

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI TERAMO**  
**CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA VETERINARIA**

**C.I. “FISICA, CHIMICA E PROPEDEUTICA BIOCHIMICA” (10 CFU – 90 ORE)**

**IL CORSO INTEGRATO È SUDDIVISO IN TRE MODULI:**  
**ELEMENTI DI CHIMICA E MOLECOLE BIOLOGICHE (3 CFU – 27 ORE)**  
**BIOLOGIA MOLECOLARE (3 CFU – 27 ORE)**  
**FISICA (4 CFU – 36 ORE)**

**MODULO: ELEMENTI DI CHIMICA E MOLECOLE BIOLOGICHE**  
**(3 CFU – 27 ORE)**

**DOCENTE: ROBERTO GIACOMINELLI STUFFLER**

**OBIETTIVI DEL MODULO**

Lo studente acquisisce un'adeguata conoscenza e comprensione dei concetti di base della chimica, a partire dalle caratteristiche degli elementi e le loro proprietà per la formazione di legami costituenti le molecole organiche complesse, con la descrizione delle più comuni reazioni chimiche, enfatizzando quei principi che sono maggiormente rilevanti per il lavoro dell'esperto del “mondo animale”. Inoltre, il modulo fornisce le nozioni fondamentali della chimica organica e le proprietà principali dei composti organici d'interesse biologico; sono quindi prese in esame dal punto di vista strutturale e funzionale le più importanti classi di molecole biologiche: lipidi, carboidrati e proteine con lo studio di mioglobina, emoglobina e proteine del connettivo.

**IL LEGAME CHIMICO**

Il sistema periodico degli elementi. La configurazione elettronica esterna. Il volume atomico. La regola dell'ottetto. Il potenziale di ionizzazione di un elemento. L'affinità dell'elettrone. L'elettronegatività di un elemento. I due tipi fondamentali di legame chimico: il legame ionico e il legame covalente. La struttura delle sostanze ioniche. Il legame covalente (o omopolare). L'energia di legame. Il legame parzialmente ionico (polarizzato), le sostanze polari. Il legame dativo. I legami doppi e tripli. La valenza. La formula di struttura e la formula bruta. La mesomeria (o risonanza). L'energia di risonanza. La delocalizzazione degli elettroni. L'acqua: molecola polare. Il legame ione-dipolo. Gli ioni idrati. Il legame ione-dipolo indotto. I legami di Van der Waals. Il legame idrogeno. Le sostanze non polari, idrofobiche.

**LA IONIZZAZIONE DELL'ACQUA. GLI ACIDI E LE BASI**

Le proprietà dell'acqua. La costante di equilibrio ( $K_{eq}$ ) dell'acqua. La ionizzazione dell'acqua. Il prodotto ionico dell'acqua ( $K_w$ ). Il pH ed il pOH. La misura del pH, il pHmetro. Gli acidi e le basi. La teoria di Arrhenius. La teoria di Bronsted. Gli acidi e le basi coniugate. La forza degli acidi e delle basi. La dissociazione dell'acido acetico. La costante di acidità ( $K_a$ ). La relazione tra  $pK_a$  e pH. I sali. I sistemi tampone. L'equazione di Henderson-Hasselbalch. Modi per indicare la concentrazione di una soluzione: molarità, molalità, le percentuali, i rapporti volume/volume/volume.

**GLI IDROCARBURI E I GRUPPI FUNZIONALI**

Gli idrocarburi alifatici. La nomenclatura. Gli alcani. Gli alcheni. Gli alchini. Gli idrocarburi aromatici. I composti eterociclici. Gli alcoli primari, secondari e terziari I fenoli. L'acidità degli alcoli e dei fenoli. La basicità degli alcoli e dei fenoli. I tioli. Gli eteri. Il gruppo carbonilico. Le aldeidi e i chetoni. La nomenclatura. L'addizione di alcoli ad aldeidi e chetoni con formazione di semiacetali e semichetali. L'addizione di alcoli a semiacetali e semichetali con formazione di acetali

e chetali. La tautomeria cheto-enolica. L'acidità degli idrogeni in  $\alpha$  (alfa). I chinoni. L'ossidazione dei composti carbonilici. Gli acidi carbossilici. L'acidità. La risonanza dello ione carbossilato. L'effetto della struttura sull'acidità. La salificazione degli acidi. I chetoacidi. Gli esteri. I tioesteri. L'acetil-CoA. Le anidridi. La saponificazione degli esteri. Le ammine. La nomenclatura. Le ammidi. La nomenclatura. La basicità e l'acidità delle ammine e delle ammidi. Le immine. L'addizione di nucleofili all'azoto.

