

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:

FISICA MEDICA (4 CFU – 36 ORE)

ELEMENTI DI CHIMICA (2 CFU – 18 ORE)

**PROPEDEUTICA BIOCHIMICA ED
ELEMENTI DI BIOLOGIA MOLECOLARE (4 CFU – 36 ORE)**

**MODULO: PROPEDEUTICA BIOCHIMICA ED
ELEMENTI DI BIOLOGIA MOLECOLARE (4 CFU – 36 ORE)**
DOCENTE: ROBERTO GIACOMINELLI STUFFLER

OBIETTIVI DEL MODULO

Il modulo fornisce le nozioni fondamentali della propedeutica alla biochimica con lo studio e l'analisi delle proprietà principali dei composti organici di interesse biologico; sono esaminate dal punto di vista strutturale e funzionale le più importanti classi di molecole biologiche come i lipidi, i carboidrati e le proteine con lo studio della mioglobina, dell'emoglobina e delle proteine del connettivo. Inoltre, l'allievo studia l'organizzazione delle cellule procariotiche, eucariotiche e apprende il flusso dell'informazione genetica; nello specifico, egli dovrà possedere solide conoscenze sul DNA, sulla duplicazione, sulla trascrizione e sulla sintesi proteica. Inoltre, il modulo ha lo scopo di far conoscere i concetti base relativi all'ingegneria genetica, con l'apprendimento delle più importanti tecniche di clonaggio genico.

**IL MODULO “PROPEDEUTICA BIOCHIMICA ED ELEMENTI DI BIOLOGIA
MOLECOLARE” È SUDDIVISO IN DUE UNITÀ DIDATTICHE:**

- A) UNITÀ DIDATTICA “PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA”**
- B) UNITÀ DIDATTICA “BIOLOGIA MOLECOLARE”**

A) UNITÀ DIDATTICA “PROPEDEUTICA ALLA BIOCHIMICA” (2 CFU)

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 il suo significato. Le proteine fibrose e globulari. Le proprietà comuni delle proteine globulari. Il rapporto tra la struttura e la funzione proteica. La denaturazione e gli agenti denaturanti, la rinaturazione proteica. Le proteine omologhe e gli amminoacidi invarianti. 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 la sua localizzazione. Le forme più importanti di mioglobina. La metamioglobina e la 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 deossi-emoglobina. Il legame dell'ossigeno da parte della Mb e della Hb. Le curve di saturazione della Mb e della Hb con l'ossigeno. Le proteine allosteriche. Il comportamento allosterico dell'Hb e il 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 ossi-Hb: 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 α - e β -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.

B) UNITÀ DIDATTICA “BIOLOGIA MOLECOLARE” (2 CFU)

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. Gli enzimi e i 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 brucio 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: acido nalidixico e novobiocina (proc.); della trascrizione: rifamicina e rifampicina (proc.), actinomicina-D e acridina (proc. e euc.), alfa amanitina (euc.); della sintesi proteica: streptomicina (proc.), tetraciclina (proc.), cloranfenicolo (proc.) e cicloesimide (euc.), eritromicina (proc.), puromicina (proc. e euc.), tossina difterica (euc.).

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 λ (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 del modulo verte su una prova orale; lo studente può scegliere se sostenere contemporaneamente entrambe le unità didattiche oppure in appelli diversi.

Il voto finale del corso integrato deriva dalla media ponderata tra i tre moduli.

Il docente riceve gli studenti tutti i giorni previo appuntamento.

Testi consigliati

- H. Hart, Chimica organica, Zanichelli, Bologna;
- A.L. Lehninger, Principi di biochimica, Zanichelli, Bologna;
- L. Strayer, Biochimica, Zanichelli, Bologna;
- D. Voet, J.G. Voet, W. Pratt, Fondamenti di Biochimica, Zanichelli, Bologna;
- Harper's, Biochimica illustrata, EMSI, Roma;
- Slide delle lezioni.

Le slide delle lezioni sono disponibili su "e-learning.unite.it" in formato PDF.