UNIVERSITÀ DI PISA

BIOCHIMICA

MARIO CAPPIELLO

Anno accademico	2021/22
CdS	SCIENZE BIOLOGICHE
Codice	064EE
CFU	9

Moduli	Settore/i	Tipo	Ore	Docente/i
BIOCHIMICA	BIO/10	LEZIONI	80	MARCELLA CAMICI MARIO CAPPIELLO UMBERTO MURA

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 conosceree 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 dovrà 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 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; ATP quale molecola di scambio energetico; la strategia di attivazione delle molecole; esempio: la sintesi della glutammica
- Formazione ed utilizzo dell'UDPG quale esempio di attivazione delle molecole; i cofattori piridinici ossido-riduttivi: le coppie NAD+/NADH e NADP+/NADPH; trasferimento dell'energia di un processo ossidativo:esempio della coppia enzimatica gliceraldeide 3-fosfato deidrogenasi e della 3-fosfoglicerato chinasi; il FAD; 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 Ramachandra; la struttura secondaria delle proteine; l'alfa elica destrorsa;
- La chiralità acquisita nel riarrangiamento secondario; la struttura a foglietti beta; strutture parallele ed antiparallele; stabilizzazione dei foglietti beta: la fibroina della seta;
- Strutture supersecondarie e domini strutturali; la stuttura 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
- Gli enzimi: generalità sull'importanza della catalisi enzimatica e sulla sua regolabilità, la classificazione degli enzimi; la cinetica e la termodinamica nelle reazioni chimiche; energia di attivazione; lo stato di transizione; definizione di velocità di reazione: velocità media e velocità puntuale di una reazione chimica;
- Il sito attivo degli enzimi; modello statico e sito indotto; meccanismi di reazione a due substrati;l'energetica di una reazione enzimatica;
- Fattori che influiscono sulla catalisi; la catalisi acido base; catalisi da metalli;l'importanza nella catalisi enzimatica della azione concertata dei gruppifunzionali; l'anidrasi carbonica; la catalisi covalente nucleofila; la saccarosio fosforilasi; Il meccanismo d'azione delle proteasi a serina: la chimotripsina;
- Catalisi elettrofila per formazione di basi di schiff; l'acetoacetato decarbossilasi; le transaminasi; Il pridossal fosfato; il meccanismo d'azione delle transaminasi; Introduzione alla cinetica enzimatica; enzimi Michaeliani;
- Analisi del meccanismo di reazione all'equilibrio;analisi del meccanismo di reazione allo stato stazionario; i parametri cinetici Vmax e Km: definizione e significato; determinazione per via grafica dei parametri cinetici Vmax e Km; La costante di specificità; la perfezione catalitica;
- Inibizione degli enzimi; inibizione reversibile ed irreversibile; inibizione competitiva; inibizione di tipo puramente non competitivo; inibizione di tipo misto; inibizione di tipo incompetitivo;
- Effetto del pH sull'attività enzimatica. Organizzazione strutturale degli enzimi; gli enzimi allosterici; il concetto di cooperatività positiva e negativa;
- l numero di Hill; modelli che spiegano fenomeni di cooperatività:modello sequenziale; modello simmetrico;
- Regolazione retroattiva delle vie metaboliche; regolazione degli enzimi per modifica covalente; modifiche covalenti cui vanno incontro le proteine; le cascate enzimatiche; cascate enzimatiche irreversibili (unidirezionali), attivazione degli zimogeni, la coagulazione del sangue;
- Le cascate reversibili (cicliche); le cascate monocicliche; i vantaggi offerti dalle cascate enzimatiche nella regolazione degli enzimi; ampiezza della modifica; il concetto di segnale di amplificazione, flessibilità e ultrasensibilità nelle cascate; il consumo energetico connesso alle cascate enzimatiche.
- Relazione fra struttura e funzione delle proteine; la funzione della mioglobina e dell'emoglobina; caratteristiche generali della mioglobina; l'interazione non covalente tra gruppo eme e mioglobina; il gruppo eme e la coordinazione del Fe(II); Il ruolo della istidina prossimale (F8); L'istidina distale (E7); il tetramero emoglobina; diverse forme di emoglobina (HbA, HbA2, HbF); Richiamo dei principi generali di assorbimento della radiazione elettromagnetica; origine della la legge di Lambert e Beer;
- Amminoacidi essenziali; mioglobina ed emoglobina a confronto; equilibrio di ossigenazione della mioglobina; L'emoglobina è una proteina allosterica; Il modello simmetrico e quello sequenziale applicati all'emoglobina; effetto del pH; effetto della anidride carbonica sull'emoglobina; effetto Bohr; il sito di interazione del 2,3-difosfoglicerato nell'emoglobina e suo effetto sul processo di ossigenazione; EmoglobinaS e l'anemia a cellule falciformi;
- Introduzione al metabolismo. Catabolismo e anabolismo. Ruoli di NAD e NADP. ATP e altri composti fosforilati. Reazioni della glicolisi da glucosio a gliceraldeide-3-fosfato. Meccanismo della reazione catalizzata da aldolasi.
- Meccanismo delle reazioni catalizzate da gliceraldeide-3-fosfato deidrogenasi. Fermentazione lattica e alcolica. Alimentazione glicolisi con fruttosio e galattosio
- Le reazioni della gluconeogenesi. Piruvato carbossilasi: ruolo della biotina. Fruttosio bisfosfatasi-1 e glucosio-6-fosfatasi: localizzazione. Ciclo di Cori. Esochinasi I e glucochinasi: regolazione. Regolazione di PFK-1 e FBPasi-1. Piruvato chinasi: regolazione allosterica e modificazione covalente (isoenzima fegato).
- Effetto ormoni su metabolismo glucosio. Proteine Gs e cAMP. 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 di glicogeno fosforilasi. Regolazione covalente di glicogeno fosforilasi e fosforilasi chinasi. Funzione di calmodulina. Regolazione mediante fosforilazione multipla di glicogeno sintasi. Regolazione di fosfoproteina fosfatasi: inibitore 1
- Regolazione di fosfoproteina fostatasi-1 da parte di subunità G. Effetto di insulina e glucagone (adrenalina). Effetto allosterico del

