

**Corso integrato di Biochimica**  
**Modulo: Biochimica I**

<b>Codice Disciplina :</b> MC009 <b>Codice Insegnamento :</b> MC008	<b>Settore :</b> BIO/10	<b>N° CFU:</b> 8
<b>Docente:</b> Prof.ssa Sinigaglia Fabiola	<b>N° Ore :</b> 64	<b>Anno :</b> I° <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 riferimento alle proteine trasportatrici o dotate di attività enzimatica. –Trasferire allo studente solide conoscenze dei meccanismi di segnalazione recettore-mediati e delle vie di segnalazione intra-cellulare.

**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 trasduzione del segnale, sapendone focalizzare il ruolo nei processi di segnalazione cellulare.

**Programma del corso**

1-La biochimica è quella scienza che studia i fenomeni biologici utilizzando un rigoroso linguaggio chimico e chimico-fisico. Glucidi: monosaccaridi, disaccaridi. Zuccheri modificati. Legame glicosidico. Polisaccaridi di riserva e strutturali: glicogeno, glicosaminoglicani solforati.

2-Lipidi. Acidi grassi saturi ed insaturi. Nomenclatura e struttura. Gliceridi: triacilgliceroli e glicerofosfolipidi. Sfingolipidi: sfingomieline e 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 corticosteroidi. Organizzazione delle membrane cellulari e subcellulari: generalità.

3-Aminoacidi: struttura, classificazione in base alla catena laterale. Aminoacidi non proteici. Proprietà anfoteriche degli aa. Punto isoelettrico. Separazione elettroforetica degli aa; cromatografia su carta ed in colonna a scambio ionico. Legame peptidico: proprietà chimico fisiche. Rotazione dei legami intorno al C $\alpha$ : impatto sulla struttura. Polipeptidi e proteine: separazione in base alla dimensione (gel-filtrazione) e per affinità. Determinazione della massa molecolare mediante SDS-elettroforesi.

4-Struttura delle proteine: struttura primaria, sequenza aa. Struttura secondaria: alfa elica e beta-foglietto. Struttura terziaria. Interazioni deboli di stabilizzazione di ogni livello strutturale. Legami a ponte disolfuro. Denaturazione proteica.

5-Struttura quaternaria. Metodi di studio della struttura delle proteine: cristallografia a raggi x e risonanza magnetica. Errori di folding. Proteine APP – peptidi beta-amiloidei. Proteine glicilate.

6-Rapporto struttura-funzione di classi proteiche diverse: Immunoglobuline, proteine contrattili del muscolo. Unità 'strutturale contrattile: organizzazione morfologica e molecolare. Meccanismo biochimico della contrazione: ruolo di ATP e degli ioni calcio.

7-Rapporto struttura-funzione di classi proteiche diverse: proteine della matrice intercellulare, collagene, laminina e fibronectina. 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.

8-Proteine trasportatrici. Proteine trasportatrici nel plasma: generalità. Processo di riconoscimento e di legame.  $K_a$  e  $K_d$ . Calcolo del grado di Saturazione. Proteine O<sub>2</sub>-leganti. Gruppo eme: struttura ed interazioni con la catena globinica. Mioglobina: struttura e funzione. Curva di saturazione. Emoglobina: struttura. Curva di saturazione. Allosteria T/R. Interazione tra i siti di legame: cooperatività.

9- Calcolo del grado di cooperatività tra siti di legame uguali appartenenti alla stessa proteina oligomera. Coefficiente di Hill. Regolazione dell'affinità 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 affinità di Hb per O<sub>2</sub>. Scambi gassosi materno-fetali. Basi molecolari delle Emoglobinopatie: Talassemie ed anemia falciforme.

10-Enzimi: 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.

11- Velocità di reazione. Costante di velocità. Equazione di Arrhenius. Cinetica enzimatica. 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.

13- Meccanismi di regolazione. Attivazione/inibizione per proteolisi, associazione/dissociazione di subunita. Allosteria: effetti di cooperatività omotropi, eterotropi, positivi e negativi. Aspartico-transcarbamilasi. Cinetica degli enzimi regolatori: Enzimi K ed enzimi V. Meccanismi di regolazione multipli. Meccanismi di catalisi: adattamento indotto, riduzione entropica, acido base, covalente. Proteasi: chimotripsina, HIV-proteasi, Trombina, caspasi.

14-Vitamine e cofattori: vitamine liposolubili: struttura, biodisponibilità, meccanismo d'azione dei cofattori derivati o sintetizzati.

15-Vitamine e cofattori: vitamine idrosolubili: struttura, biodisponibilità, meccanismo d'azione dei cofattori derivati o sintetizzati.

