

### Informazioni Corso

Scuola di Farmacia e Nutraceutica  
Corso di Laurea Magistrale in Farmacia  
**Biochimica Generale ed Applicata**  
SSD: BIO/10  
CFU: 9  
Anno II, semestre II  
a.a. 2020/21

### Informazioni Docente

Prof.ssa **Heather Mandy Bond**, Ricercatore del Settore Scientifico Disciplinare BIO/10, Biochimica, presso il Dipartimento di Medicina Sperimentale e Clinica, Università degli Studi "Magna Græcia" di Catanzaro.  
email [bond@unicz.it](mailto:bond@unicz.it) , TEL. 0961/3694081  
RICEVIMENTO: 9-12 martedì e giovedì, Campus Germaneto, Biosciences, Livello VII, appuntamento via e-mail.

### Descrizione del Corso

Il corso ha lo scopo di fornire gli elementi utili per la conoscenza delle biomolecole e del loro coinvolgimento nel metabolismo cellulare e di spiegare le tecniche biochimiche che possono essere usate per la caratterizzazione e analisi delle diverse macromolecole.

### Obiettivi del Corso e Risultati di apprendimento attesi

Obiettivo del corso è di far acquisire agli studenti una visione integrata dei sistemi biochimici che compongono il metabolismo cellulare. Lo studente dovrà conoscere la struttura degli intermedi e le reazioni delle diverse vie metaboliche e saper correlare il loro coinvolgimento nel metabolismo energetico; dovrà inoltre conoscere le più importanti metodologie biochimiche, con particolare attenzione ai loro principi teorici ed alle loro applicazioni.

### Programma

#### AMMINOACIDI E PROTEINE

Gli amminoacidi delle proteine: nomenclatura, struttura e classificazione. Amminoacidi rari, amminoacidi non proteici, amminoacidi essenziali. Proprietà chimico-fisiche degli amminoacidi: solubilità, proprietà acido-basiche, proprietà ottiche. Classificazione delle proteine in base alla composizione, alla solubilità e alla funzione. Il legame peptidico. Peptidi naturali. La struttura secondaria delle proteine: proprietà dell'alfa-elica, la struttura a pieghe (beta cheratine), l'elica del collagene. Struttura terziaria delle proteine. Struttura quaternaria delle proteine oligomeriche. Rapporti tra struttura e funzione delle proteine. Proprietà chimico-fisiche delle proteine; peso molecolare, punto isoelettrico, solubilità. Denaturazione e rinaturazione delle proteine.

  
Dott.ssa Heather M. Bond



Struttura dell'eme, della mioglobina ed emoglobina. Curva di saturazione dell'emoglobina con l'ossigeno. Meccanismo di regolazione dell'emoglobina: ruolo del difosfoglicerato e del pH. Variazioni conformazionali dell'emoglobina ossigenata e deossigenata. Emoglobine patologiche. Struttura, funzione e cambiamenti mutazionali della sequenza degli amminoacidi.

## ENZIMI

Nomenclatura e classificazione. Proprietà generali: capacità catalitica, specificità nei confronti del substrato, effetto sull'energia di attivazione della reazione. Cofattori enzimatici: ioni metallici e coenzimi. Proprietà e conformazione del sito attivo, modelli di interazione enzima-substrato, legami coinvolti nella formazione del complesso enzima-substrato. Fattori che influenzano la velocità delle reazioni enzimatiche: concentrazione del substrato, temperatura, pH. Cinetica delle reazioni enzimatiche: teoria di Michaelis-Menten, la costante di Michaelis-Menten. Equazione di Lineweaver-Burk. Metodi di dosaggio degli enzimi. Unità enzimatica, attività specifica. Inibizione enzimatica: tipo competitivo, tipo non competitivo. Meccanismi di regolazione enzimatica: regolazione della sintesi (induzione e repressione) e della degradazione. Regolazione dell'attività: concetto di "enzima regolatore", effetti eterotropi (inibizione tipo feedback), effetti omotropici (cooperatività positiva e negativa, caratteristiche cinetiche e significato), modificazioni covalenti degli enzimi. Gli isoenzimi: concetto e significato fisiologico.

## METABOLISMO

Significato generale del metabolismo intermedio, le varie vie metaboliche (anaboliche, cataboliche, anfiboliche), i vari stadi del metabolismo intermedio. Metabolismo di carboidrati in confronto di lipidi. Cambiamento di metabolismo in hypoxia e cancer.

## METABOLISMO DEI GLICIDI

Richiami della struttura chimica e delle proprietà dei monosaccaridi: i principali tipi di composti e loro derivati. Proprietà riducenti, stereoisomeria, muta-rotazione. I principali derivati dei monosaccaridi. Richiami sulla struttura e la proprietà dei disaccaridi e dei polisaccaridi: i principali disaccaridi naturali, i più importanti omopolisaccaridi ed etero-polisaccaridi naturali.

Significato della glicolisi anaerobica, localizzazione degli enzimi glicolitici, le fasi della glicolisi, le singole reazioni della glicolisi e degli enzimi coinvolti, bilancio chimico ed energetico della glicolisi. Esempi di regolazione metabolica a livello della glicolisi.

