

BIOCHIMICA
corso integrato di *Biochimica e Biologia molecolare*

Codice Disciplina : MS0034 Codice Corso integrato : MS0040	Settore : BIO/10	CFU: 3
Docente: Baldanzi Gianluca	Ore : 30	Corso di Laurea : Tecniche di laboratorio biomedico Anno : I Semestre : II

Obiettivo del modulo

Capire le proteine e la relazione struttura/funzione; principi che presiedono alla catalisi enzimatica.
Conoscere le principali classi di molecole biologiche ed il loro metabolismo.
Conoscere i principi generali del metabolismo bio-energetico e le principali vie metaboliche.
Capire i meccanismi di regolazione degli enzimi ed il controllo del metabolismo. Esempi di trasduzione del segnale ormonale per la regolazione cellulare.
Tecnologie per lo studio delle molecole biologiche con particolare attenzione alle proteine.

Conoscenze ed abilità attese

Lo studente deve essere in possesso delle nozioni apprese nei corsi di Chimica, Biologia cellulare e Genetica.

Programma del corso

Tecnologie per lo studio delle molecole biologiche.

- Tecniche di preparazione dei campioni biologici per l'analisi delle molecole biologiche.
- Tecniche di arricchimento e frazionamento sub-cellulare.
- Separazione delle proteine mediante tecniche elettroforetiche su gel (SDS-PAGE, isoelectrofocusing, elettroforesi bidimensionale).
- Metodi per la rilevazione e quantificazione delle proteine.
- Separazione delle proteine mediante cromatografia su colonna:
 - rilevanza del supporto, criterio per l'eluizione
 - colonne a scambio ionico
 - gel filtrazione
 - colonne di affinità
- Metodi per l'identificazione delle proteine:
 - dosaggio enzimatico
 - western blot
 - ELISA e RIA
 - Immunoprecipitazione
 - sequenziamento via Edman
 - sequenziamento spettrometria di massa

Metabolismo generale.

- Proteine, relazione tra struttura e funzione utilizzando come esempi emoglobina, collagene.
- Gli enzimi: meccanismo di azione e principi di cinetica enzimatica.
- Definizione e significato dei termini: catabolismo, anabolismo; ossidazione e riduzione delle macromolecole biologiche. Significato biologico di equivalenti riducenti (NADH, FADH₂, NADPH) e dei nucleotidi ad alta energia (ATP).

Metabolismo glucidico.

- I polisaccaridi di riserva: amido e glicogeno.
- La digestione dei carboidrati: amilasi salivare e pancreatica, disaccaridasi e assorbimento dei monosaccaridi. Trasportatori del glucosio.
- La glicolisi: significato e inquadramento generale. Descrizione di ogni tappa della glicolisi: nome dell'enzima, dei reagenti, dei cofattori e dei prodotti, struttura dei reagenti e dei prodotti, direzione della reazione all'equilibrio. Bilancio energetico. Inoltre, in particolare: esocinasi e glucocinasi (caratteristiche e differenze); energia di idrolisi dell'ATP e significato delle fosforilazioni nella prima fase della glicolisi; concetto di fosforilazione a livello del substrato. La fermentazione lattica: isoenzimi della lattico deidrogenasi, significato fisiologico, ciclo di Cori. Destino del piruvato nei diversi tessuti.
- Siti di regolazione della glicolisi: esocinasi/glucocinasi, fosfofruttocinasi e piruvato cinasi. Regolazione da metaboliti e ormonale. Il fruttosio-2,3-bisfosfato e regolazione dell'enzima bifunzionale (fosfofruttocinasi₂/fruttosio-bisfosfato 2-fosfatasi) epatico e cardiaco da glucagone, adrenalina e insulina.
- Gluconeogenesi: significato e principali precursori del glucosio (lattato, piruvato e alanina; ciclo di Cori e ciclo del piruvato/alanina); ingresso dei diversi precursori della gluconeogenesi; descrizione di ogni tappa (nome dell'enzima, dei reagenti, dei cofattori e dei prodotti, struttura dei reagenti e dei prodotti, compartimentalizzazione delle diverse tappe). Bilancio energetico. Regolazione della gluconeogenesi: allosterica o da induzione/repressione, e da metaboliti o ormonale. Confronto con la regolazione della glicolisi.
- Metabolismo del glicogeno: ruolo fisiologico del glicogeno epatico e cardiaco. Glicogeno-sintesi e glicogenolisi: descrizione di ogni tappa (nome dell'enzima, dei reagenti, dei cofattori, e dei prodotti, struttura dei reagenti e dei prodotti); regolazione ormonale di glicogeno sintasi e di glicogeno fosforilasi. Ruolo di glicogeno sintasi cinasi, fosforilasi cinasi, fosfo-proteina-fosfatasi 1 (PP1), e loro regolazione da Insulina e Glucagone/Adrenalina. Differenze fra la regolazione del metabolismo del glicogeno epatico e muscolare.
- Il ciclo dei pentosi: conversione del glucosio-6-fosfato in ribosio-5-fosfato e suo significato biologico.