## **I LIPIDI**

La struttura, le proprietà e le funzioni dei lipidi, la classificazione. Gli acidi grassi saturi e insaturi, la loro nomenclatura, Gli eicosanoidi. Le proprietà chimico-fisiche degli acidi grassi. La relazione fra  $pK_a$  e pH. I lipidi di riserva: i trigliceridi, la loro localizzazione. I grassi e gli oli. Il test dello iodio. L'idrogenazione degli oli vegetali. Le funzioni biologiche dei trigliceridi. I lipidi di membrana: i glicerofosfolipidi e gli sfingolipidi. Gli steroidi. Il colesterolo, gli ormoni steroidei, gli ormoni adrenocorticoidi, i sali biliari. Gli aggregati di lipidi anfipatici in acqua: le micelle, i doppi strati, i liposomi.

## **I CARBOIDRATI**

La struttura, le proprietà e le funzioni dei carboidrati. La classificazione dei monosaccaridi. La chiralità dei monosaccaridi. Gli stereoisomeri. Gli enantiomeri e gli epimeri. Gli zuccheri ciclici: gli emiacetali e gli emichetali. Le strutture furanosiche e piranosiche dei monosaccaridi, gli anomeri. Le convenzioni per scrivere le strutture cicliche dei monosaccaridi: le formule conformazionali, le proiezioni di Fischer, le formule di Haworth. L'ossidazione e la riduzione degli zuccheri. Gli acetali e i chetali. Il legame glicosidico. I disaccaridi: il maltosio, il cellobiosio, il lattosio, il saccarosio. I polisaccaridi animali: il glicogeno. I polisaccaridi vegetali: l'amido e la cellulosa. I deossizuccheri.

## **GLI AMMINOACIDI, I PEPTIDI E LE PROTEINE**

Le funzioni biologiche delle proteine. La classificazione e le proprietà strutturali comuni degli amminoacidi presenti nelle proteine. Gli enantiomeri. La stereochimica e il comportamento acido-base degli amminoacidi. Le molecole anfotere. Le famiglie amminoacidiche. La struttura e le proprietà delle catene laterali degli amminoacidi standard, il legame disolfuro, gli amminoacidi non standard. I peptidi e la risonanza del legame peptidico. La conformazione proteica. La struttura primaria. Le strutture secondarie: l'alfa elica e il foglietto beta. Le strutture supersecondarie. I domini e la struttura terziaria. La struttura quaternaria e il controllo dell'attività biologica. Gli oligomeri. I complessi macromolecolari. Le dimensioni delle proteine. Le proteine semplici e le proteine coniugate. Il grafico di Ramachandran e suo significato. Le proteine fibrose e globulari. Le proprietà comuni delle proteine globulari. Rapporto tra struttura e funzione proteica. La denaturazione e gli agenti denaturanti, la rinaturazione proteica. Le proteine omologhe e gli amminoacidi invariati. La dissociazione proteica. L'avvolgimento proteico tramite intermedi discreti.

## **LE PROTEINE DEL CONNETTIVO**

Il collagene e le sue funzioni. Il tropocollagene. I tipi di collagene. La prolina e la lisina nel collagene. La glicoproteina collagene. La temperatura di fusione del collagene. La maturazione del collagene. La procollagene peptidasi. Il collagene al microscopio elettronico. I legami crociati intra e intermolecolari. Le collagenasi. L'elastina: struttura e funzione. I legami trasversali covalenti.