Decarbossilazione ossidativa dell'acido piruvico: il sistema multi-enzimatico della piruvato-deidrogenasi. Il ciclo di Krebs: significato generale; bilancio chimico ed energetico, le singole reazioni del ciclo, gli enzimi e la loro localizzazione, esempi di regolazione.

La fosforilazione ossidativa; il modello chemio-osmotico, i disaccoppianti della fosforilazione ossidativa, il controllo respiratorio, i principali inibitori della catena e della fosforilazione ossidativa. Il ciclo dell'ATP.

  
Dott.ssa Heather M. Bond



Catabolismo degli altri monosaccaridi: galattosio, mannosio, fruttosio.

Via dell'ossidazione diretta del glucosio (via del pentosio fosfato): significato biologico, le singole reazioni, gli enzimi e la loro localizzazione.

La biosintesi dei monosaccaridi: le reazioni anaplerotiche del metabolismo, gluconeogenesi. Biosintesi, catabolismo ed regolazione del glicogeno.

## METABOLISMO DEI LIPIDI

Richiami sulla struttura e le proprietà degli acidi grassi saturi ed insaturi, dei gliceridi, degli steroli. Lipidi con Omega 3. I lipidi complessi: fosfogliceridi e sfingolipidi. La struttura delle membrane biologiche: il ruolo e la struttura dei principali lipidi, i fosfolipidi e i glicolipidi, le proteine e le glicoproteine di membrana.

Digestione ed assorbimento. Chilomicroni e lipoproteine.

Lipolisi e sua regolazione. Attivazione degli acidi grassi e loro trasporto carnitina-mediato nei mitocondri. Beta-ossidazione degli acidi grassi e sua regolazione. Corpi chetonici.

Biosintesi degli acidi grassi saturi: formazione del malonil-CoA, il sistema multi-enzimatico dell'acido grasso sintetasi, l'allungamento della catena carboniosa degli acidi grassi, localizzazione dei rispettivi enzimi e sua regolazione. Bilancio energetico Biosintesi del colesterolo, regolazione di HMG-CoA riduttasi.

La formazione degli ormoni steroidei e gli acidi biliari.

## METABOLISMO DELLE PROTEINE

Catabolismo delle proteine: endopeptidasi e esopeptidasi. Reazioni generali del catabolismo degli aminoacidi: deaminazione, transaminazione, decarbossilazione. Metabolismo terminale dell'azoto proteico: sintesi di carbamilo fosfato, ciclo dell'ornitina, cicli sussidiari al ciclo dell'ornitina e la localizzazione intracellulare dei relativi enzimi, bilancio energetico e fattori di regolazione del ciclo dell'ornitina. Metabolismo dei singoli aminoacidi: aminoacidi glucogenici e chetogenici.

## ORMONI

Classificazione chimica. Meccanismo di azione a livello molecolare e biosintesi di Insuline e glucagone.

## BIOSINTESI DEGLI ACIDI NUCLEICI

Basi puriniche e pirimidiniche. Nucleosidi, legame fosfodiesterico. Dinucleotidi, polinucleotidi. Struttura del DNA: doppia elica, complementarità, regole di Chargaff; proprietà del DNA in soluzione. Denaturazione del DNA: effetto ipercromico. Polarità antiparallela dei filamenti del DNA. Dimensioni delle molecole del DNA nativo. Struttura circolare del DNA batterico. Sequenze ripetitive del DNA degli animali superiori. Struttura dell'RNA messaggero, transfer e ribosomale. Dimensioni molecolari delle varie specie di RNA. Complessi acido nucleico-proteina: ribosomi e virus.

*Heather M. Bond*  
Dott.ssa Heather M. Bond



La replicazione del DNA: meccanismo semiconservativo. DNA polimerasi: funzioni e meccanismo di azione. DNA ligasi. Replicazione in vivo del DNA a doppio filamento. Riparazione del DNA. La trascrittasi inversa. Trascrizione del DNA da parte di RNA polimerasi DNA-dipendenti. Replicazione dell'RNA virale: DNA replicasi. Polinucleotide fosforilasi. Meccanismo molecolare della maturazione degli RNA. Metabolismo dei nucleotidi: biosintesi *ex novo* di purine e pirimidine. Catabolismo delle purine e pirimidine. Via di recupero delle purine. Inibitori della biosintesi purinica e pirimidinica come agenti chemioterapici. Xantina ossidasi, gotta, sindrome di Lesch-Nyhan.

## BIOSINTESI DELLE PROTEINE

Biosintesi proteica: codice genetico. Universalità e degenerazione del codice genetico. Direzione della lettura dell'RNA messaggero. Ruolo del tRNA. Specificità e reazione degli enzimi attivanti. Struttura dei ribosomi. Ribosomi come sito della sintesi proteica. Formazione del legame peptidico. Inizio, allungamento e terminazione della catena polipeptidica. Inibitori della sintesi proteica. Cenni sul meccanismo di azione degli antibiotici nella biosintesi del DNA, RNA e proteine. Esigenze energetiche della sintesi proteica. Regolazione della biosintesi proteica: induzione e repressione enzimatica.

