

SCHEDA DELL'INSEGNAMENTO DI CHIMICA BIOLOGICA E LABORATORIO BIOLOGICAL CHEMISTRY AND LABORATORY

Il corso di "Chimica Biologica e laboratorio" (*curriculum* Biologia della Nutrizione) è costituito da (9 CFU) (comprensivo di lezioni frontali, esercitazioni in aula e ricapitolazioni e di esercitazioni di laboratorio).

OBIETTIVI FORMATIVI DA ACQUISIRE:

Conoscenze:

Conoscenze delle caratteristiche strutturali e funzionali delle biomolecole, delle proprietà degli enzimi, dell'organizzazione del materiale genetico, e dei principali processi metabolici di carboidrati, lipidi e proteine.

Capacità:

Capacità di applicare metodologie biochimiche e biotecnologiche di base.
Analisi biologiche, biochimiche e biomediche.

Comportamenti:

Valutazione, interpretazione di dati sperimentali di laboratorio, sicurezza in laboratorio, valutazione della didattica

PROPEDEUTICITA'

Chimica organica e laboratorio

PREREQUISITI:

Conoscenze di Termodinamica, Matematica e Citologia ed Istologia.

NOTA:

L'esame di "Chimica Biologica e laboratorio" è propedeutico agli esami di "Biologia Molecolare e laboratorio", "Fisiologia e laboratorio", "Genetica e ingegneria genetica e laboratorio".

PROGRAMMA

Modulo di Chimica Biologica e laboratorio

- Introduzione alla Biochimica
- Principali classi di biomolecole - Gruppi funzionali nelle biomolecole – Struttura tridimensionale: configurazione e conformazione – Interazioni tra molecole (legame idrogeno, interazioni ioniche, interazioni di van der Waals, interazioni idrofobiche)

Proteine

- Struttura: Le unità monomeriche: caratteristiche strutturali e proprietà chimiche degli amminoacidi (curve di titolazione, punto isoelettrico; caratteristiche delle catene laterali) – Formazione della catena polipeptidica e livelli superiori di organizzazione strutturale: alfa-elica, strutture beta, inversioni di catena, strutture supersecondarie, struttura terziaria, domini, struttura quaternaria – Relazioni struttura e funzione: denaturazione/rinaturazione; effetti della temperatura, del pH, di denaturanti chimici (urea, guanidina, sodio dodecil-solfato, agenti riducenti).
- Analisi: Principi di purificazione e caratterizzazione delle proteine.
- Funzione: Proteine fibrose: alfa-cheratine - beta-cheratine – collagene.
- Funzione: Proteine globulari. Mioglobina e Emoglobina.
- Funzione: Enzimi. Concetti di base: cinetica delle reazioni non catalizzate; variazione dell'energia libera ΔG – relazione tra ΔG e costante di equilibrio di una reazione. Classificazione degli enzimi, specificità di reazione, il sito attivo, interazione con il substrato – Meccanismi di catalisi enzimatica - Cinetica enzimatica: il modello di Michaelis-Menten; trasformazioni dell'equazione di Michaelis-Menten: il grafico dei doppi reciproci – Inibizione enzimatica reversibile (competitiva, non competitiva) e irreversibile – Effetti di pH e temperatura sulla velocità delle reazioni enzimatiche. Regolazione: Enzimi allosterici – modificazioni post-traduzionali- attivazione di zimogeni.
- I cofattori: coenzimi piridinici e flavinici, tiamina pirofosfato, coenzima A, acido lipoico, biotina, piridossal fosfato. I gruppi funzionali e il meccanismo d'azione.

Acidi Nucleici

- Struttura: Le unità monomeriche: basi, nucleosidi, nucleotidi -struttura primaria e secondaria; la struttura a doppia elica. Processi di denaturazione: ipercromismo – temperatura di fusione; denaturazione

reversibile; ibridazione. Idrolisi enzimatica (esonucleasi, endonucleasi, enzimi di restrizione). Principi di tecniche di analisi. Organizzazione della cromatina (generalità).

- Funzione: Aspetti generali della biosintesi di DNA, RNA e proteine. Le reazioni della DNA polimerasi; la DNA ligasi; le RNA polimerasi-DNA dipendenti nei procarioti e negli eucarioti; ruolo delle DNA topoisomerasi; cenni sulla maturazione degli RNA; struttura e funzione degli RNA di trasferimento; il codice genetico; la reazione di attivazione degli amminoacidi; le fasi della sintesi proteica: inizio, allungamento, terminazione, con particolare riferimento al processo nei procarioti.