## **LA MIOGLOBINA (Mb) E L'EMOGLOBINA (Hb)**

Il trasporto e l'immagazzinamento dell'ossigeno: il ruolo dell'emoglobina (Hb) e della mioglobina (Mb). La struttura delle due molecole; l'avvolgimento globinico. Il gruppo eme e sua localizzazione. Le forme più importanti di mioglobina. Metamioglobina e metaemoglobina. La tossicità del monossido di carbonio (CO). Il gene della Mb. L'evoluzione delle proteine: Mb ed Hb

come esempi. Le emoglobine più importanti. Il ruolo dell'avvolgimento globinico. La ossi e la deossiemoglobina. Il legame dell'ossigeno da parte della Mb e della Hb. Curve di saturazione della Mb e della Hb con l'ossigeno. Le proteine allosteriche. Il comportamento allosterico dell'Hb e suo meccanismo di regolazione. Gli effettori allosterici omotropici ed eterotropici. Il ruolo del pH, della anidride carbonica e del 2,3 bisfosfoglicerato sul legame dell'ossigeno. L'effetto Bohr. Il coefficiente di Hill. Le interazioni tra le subunità della Hb. Da deossi- ad ossiHb: la transizione allosterica. I legami salini. L'effetto Bohr. Le funzioni di trasporto dell'Hb. L'emoglobina fetale. Le Hb anormali e patologiche. L'anemia a cellule falciformi: le caratteristiche di questa malattia molecolare. L'HbS. Il ruolo del fingerprint nell'individuazione della mutazione. Il tratto a cellule falciformi. L'anemia falciforme e la malaria: il significato del polimorfismo bilanciato. L'Hb di Hammersmith. Le  $\alpha$ - e  $\beta$ -talassemie.

### **VOLUMETRIA E PESATE CON PREPARAZIONE DI SOLUZIONI TAMPONE (LEZIONE PRATICA)**

Si forniscono gli elementi basilari per una corretta manualità di laboratorio; inoltre, l'esercitazione migliora la comprensione, attraverso il lavoro manuale, degli argomenti studiati nelle lezioni frontali. Viene insegnato come si preparano le concentrazioni dei vari reagenti, quali sono e come si usano le bilance, gli ausili materiali per la misurazione delle masse e dei volumi ed il pHmetro. Infine, ognuno è messo in grado di preparare una qualsivoglia soluzione tampone.

### **MODULO: BIOLOGIA MOLECOLARE (3 CFU – 27 ORE)**

**DOCENTE: ROBERTO GIACOMINELLI STUFFLER**

#### **OBIETTIVI DEL MODULO**

Lo studente studia l'organizzazione delle cellule procariotiche, eucariotiche e acquisisce una solida conoscenza del DNA e del flusso dell'informazione genetica; nello specifico, egli deve possedere solide conoscenze sulla duplicazione, la trascrizione del DNA e la sintesi proteica. Inoltre, il modulo ha lo scopo di fornire solidi concetti di base relativi all'ingegneria genetica, con l'apprendimento delle tecniche più aggiornate di clonaggio genico.

#### **LE MEMBRANE BIOLOGICHE**

Le membrane biologiche. La struttura della membrana cellulare: proprietà e costituenti molecolari. I lipidi e le proteine presenti nelle membrane biologiche. Il modello a mosaico fluido. Proteine integrali e periferiche. La mobilità dei lipidi. La fluidità di membrana. Gli effetti della temperatura e della composizione sulla fluidità. La asimmetria di membrana. I sistemi di trasporto di membrana: il trasporto passivo, il trasporto facilitato (le proteine trasportatrici e i canali di membrana) e il trasporto attivo primario e secondario. La pompa sodio potassio e la pompa calcio-ATPasi.

#### **LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEI PROCARIOTI**

I due tipi di acidi nucleici: l'acido ribonucleico (RNA) e l'acido deossiribonucleico (DNA). Il DNA come portatore dell'informazione genetica. Gli esperimenti dimostranti che i geni sono costituiti da DNA. La composizione in basi azotate del DNA e le regole di Chargaff. La teoria della doppia elica. La struttura chimica e le proprietà fisiche del DNA e dell'RNA. La temperatura di fusione ( $T_m$ ), la denaturazione, le dimensioni delle molecole di DNA. La natura semiconservativa della replicazione del DNA. L'esperimento di Meselson-Sthal. Il flusso dell'informazione genetica. La colinearità geni-proteine. La replicazione del DNA nei procarioti. Le DNA polimerasi in E.coli. Enzimi e fattori proteici coinvolti nella replicazione. Le tappe della replicazione: inizio, allungamento e termine. La teoria evolutiva della cellula. Le mutazioni: le sostituzioni, le delezioni,

