



# UNIVERSITÀ DI PISA

---

## BIOCHIMICA

### MARIO CAPIELLO

|                 |                    |
|-----------------|--------------------|
| Anno accademico | 2023/24            |
| CdS             | SCIENZE BIOLOGICHE |
| Codice          | 064EE              |
| CFU             | 9                  |

|            |           |         |     |                |
|------------|-----------|---------|-----|----------------|
| Moduli     | Settore/i | Tipo    | Ore | Docente/i      |
| BIOCHIMICA | BIO/10    | LEZIONI | 80  | MARIO CAPIELLO |

#### Obiettivi di apprendimento

##### *Conoscenze*

Lo studente che sarà in grado di completare il corso dovrà dimostrare una solida conoscenza della Biochimica comprendente sia i principi di base della biochimica generale che le vie metaboliche principali. In particolare lo studente sarà in grado di mettere in correlazione le principali caratteristiche strutturali di proteine ed enzimi con la loro funzione, regolazione e localizzazione cellulare. Lo studente effettuerà anche un'esperienza di laboratorio (in piccolo gruppo) e sarà in grado di discutere su ciò che è stato acquisito durante l'esperienza.

##### *Modalità di verifica delle conoscenze*

Nella prova finale lo studente dovrà dimostrare la sua conoscenza dei temi trattati nel corso e dovrà essere in grado di discuterne usando una terminologia appropriata. Lo studente dovrà dimostrare di conoscere e analizzare l'attività pratica effettuata nel laboratorio

##### Metodo

- Prova finale orale, preceduta da un test nel quale lo studente dovrà dimostrare di conoscere le formule di struttura di composti base

##### *Capacità*

Al termine del corso lo studente avrà acquisito:

- conoscenze biochimiche a partire dai principi di base della biochimica generale fino alle vie metaboliche principali
- capacità di correlare le caratteristiche strutturali di proteine ed enzimi alla loro funzione cellulare

##### *Modalità di verifica delle capacità*

Al termine del corso lo studente sarà sottoposto alla prova d'esame finale (orale, preceduto da test scritto) nella quale deve dimostrare la sua conoscenza sulle materie trattate nel corso e deve essere in grado di discutere su diverse tematiche utilizzando la terminologia appropriata

##### *Comportamenti*

Lo studente potrà acquisire:

- una visione molecolare dei meccanismi cellulari
- uso di terminologia appropriata per descrivere fenomeni biologici

##### *Modalità di verifica dei comportamenti*

Al termine del corso lo studente sarà sottoposto alla prova d'esame finale (orale, preceduto da test scritto) nella quale deve dimostrare la sua conoscenza sulle materie trattate nel corso e deve essere in grado di discutere su diverse tematiche utilizzando la terminologia appropriata

##### *Prerequisiti (conoscenze iniziali)*

Lo studente deve avere conoscenze di chimica generale e organica

##### *Programma (contenuti dell'insegnamento)*

- Le molecole della vita: monosaccaridi, disaccaridi e polisaccaridi: cellulosa, amido, glicogeno; gli amminoacidi quali elementi