Metabolismo

- Premessa: Concetti generali di energetica: le funzioni di stato (entalpia, entropia, energia libera); composti ad alto contenuto energetico e loro ruolo nel metabolismo - reazioni accoppiate – vie metaboliche e loro regolazione
- Carboidrati: monosaccaridi; polisaccaridi di riserva (glicogeno e amido). Glicolisi: reazioni, meccanismi (fosfoglicerato mutasi, gliceraldeide 3-P deidrogenasi,), regolazione – Vie fermentative del piruvato (fermentazione lattica e fermentazione alcolica) – Decarbossilazione ossidativa del piruvato e meccanismo di reazione – La via del fosfogluconato e suo significato; meccanismi d'azione di transchetolasi e transaldolasi – Gluconeogenesi: reazioni e regolazione – Metabolismo dei polisaccaridi: degradazione e sintesi del glicogeno: reazioni, regolazione.
- Lipidi: Aspetti generali della struttura e funzione dei lipidi; Acidi grassi saturi e insaturi; Triacilgliceroli – lipasi – degradazione e sintesi degli acidi grassi saturi: reazioni, regolazione.
- Proteine: generalità sul destino dello scheletro carbonioso degli amminoacidi. Destino del gruppo amminico degli amminoacidi: transamminazioni: significato e meccanismo – deaminazione ossidativa – ciclo dell'urea
- La combustione completa degli atomi di carbonio provenienti dai diversi distretti metabolici e la produzione di energia in condizioni di aerobiosi: Ciclo degli acidi tricarbossilici: reazioni e regolazione – Le reazioni anaplerotiche: piruvato carbossilasi ed enzima malico. La catena di trasporto degli elettroni; fosforilazione ossidativa

Esercitazioni Svolte:

- Cromatografia a scambio ionico e determinazione della concentrazione di una miscela proteica. Saggio enzimatico

MATERIALE DIDATTICO UTILIZZATO E CONSIGLIATO

- Nelson DL e Cox MM – **I Principi di Biochimica di Lehninger** – Zanichelli (ed.)
- Nelson DL e Cox MM – **Introduzione alla Biochimica di Lehninger** – Zanichelli (ed.)
- Campbell e Farrell – **Biochimica** – EdiSES (ed.)
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L – **Biochimica**- Zanichelli (ed.)
- Voet D, Voet JG, Pratt CW – **Fondamenti di Biochimica** – Zanichelli (ed.)
- Per alcuni argomenti (proteine, membrane) consultare anche: AA.VV. **Chimica Biologica** (Monduzzi Editore)

- Altro materiale didattico

Appunti del docente, reperibili sul sito www.docenti.unina.it

MODALITA' VERIFICA E VALUTAZIONE DELL'APPRENDIMENTO

Esame orale.

La commissione d'esame, nominata dal CCS accerterà e valuterà collegialmente la preparazione dello studente attribuendo il voto finale sulla base di un adeguato numero di prove e di verifiche. La frequenza assidua e la partecipazione alle attività in aula e laboratorio sono considerati elementi positivi di valutazione.

DOMANDE D'ESAME PIU' FREQUENTI

- LIVELLI DI ORGANIZZAZIONE STRUTTURALE DELLE PROTEINE
- STRUTTURE SECONDARIE
- STRUTTURA TERZIARIA
- LEGAMI DEBOLI TRA LE CATENE LATERALI DEGLI AMMINOACIDI
- LA DENATURAZIONE DELLE PROTEINE

- L'EQUAZIONE DI MICHAELIS E MENTEN
- LA STRUTTURA A DOPPIA ELICA DEL DNA
- LA REAZIONE DELLA DNA POLIMERASI
- LA REAZIONE DELLE RNA POLIMERASI
- LA DNA LIGASI
- LE FASI DELLA SINTESI PROTEICA
- LA GLICOLISI
- IL DESTINO DEL PIRUVATO
- IL CICLO DI KREBS
- LA VIA DEL FOSFOGLUCONATO
- LA DEGRADAZIONE E LA SINTESI DEGLI ACIDI GRASSI
- LE REAZIONI DI TRANSAMMINAZIONE
- IL CICLO DELL'UREA
- GLICOGENOLISI E SINTESI DEL GLICOGENO

COURSE OF BIOLOGICAL CHEMISTRY AND LABORATORY

The course of "Biological Chemistry and Laboratory" (Nutrition biology *curriculum*) is composed by 9 CFU of lessons, exercises, summaries and laboratory experience

LEARNING ACHIEVEMENTS

Knowledge and understanding:

Knowledge of structural and functional properties of biomolecules, of enzyme properties, of the organization of genetic material, and of the main metabolic processes of carbohydrates, lipids and proteins.

Applying knowledge and understanding:

Ability to apply basic biochemical and biotechnological methodologies

Biological, biochemical and biomedical analyses.

Making judgements

Evaluation and interpretation of experimental laboratory results, lab security, teaching evaluation.

ENTRY REQUIREMENTS

Organic Chemistry and laboratory" examination.

PRE- REQUIREMENTS

Knowledge of Thermodynamics, Mathematics, Cytology and Histology

NOTE:

The course of "Biological Chemistry and Laboratory" is an entry requirement for the examination of "Molecular Biology and Laboratory", "Physiology and Laboratory", "Genetics and genetic engineering and Laboratory".