le inserzioni. I dimeri di timina. I sistemi cellulari di riparazione del DNA. I mutageni. La trascrizione del DNA nei procarioti. La RNA polimerasi in E.coli. L'inizio della trascrizione e la sua regolazione. I siti promotori. La sequenza consenso. L'allungamento della catena nucleotidica: i modelli a bolla di trascrizione e a bruco geometra. Il termine della trascrizione fattore rho-indipendente e fattore rho-dipendente. L'RNA messaggero poligenico di una cellula procariotica. La sintesi proteica nei procarioti. L'RNA transfer. Le basi azotate insolite dell'RNA transfer. L'attivazione degli amminoacidi. Le amminoacil-t-RNA sintetasi. Il codice genetico e le sue importanti caratteristiche. L'ipotesi dell'oscillazione. Il ribosoma e la sua complessa macchina molecolare. I poliribosomi. Le tappe della sintesi proteica: inizio, allungamento e termine. La fedeltà della sintesi proteica. Le modificazioni post-traduzionali delle catene polipeptidiche.

## **LA BIOLOGIA MOLECOLARE DEGLI EUCARIOTI**

Geni e DNA degli eucarioti. Il genoma degli eucarioti. Definizione di gene. I geni strutturali e le sequenze regolative. Le sequenze ripetitive. I geni discontinui: gli introni e gli esoni. L'evoluzione delle proteine. Gli spliceosomi. Il meccanismo di splicing. Lo splicing aberrante e lo splicing alternativo. La struttura fisica e chimica della cromatina. Le proteine basiche istoniche, i nucleosomi e le strutture regolari di ordine superiore della cromatina. La replicazione del DNA negli eucarioti. L'assemblaggio dei nucleosomi. Le DNA polimerasi eucariotiche. La trascrizione negli eucarioti. Le RNA polimerasi eucariotiche. Caratteristiche generali dei promotori. I fattori di trascrizione. Le sequenze stimolatrici (enhancer). Le tappe della trascrizione. La maturazione dell'RNA messaggero. La struttura dei ribosomi negli eucarioti. Le tappe della sintesi proteica negli eucarioti. Gli inibitori della replicazione, della trascrizione e della sintesi proteica nei procarioti e negli eucarioti.

## **LA TECNOLOGIA DEL DNA RICOMBINANTE**

Gli enzimi di restrizione: principali caratteristiche e funzioni. Il sistema di restrizione-modificazione. Gli enzimi di restrizione di tipo I, tipo II e tipo III. Il meccanismo d'azione dell'endonucleasi di restrizione EcoRI. La trascrittasi inversa. I virus a RNA. L'infezione retrovirale di una cellula di mammifero e l'integrazione del retrovirus nel cromosoma dell'ospite. I geni dei retrovirus. Il genoma del virus del sarcoma aviario. La tecnologia del DNA ricombinante e le sue applicazioni. Il clonaggio genico: le metodologie principali, i passaggi principali. I vettori di clonaggio più comunemente usati nei batteri: i plasmidi, i batteriofagi e i cosmidi. Il plasmide pBR322. Il batteriofago  $\lambda$  (lambda). L'ibridazione su colonia. La libreria genomica. La costruzione di una libreria di cDNA a partire dall'mRNA. Lo screening mediante ibridazione. La clonazione e l'espressione in E.coli del DNA di mammifero. Esempi di inserzione ed espressione in cellule ospiti eucariotiche di geni eucariotici. La mutagenesi sito-specifica. La PCR. Materiali e strumenti necessari per effettuare una PCR. Il principio della PCR. La Taq polimerasi. La sensibilità della PCR. La natura esponenziale della PCR. Gli strumenti necessari. Le applicazioni della PCR.

### **Modalità di accertamento della preparazione**

L'esame verte su due prove in itinere, una per modulo e su una prova orale.

Il voto finale del corso integrato deriva dalla media ponderata tra il voto dei moduli di "Elementi di Chimica e Molecole Biologiche" e "Biologia Molecolare" e quello del modulo di "Fisica".

Il docente riceve gli studenti tutti i giorni previo appuntamento.

### **Testi consigliati**

- J.E. Brady, J.R. Holum, Chimica, Ed. Zanichelli, Bologna;
- H. Hart, Chimica organica, Zanichelli, Bologna;
- A.L. Lehninger, Principi di biochimica, Zanichelli, Bologna;
- L. Strayer, Biochimica, Zanichelli, Bologna;
- Harper's, Biochimica illustrata, EMSI, Roma;
- Slide delle lezioni.