La piruvico deidrogenasi, ciclo dell'acido citrico e respirazione mitocondriale.

- La piruvico deidrogenasi: reazione generale con indicazione dei reagenti e dei prodotti e dei cofattori. Localizzazione subcellulare. Regolazione covalente e allosterica.
- Il ciclo dell'acido citrico o ciclo di Krebs: significato e inquadramento generale. Descrizione di ogni tappa. Reazioni anaplerotiche: la piruvico carbossilasi. Ruolo di alcuni intermedi del ciclo come precursori per la sintesi di altre molecole, e del citrato come regolatore di altre vie metaboliche. Regolazione del ciclo di Krebs.
- La catena respiratoria mitocondriale. Localizzazione sub-cellulare. L'ubichinone (struttura generale), i centri Fe-S, i citocromi. I complessi I (NADH deidrogenasi), II (succinato deidrogenasi), III (citocromo reduttasi), IV (citocromo ossidasi): descrizione biochimica, localizzazione. Trasporto degli equivalenti ridotti attraverso la membrana mitocondriale: shuttle del malato/aspartato e del glicerofosfato. Descrizione generale del percorso compiuto dagli elettroni e dei meccanismi di ossido-riduzione. Veleni della catena respiratoria. Teoria chemosmotica, accoppiamento del trasporto degli elettroni e della riduzione dell'ossigeno al trasporto di protoni e alla sintesi di ATP. ATP sintasi: struttura e meccanismo. Traslocasi di ADP/ATP.

Metabolismo lipidico.

- Digestione e assorbimento dei trigliceridi: ruolo dei sali biliari, lipasi pancreatica, chilomicroni, lipoproteina lipasi, VLDL. Demolizione dei trigliceridi del tessuto adiposo: TG-lipasi ormone-sensibile. Metabolismo del glicerolo.
- Ingresso degli acidi grassi nelle cellule e loro attivazione ad acilCoA. Il sistema di trasporto mitocondriale carnitina-dipendente (formula passiva della carnitina). La β -ossidazione: descrizione di ogni tappa, prendendo come modello un acido grasso saturo a catena lunga. Bilancio energetico dell'ossidazione completa di un acido grasso. Regolazione della β -ossidazione.
- Chetogenesi e utilizzo dei corpi chetonici (chetolisi): descrizione delle diverse tappe enzimatiche; significato fisiopatologico (digiuno e diabete) dei corpi chetonici.

- Cenni sulla sintesi degli acidi grassi: localizzazione sub-cellulare, trasporto di acetyl-CoA e NADPH, acetyl-CoA carboxylasi, ruolo del malonylCoA e del citrato, l'acido grasso sintasi. Bilancio energetico. Regolazione da metaboliti e ormonale.
- Cenni sulla struttura dei trigliceridi, dei fosfolipidi e organizzazione delle membrane biologiche.
- Metabolismo del colesterolo e delle lipoproteine: LDL e HDL. Internalizzazione delle LDL. Biosintesi del colesterolo: conoscenza delle tappe e delle strutture dei metaboliti intermedi dall'acetyl-CoA al mevalonato; linee generali della conversione da mevalonato a colesterolo. Sintesi degli esteri del colesterolo. Regolazione della sintesi del colesterolo. Linee generali del catabolismo del colesterolo a acidi biliari.