glucosio su glicogeno fosforilasi del fegato: meccanismo. Insulina: recettore con attività tirosina chinasica.

- Effetto di insulina su metabolismo glicogeno e trasporto glucosio. Un esempio di controllo trascrizionale da parte di 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. Glutatione 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. Le reazioni del ciclo di Krebs.
- Aconitasi: un enzima asimmetrico. 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. Potenziale di riduzione e variazione di energia libera. Complesso I della catena di trasporto degli elettroni: FMN, centri Fe-S. Coenzima Q. Complesso II: succinato deidrogenasi.
- Complesso III: ciclo del CoQ. Complesso IV: da cit c a Ossigeno. Il modello chemioosmotico di Mitchell. F0F1 ATPAsi: composizione. Unità rotatoria e unità statica. Ipotesi della modificazione del legame.
- Catalisi rotazionale. Traslocasi dei nucleotidi adenilici e del fosfato. Controllo della fosforilazione ossidativa da parte dell'accettore di 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. Esempi di glicerofosfolipidi
- I trigliceridi. Le lipasi ormono-sensibili. 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. Formazione e utilizzazione dei corpi chetonici. Acetil-CoA carbossilasi. Acido grasso sintasi. Proteina ACP. Formazione del palmitato.
- Esportazione Acetil-Coa dal mitocondrio al citosol tramite citrato. Enzima malico. Regolazione della beta-ossidazione tramite malonil-CoA. Regolazione ormonale della sintesi e degradazione degli acidi grassi. Acetil-CoA carbossilasi: modulazione da PKA e AMPK. Cenni su allungamento e desaturazione acidi grassi e sintesi trigliceridi. Acidi grassi essenziali. Degradazione amminoacidi. Ruolo delle transaminasi. Glutammato deidrogenasi. Ciclo glucosio-alanina. Ciclo dell'urea. Legame tra ciclo dell'urea e ciclo di Krebs. Cenni sulla degradazione dello scheletro carbonioso degli amminoacidi: amminoacidi glucogenici e chetogenici. Cenni sulla sintesi di amminoacidi non essenziali.

Bibliografia e materiale didattico

ISBN 9788808064035 David L Nelson, Michael M Cox I principi di biochimica di Lehninger Quinta edizione – 2010 Zanichelli or/and ISBN 978880817544-1 Donald Voet, Judith G Voet, Charlotte W Pratt Fondamenti di biochimica terza edizione -2007 - Zanichelli or/and ISBN 9788808198730 Jeremy Berg, John Tiymoczko, Lubert Stryer Biochimica Settima edizione 2012 Zanichelli Recommended reading includes: ISBN 978 88 7959 705 0 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 piú basilare del corso.
Non sono previste prove intermedie

Ultimo aggiornamento 20/07/2021 11:14