## UNIVERSITÀ DI PISA

costitutivi delle proteine

- I lipidi di accumulo e i lipidi di membrana; le basi puriniche e pirimidiniche quali elementi costitutivi degli acidi nucleici; i nucleotidi e i desossi nucleotidi
- I cofattori piridinici ossido-riduttivi: le coppie NAD<sup>+</sup>/NADH e NADP<sup>+</sup>/NADPH; la coppia FAD/FADH<sub>2</sub>; il coenzima A; la struttura di alcune vitamine e loro derivati metabolici
- Funzioni biologiche delle proteine: gli alfa-amminoacidi; stato di ionizzazione e punto isoelettrico degli AA; gli L-AA quali costituenti delle proteine; nomenclatura per definire un peptide; punto isoelettrico di una proteina; elettroforesi/fo-calizzazione isoelettrica delle proteine
- Struttura primaria delle proteine; esempio del citocromo C; gli amminoacidi essenziali; il legame peptidico; la planarità del legame peptidico; gli angoli di rotazione C(alfa)-C e C(alfa)-N; il grafico di Ramachandran; la struttura secondaria delle proteine; l'alfa elica destrorsa
- La struttura a foglietti beta; strutture parallele ed antiparallele; stabilizzazione dei foglietti beta: la fibroina della seta
- La struttura terziaria delle proteine; interazioni elettrostatiche; forze di Van der Waals; legami a idrogeno nelle proteine; le forze idrofobiche; i ponti disolfuro; l'esperimento di Anfinsen; il processo di "folding" delle proteine
- Gli chaperone molecolari; la proteina disolfuro isomerasi. La struttura quaternaria delle proteine; le proteine fibrose; il collagene; modifiche post traduzionali degli amminoacidi: idrossi prolina; allisina; legami stabilizzanti le fibre di collagene; il processo di sintesi e maturazione del collagene; l'elastina; le alfa cheratine
- Introduzione allo studio degli enzimi: ordine di reazione e molecolarità; richiami di cinetica chimica: reazioni di ordine zero, primo e secondo ordine; reazioni consecutive e reazioni reversibili. L'equazione di Arrhenius; l'energia di attivazione di una reazione; lo stato di transizione
- Cinetica di enzimi semplici; equazione cinetica di Michaelis e Menten: analisi all'equilibrio e analisi allo stato stazionario. Definizione e significato dei parametri cinetici Km e Vmax; determinazione dei parametri cinetici Km e Vmax: il grafico dei doppi reciproci; la costante di specificità Kcat/KM: significato; concetto di perfezione catalitica di un enzima. Effetto del pH sull'attività degli enzimi
- La classificazione degli enzimi. Meccanismi di reazione a due substrati. Il sito attivo degli enzimi: modello statico e sito indotto. Fattori che influiscono sulla catalisi. La catalisi acido base; catalisi da ioni metallici: meccanismo d'azione dell'anidrasi carbonica; catalisi covalente nucleofila: proteasi a serina e meccanismo d'azione della chimotripsina; catalisi elettrofila per formazione di basi di Schiff: meccanismo d'azione delle transaminasi
- Considerazioni generali sulla modulabilità degli enzimi. Inibizione degli enzimi; inibizione reversibile ed irreversibile; inibizione competitiva classica e non classica; inibizione di tipo puramente non competitivo; inibizione di tipo misto; inibizione di tipo incompetitivo
- Gli enzimi allosterici; concetto di cooperatività positiva e negativa; valutazione del grado di cooperatività tramite l'equazione di Hill; modelli che spiegano i fenomeni di cooperatività: modello sequenziale e modello simmetrico
- Modifica covalente delle proteine; regolazione degli enzimi per modifica covalente. Cascate enzimatiche; cascate enzimatiche irreversibili e reversibili; modello della cascata monociclica. Cenni sulle proprietà delle cascate enzimatiche
- Relazione fra struttura e funzione delle proteine: mioglobina ed emoglobina; le diverse forme di emoglobina (HbA, HbA<sub>2</sub>, HbF). Il gruppo eme e la coordinazione del Fe(II); amminoacidi essenziali per la funzione di mioglobina ed emoglobina; ruolo della istidina prossimale (F8) e distale (E7); curve di saturazione di mioglobina ed emoglobina; effetto del pH ed effetto dell'anidride carbonica sull'emoglobina; effetto Bohr; il sito di interazione del 2,3-bisfosfoglicerato nell'emoglobina e suo effetto sul processo di ossigenazione; emoglobina S ed anemia falciforme
- Richiamo dei principi generali di assorbimento della radiazione elettromagnetica; la legge di Lambert e Beer; applicazioni della legge di Lambert e Beer: calcolo della concentrazione di cromofori da soli o in miscela; uso della retta di taratura per la misura della concentrazione proteica; determinazione della concentrazione enzimatica; unità enzimatica; misura della velocità di reazione al tempo zero; determinazione per via grafica dei parametri Vmax e Km
- Introduzione al metabolismo; catabolismo e anabolismo; strategie di regolazione degli enzimi chiave delle vie metaboliche; reazioni esoergoniche ed endoergoniche; ATP e suo ruolo nel metabolismo; composti "ad alta energia" e a "bassa energia": fosfoenolpiruvato, creatinafosfato, anidridi miste, fosfoanidridi, tioesteri ed esteri; ruoli di NAD e NADP nel metabolismo
- La glicolisi: le reazioni da glucosio a piruvato. Meccanismo delle reazioni catalizzate da gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi. Fermentazione lattica e alcolica
- Le reazioni della gluconeogenesi. Piruvato carbossilasi: ruolo della biotina. Fruttosio bisfosfatasi-1 e glucosio-6-fosfatasi: localizzazione. Ciclo di Cori. La regolazione di glicolisi e gluconeogenesi: esochinasi I e glucochinasi; regolazione di PFK-1 e FBPasi-1; piruvato chinasi: regolazione allosterica e modificazione covalente (isoenzima fegato). Regolazione ormonale di glicolisi e gluconeogenesi; il meccanismo di attivazione di PKA: proteine Gs, adenilato ciclasi, AMP ciclico, PKA. Fruttosio 2,6 BP ed enzima bifunzionale
- La degradazione del glicogeno: glicogeno fosforilasi e enzima deramificante. La sintesi del glicogeno: sintesi di UDPG, glicogeno sintasi, glicogenina, enzima ramificante. Regolazione allosterica e mediante modifica covalente della glicogeno fosforilasi. La fosforilasi chinasi; cenni sulla calmodulina. Regolazione mediante fosforilazione multipla di glicogeno sintasi. Regolazione della fosfoproteina fosfatasi 1 (PP1): inibitore 1 e regolazione ad opera della subunità G. Insulina e suo recettore con attività tirosina chinasi. Effetto di insulina sul metabolismo del glicogeno e sul trasporto del glucosio. Effetto di insulina sul metabolismo del glicogeno attraverso la modifica di GSK-3. Un esempio di controllo trascrizionale da parte dell'insulina: FOXO1
- La fase ossidativa della via dei pentoso fosfati; la fase non ossidativa: transchetolasi e transaldolasi; flessibilità della via metabolica. Xilulosio-5-fosfato: un regolatore del metabolismo del glucosio e dei grassi. Glutazione e NADPH; deficienza di glucosio-6-P deidrogenasi
- Formazione di acetil-CoA da piruvato: il complesso della piruvato deidrogenasi; meccanismo della reazione catalizzata dal complesso della piruvato deidrogenasi: funzioni di TPP, lipoammide, CoA-SH, NAD e FAD. Il ciclo di Krebs: considerazioni generali; le reazioni del ciclo di Krebs; bilancio complessivo del ciclo di Krebs; modulazione allosterica e covalente della piruvato deidrogenasi; regolazione di citrato sintasi, isocitrato deidrogenasi e alfa-chetoglutarato deidrogenasi; natura anfibolica del ciclo di Krebs; reazioni anaplerotiche: piruvato carbossilasi
- La catena di trasporto degli elettroni. Potenziale di riduzione e variazione di energia libera. Il complesso I della catena di trasporto