16-Meccanismi di Segnalazione. Generalità. Meccanismi endocrini, paracrini, autocrini. Caratteristiche dei processi di segnalazione: specificità, affinità, cooperatività, amplificazione, integrazione. Desensibilizzazione ed effetto soglia. Calcolo dell'affinità e del numero dei recettori: plot di Scatchard. Classi di recettori.

17-Recettori accoppiati a proteine G trimeriche. Sistemi effettori a valle di proteine G trimeriche: adenilato ciclasi. Meccanismo d'azione di tossine: colera e pertosse. Sistema beta adrenergico.

18- Canali voltaggio dipendenti e ligando dipendenti. Canale neurale voltaggio dipendente per il sodio. Recettore colinergico. Fosfolipasi A-D-C. IP<sub>3</sub> e diacilglicerolo. Segnalazione Ca-dipendente. CaMK. MLCK.

19-cADPR e NAADP. PKC. Endocannabinoidi: 2-AG. Meccanismi biochimici della percezione sensoriale.

20-Recettori Tirosina chinasi: struttura e meccanismo di segnalazione. Via di Ras: MAPK. Via di PI3K: AKT/PKB. Src.

21-Recettore di insulina e vie di segnalazione a valle. Regolazione negativa dei TRK: Cbl. Recettori associati a tirosine Chinasi: Jak-Stat. Segnalazione di eritropoietina. Tirosina fosfatasi con struttura receptor-like. Recettori serina/treonina chinasi. Recettori con attività guanilato ciclasica.

22-Segnalazione cGMP-dipendente. Sintesi di NO e suo ruolo nella sistema cardiovascolare. Segnalazione inside out e outside in mediata da integrine.

23-Bioenergetica. Metabolismo basale. Fabbisogno energetico in relazione all'attività fisica. Consumo energetico da parte di tessuti ed organi diversi. Molecole ad alto contenuto energetico: NAD, NADP, FAD, FMN, ATP, fosfocreatina. Intermedi metabolici ad alto contenuto energetico. Esteri e tioesteri.

24-Ruolo dei cofattori redox nei processi catabolici ed anabolici. Compartimentazione metabolica.

25-Respirazione cellulare. Trasporto equivalenti riducenti dal citosol alla matrice mitocondriale: Sistemi shuttle.

26-Catena di trasporto degli elettroni

27-ATP sintasi: struttura e meccanismo rotazionale. Teoria chemiosmotica di Mitchell.

28-Metabolismo: aspetti generali del catabolismo e dell'anabolismo. Aspetti biochimici della digestione degli alimenti. Ruolo del pancreas nel processo digestivo. Riduzione dei polisaccaridi alimentari a disaccaridi, destrine e monosaccaridi: ruolo di alfa-amilasi. Assorbimento di acqua e ioni. Trasportatori GLUT. Assorbimento degli zuccheri da parte degli enterociti e trasferimento al torrente circolatorio.

Condizioni patologiche di malassorbimento degli zuccheri.

29-Proprietà cinetiche dei GLUT: significato metabolico. Glicolisi: fase preparatoria. Significato della fosforilazione dei substrati. Meccanismo di fosfoesoso isomerasi ed Aldolasi. Considerazioni energetiche sui singoli step glicolitici.

30-Fase produttiva della glicolisi. Meccanismo di gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi e di 3-fosfoglicerato mutasi. Fosforilazioni a livello del substrato. Glicolisi aerobia ed anaerobia: bilancio energetico.

31-Isoenzimi di Lattico deidrogenasi: peculiarità funzionali e significato diagnostico. Metabolismo dei disaccaridi della dieta. Sintesi di fruttosio. Metabolismo zuccheri acidi ed amminozuccheri.

32-Meccanismi di biosintesi della porzione saccaridica di glicoproteine e glicolipidi: Catene O-linked ed N-linked. Ruolo del dolicholo fosfato. Glicosamminoglicani: sintesi di acidi uronici e di amminozuccheri. Processi di glicuronazione rilevanti al fine della detossicazione da xenobiotici, farmaci e prodotti del catabolismo endogeno. Via dei pentosi: significato metabolico.

#### **Esercitazioni:**

-

#### **Attività a scelta dello studente:**

-

#### **Supporti alla didattica in uso alla docenza:**

Sistema di videoproiezione

#### **Strumenti didattici**

Diapositive fornite dal docente

#### **Materiali di consumo previsti**

#### **Eventuale bibliografia**

#### **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

#### **Verifica dell'apprendimento**

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

L'esame si svolge in forma orale.

Sono previsti test di autovalutazione in itinere