimi regolatori: Enzimi K ed enzimi V. Regolazione di vie metaboliche. Meccanismi di regolazione: regolazione covalente. Meccanismi di regolazione multipli. Meccanismi di catalisi: adattamento indotto, riduzione entropica, acido base, covalente.
- **Proteasi:** enzimi digestivi, enzimi della cascata coagulativa, caspasi, il proteosoma
- **Vitamine liposolubili e cofattori enzimatici:** struttura, biodisponibilità, meccanismo d'azione dei cofattori derivati o sintetizzati.
- **Vitamine idrosolubili e cofattori enzimatici:** struttura, biodisponibilità, meccanismo d'azione dei cofattori derivati o sintetizzati.
- **Introduzione al metabolismo ed alla bioenergetica.** Visione generale delle vie e dei cicli metabolici, processi catabolici ed anabolici. Legami ad alta energia: ruolo metabolico generale, significato delle reazioni accoppiate, ruolo dell' ATP nel metabolismo cellulare. Le reazioni di ossido-riduzione nel metabolismo cellulare. Molecole deputate al trasporto di elettroni (FAD, NAD, NADP), catena di trasporto degli elettroni e fosforilazione ossidativa. Tappe metaboliche e meccanismi di reazione delle principali vie cataboliche per la produzione di energia: glicolisi aerobica e anaerobica, ossidazione del piruvato ad acetil-CoA, ossidazione degli acidi grassi, il ciclo di Krebs.

## Esercitazioni

- Risoluzione di problemi e domande a risposta multipla proposti dal docente allo scopo di fornire agli studenti la possibilità di verificare l'apprendimento degli argomenti svolti durante il corso e al fine di potersi adeguatamente preparare alla prova finale

## Attività a scelta dello studente

- Approfondimento di argomenti di particolare interesse concordati con il docente
- Possibilità di frequentare i laboratori di biochimica per apprendere le tecniche di base della ricerca biomolecolare, ricevendo al contempo una prima formazione sulle modalità di programmazione della ricerca e sui criteri di valutazione dei risultati sperimentali

## Supporti alla didattica in uso alla docenza

Sistema di videoproiezione

### **Strumenti didattici**

Diapositive e dispense messe a disposizione dal docente. Siti internet didattici.

### **Materiali di consumo previsti**

Nessuno

### **Eventuale bibliografia**

- Nelson, Cox. PRINCIPI DI BIOCHIMICA di LEHNINGER. Zanichelli -Va Edizione
- Voet, Voet, Pratt. FONDAMENTI DI BIOCHIMICA. Zanichelli
- Mathews. BIOCHIMICA. Piccin
- Devlin. Biochimica con Aspetti Clinico - Farmaceutici. Edises

### **Verifica dell'apprendimento**

Esame scritto che consiste in una serie di domande a risposta multipla e risoluzione di problemi volti a verificare la comprensione dello svolgimento dei processi biochimico-metabolici e la loro regolazione.