## UNIVERSITÀ DI PISA

degli elettroni: FMN, centri Fe-S. Coenzima Q. Il complesso II: succinato deidrogenasi. Il complesso III: ciclo del CoQ. Il complesso IV: da citocromo c a ossigeno. Il modello chemioosmotico di Mitchell. ATP sintasi: struttura; unità rotatoria e unità statica; meccanismo dell'ATP sintasi. Traslocasi dei nucleotidi adenilici e del fosfato. Sistema navetta del malato/aspartato e del glicerolo-3-fosfato. Bilancio produzione ATP per completa ossidazione glucosio

- Gli acidi grassi saturi e insaturi; cenni sulla nomenclatura. Cenni sui glicerofosfolipidi. I trigliceridi; mobilitazione dei trigliceridi nell'adipocita; destino del glicerolo. L'acil-CoA sintetasi; trasporto Acil-CoA nel mitocondrio tramite carnitina; beta-ossidazione acidi grassi saturi; bilancio ATP per completa ossidazione acido palmitico; beta-ossidazione acidi grassi insaturi (cenni). Sintesi e utilizzazione dei corpi chetonici
- Sintesi degli acidi grassi: proteina ACP, acetil-CoA carbossilasi e acido grasso sintasi. Sintesi del palmitato. Trasporto dell'acetyl-CoA fuori dal mitocondrio; citrato liasi ed enzima malico. Ruolo del malonil-CoA come regolatore della beta-ossidazione; regolazione ormonale della sintesi e degradazione degli acidi grassi: la modulazione dell'acetyl-CoA carbossilasi da PKA e AMPK. Cenni su allungamento e desaturazione degli acidi grassi, acidi grassi essenziali e sintesi dei trigliceridi
- Degradazione degli amminoacidi; ruolo delle transaminasi; glutammato deidrogenasi; ciclo glucosio-alanina; ciclo dell'urea; cenni sulla degradazione dello scheletro carbonioso degli amminoacidi: amminoacidi glucogenici e chetogenici; cenni sulla sintesi di amminoacidi non essenziali

### Bibliografia e materiale didattico

Testi consigliati:

David L Nelson, Michael M Cox I principi di biochimica di Lehninger Quinta edizione – 2010 Zanichelli

oppure

Donald Voet, Judith G Voet, Charlotte W Pratt Fondamenti di biochimica terza edizione -2007 - Zanichelli

oppure

Jeremy Berg, John Tymoczko, Lubert Stryer Biochimica Settima edizione 2012 Zanichelli

Testo consigliato come approfondimento:

Umberto Mura Enzimi in azione:fondamenti di cinetica e regolazione delle reazioni enzimatiche Prima edizione -2012 - EDISES srl – Napoli

Materiale didattico reperibile nel sito <https://polo3.elearning.unipi.it/course/view.php?id=2864>

### Modalità d'esame

L'esame è composto da una prova orale, preceduta da un test scritto

La prova non è superata se il candidato mostra di non conoscere le formule di strutture di composti fondamentali, di non essere in grado di esprimersi in modo chiaro e di usare la terminologia corretta, oppure non risponde correttamente a domande corrispondenti alla parte più basilare del corso.

Non sono previste prove intermedie

### Note

Commissione d'esame

Presidente: Mario Cappiello

Presidente supplente: Antonella Del Corso

Altri membri: Francesco Balestri, Giovanni Signore, Roberta Moschini, Simone Allegrini, Francesca Felice, Umberto Mura, Marcella Camici

Ultimo aggiornamento 09/04/2024 17:06