## Biochimica applicato

I PRINCIPI GENERALI DELLE COLTURE CELLULARI. Allestimento di colture batteriche. Colture di cellule di mammifero: aspetti teorici, equipaggiamento, principi di sterilità, terreni di coltura, conta cellulare, curva di crescita e tempo di duplicazione. Colture primarie e linee cellulari. Conservazione di cellule.

LA CENTRIFUGAZIONE. Principi e generalità. Centrifughe e rotori.

TECNICHE SPETTROSCOPICHE. Spettroscopia nell'ultravioletto, visibile e nell'infrarosso. Legge di Lambert-Beer.

TECNICHE CROMATOGRAFICHE. Polimeri utilizzati per le fasi stazionarie. Cromatografia su strato sottile e su colonna. Cromatografia di assorbimento, di ripartizione, a scambio ionico, di gel filtrazione, di interazione idrofobica, di affinità. Applicazioni.

TECNICHE ELETTROFORETICHE. Mobilità elettroforetica. Elettroforesi su carta, su acetato di cellulosa e su gel. Elettroforesi verticale ed orizzontale. Elettroforesi di proteine (SDS-PAGE) e di acidi nucleici: determinazione della mobilità elettroforetica. Isoelettrofocalizzazione ed elettroforesi bidimensionale.

TECNICHE IMMUNOCHEMICHE. Antisieri ed anticorpi monoclonali e policlonali. Immunoprecipitazione. Western blotting, ELISA.

  
Dott.ssa Heather M. Bond



TECNICHE DI BIOLOGIA MOLECOLARE. Enzimi di restrizione e modificazione. Vettori plasmidici, fagi, cosmidi. Isolamento di acidi nucleici. Separazione e rivelazione di acidi nucleici: Southern e Northern blotting. Determinazione della sequenza del DNA. Amplificazione del DNA mediante la reazione di polimerizzazione a catena (PCR). Clonaggio del DNA in plasmidi ed altri vettori. Trasferimento di DNA in cellule di mammifero: trasfezione transiente e selezione di cloni stabili. Produzione di proteine ricombinanti in sistemi d'espressione procariotici ed eucariotici. "Microarray" di DNA.

PRINCIPI DI BIOINFORMATICA. Interrogazioni di banche dati biologiche.

**Stima dell'impegno orario richiesto per lo studio individuale del programma**  
153 ore.

**Metodi Insegnamento utilizzati**

Lezioni frontali: 72 ore.

**Risorse per l'apprendimento**

*Testi consigliati per la consultazione (Edizione più recente)*

NELSON, COX - I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER, Ed. Zanichelli  
CAMPBELL. BIOCHIMICA EDISES ALLISON

MAURO MACCARRONE – Metodologie Biochimiche e biomolecolare. Ed. Zanichelli

FONDAMENTI DI BIOLOGIA MOLECOLARE. Zanichelli Wilson k., Walker, J.  
METODOLOGIE BIOCHIMICHE.

Le bioscienze biotecnologie in laboratorio. Raffaello Cortina Editore  
Bonaccorsi di Patti, Contestabile, Di Salvo.  
METODOLOGIE BIOCHIMICHE. Ambrosiana

**Attività di supporto**

Il docente titolare riceve gli studenti via email

**Modalità di frequenza**

La frequenza è obbligatoria.

*Heather M. Bond*  
Dott.ssa Heather M. Bond



### Modalità di accertamento

Durante il corso saranno effettuate prove in itinere la cui partecipazione è facoltativa.

La verifica a fine corso avverrà con una prova scritta e un colloquio e per il voto finale saranno utilizzati i seguenti criteri di valutazione:

	CONOSCENZA E COMPRESIONE DEGLI ARGOMENTI	CAPACITA' DI ANALISI E SINTESI	UTILIZZO DEL LINGUAGGIO DI COMUNICAZIONE
NON IDONEO	Importanti carenze. Significative in accuratezze.	Irrilevanti. Frequenti generalizzazioni. Incapacità di sintesi.	Inappropriato.
18 – 20	Appena sufficienti con evidenti arrangiamenti.	Appena sufficienti.	Appena sufficienti.
21 – 23	Conoscenza routinaria.	E' in grado di analisi e sintesi corrette. Argomenta in modo buono.	Utilizza un linguaggio corretto.
24 – 26	Conoscenza buona.	Ha buona capacità di analisi e sintesi.	Utilizza un linguaggio adeguato.
27 – 29	Conoscenza più che buona	Ha una capacità più che buona di analisi e sintesi	Utilizza un linguaggio tecnico.
30 – 30 e lode	Massimo livello di conoscenza e comprensione	Ha il massimo delle capacità di analisi e sintesi	Utilizza un linguaggio specifico ed altamente professionale

*Heather M. Bond*

Dott.ssa Heather M. Bond