Metabolismo aminoacidico.

- Digestione delle proteine. Digestione gastrica: secrezione di HCl, pepsinogeno-pepsina. Digestione duodenale: attivazione tripsinogeno-tripsina, chimotripsinogeno-chimotripsina, proelastasi-elastasi (specificità delle serina proteasi), carbossi-peptidasi e aminopeptidasi. Assorbimento degli aminoacidi.
- Sistemi di deaminazione degli aminoacidi: transaminasi (cenni sul ruolo del piridossalfosfato), glutammina deidrogenasi. Modalità di trasferimento dei gruppi amminici in eccesso dai tessuti extraepatici al fegato: ruolo della glutammina e della alanina (ciclo alanina-glucosio). Ciclo dell'urea: descrizione di ogni tappa. Interrelazioni tra ciclo dell'urea e ciclo dell'acido citrico. Regolazione del ciclo dell'urea.
- Catabolismo della parte carboniosa degli aminoacidi: i) identificazione degli aminoacidi gluconeogenici, chetogenici e chetogenici/gluconeogenici; individuazione degli intermedi metabolici principali cui danno origine gli aminoacidi al termine delle rispettive vie cataboliche e del loro successivo utilizzo nella produzione di energia e nella sintesi di glucosio e di corpi chetonici.
- Difetti congeniti del metabolismo con esempi tratti dal catabolismo degli aminoacidi: fenilchetonuria.

Metabolismo dei nucleotidi.

- Biosintesi ex-novo e vie di recupero delle purine. Regolazione della sintesi dei nucleotidi purinici. Tetraidrofolato. Cenni sulla sintesi delle pirimidine. Ruolo della ribonucleotide redattasi e della timidilato sintasi. Degradazione delle purine ad acido urico. Basi biochimiche della gotta (iperuricemia).

Integrazione delle vie metaboliche nei principali organi e tessuti e controllo della disponibilità di nutrienti.

- Caratteristiche peculiari del metabolismo dell'epatocita, dell'adipocita, del muscolo scheletrico, del miocardio, del cervello, ovvero quali sono i principali "combustibili" e le principali vie biosintetiche in ciascun tessuto.
- Il controllo della glicemia: adrenalina, glucagone e insulina: meccanismo d'azione e riassunto degli effetti metabolici.
- Il metabolismo dopo assunzione di alimenti e in corso di digiuno: analisi dell'integrazione delle diverse vie metaboliche nei principali organi e tessuti.
- Cenni sul metabolismo nel diabete.

Vitamine.

- Vitamine idrosolubili come precursori di coenzimi. Vitamina C. Vitamine liposolubili: A (rodopsina e acido retinoico), E (effetto anti-ossidanti), D (calcificazione).

Esercitazioni

non previste

Attività a scelta dello studente

Ricerche bibliografiche, frequenza del laboratorio di biochimica per attività pratiche.

Supporti alla didattica in uso alla docenza

Videoproiettore e computer con collegamento Internet in dotazione all'aula.

Strumenti didattici

Presentazioni in formato MS-Power Point, CD-ROM interattivi, dispense e siti internet didattici.

Materiali di consumo previsti

non previsti

Eventuale bibliografia

Testi consigliati:

- J. M. Berg - J. L. Tymoczko - L. Stryer - Biochimica - Ed. Zanichelli
- Siliprandi & Tettamanti "BIOCHIMICA MEDICA" - Ed Piccin
- Campbell Farrel. Biochimica - Editrice EDISES
- Wilson Walker. Biochimica e Biologia Molecolare - Raffaello Cortina Editore

Verifica dell'apprendimento

Esame composto di domande a risposta aperta sui diversi argomenti trattati; con una particolare attenzione a: metodiche biochimiche, struttura e funzione delle principali molecole di interesse biochimico, metabolismo e sue alterazioni nella patologie.