CONTENTS

Module of Biological Chemistry and Laboratory

- Introduction to Biochemistry
- Main classes of biomolecules – Functional groups in biomolecules – Three-dimensional structures: conformation and configuration – Interactions between molecules (hydrogen, ionic and van der Waals bonds, hydrophobic interactions)

Proteins

- Structure: Monomeric units: structural characteristics and chemical properties of amino acids (titration curves, isoelectric point; characteristics of side chains) – Formation of the polypeptide chain and levels of structural organization: alpha-helix, beta structures, turns, super-secondary structures, tertiary structure, domains, quaternary structure – Relationships between structure and function: denaturation/renaturation; effects of temperature, pH, chemical denaturants (urea, guanidyne, sodium dodecyl-sulfate, reducing agents).
- Analysis: Principles of purification and characterization of proteins.
- Function: Fibrous proteins: alpha-keratins - beta-keratins – collagen.
- Function: Globular proteins. Myoglobin and Hemoglobin.
- Function: Enzymes. Basic concepts: kinetics of uncatalyzed reactions; free energy variations ΔG – relationships between ΔG and equilibrium constant of a reaction. Classification of enzymes, reaction specificity, the active site, interaction between enzyme and substrate – Mechanisms of enzymatic catalysis – Enzyme kinetics: the model of Michaelis-Menten; transformations of Michaelis-Menten equation: double-reciprocal plot – Reversible enzymatic inhibition (competitive, non-competitive) and irreversible inhibition – Effects of pH and temperature on the rate of enzymatic reactions. Regulation: Allosteric enzymes– post-translational modifications- activation of zymogens.
- Cofactors: pyridine and flavin coenzymes, thiamine pyrophosphate, coenzyme A, lipoic acid, biotin, pyridoxal phosphate. Functional groups and mechanism of action.

Nucleic Acids

- Structure: Monomeric units: bases, nucleosides, nucleotides – primary and secondary structure; double-helix structure. Denaturation of nucleic acids: iperchromism – melting temperature; reversible

denaturation; hybridation. Enzymatic hydrolysis (exonucleases, endonucleases, restriction enzymes). Principles of analysis techniques. Organization of chromatin.

- Function: General aspects of the biosynthesis of DNA, RNA and proteins. The reactions of DNA polymerase; DNA ligase; DNA-dependent RNA polymerase in prokaryotes and eukaryotes; role of DNA topoisomerases; maturation of RNA; structure and function of transfer RNA; the genetic code; the reaction of amino acids activation; the phases of protein: initiation, elongation, termination, with particular reference to prokaryotes.

Metabolism

- Introduction: General concepts of energetics: the state functions (enthalpy, entropy, free energy); molecules with high energy content and their role in metabolism – coupled reactions – metabolic pathways and their regulation.
- Carbohydrates: monosaccharides; storage polysaccharides (glycogen and starch). Glycolysis: reactions, mechanisms (phosphoglycerate mutase, glyceraldehyde 3-P dehydrogenases,), regulation – Fermentation of pyruvate (lactic fermentation and alcoholic fermentation) – Oxidative decarboxylation of pyruvate and mechanism of reaction– Phosphogluconate pathway and its metabolic meaning; reaction mechanisms of transketolase and transaldolase– Gluconeogenesis: reactions and regulation – Metabolism of polysaccharides: degradation and synthesis of glycogen: reactions and regulation.
- Lipids: Structure and function of lipids; Saturated and unsaturated fatty acids; Triacylglycerols – lipases – degradation and synthesis of saturated fatty acids: reactions and regulation.
- Proteins: the fate of the carbon skeleton of amino acids. The fate of the amino acids amine group: transamination: meaning and mechanism– oxidative deamination – urea cycle
- The complete combustion of carbon atoms derived from different metabolic districts and the production of energy under aerobic conditions: Tricarboxylic acids cycle: reactions and regulation – Anaplerotic reactions: pyruvate carboxylase and malic enzyme. Electron transport chain; oxidative phosphorylation

Students will perform the following lab experiments

- Ion-exchange chromatography; colorimetric assays of protein concentration; assay of enzymatic activity.

TEXTBOOKS

- Nelson DL e Cox MM – **I Principi di Biochimica di Lehninger** – Zanichelli (ed.)
- Nelson DL e Cox MM – **Introduzione alla Biochimica di Lehninger** – Zanichelli (ed.)
- Campbell e Farrell – **Biochimica** – EdiSES (ed.)
- Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L – **Biochimica**- Zanichelli (ed.)
- Voet D, Voet JG, Pratt CW – **Fondamenti di Biochimica** – Zanichelli (ed.)
- Per alcuni argomenti (proteine, membrane) consultare anche: AA.VV. **Chimica Biologica** (Monduzzi Editore)

Other teaching material

Professor's notes available at www.docenti.unina.it

ASSESSMENT

Oral examination.

The commission will evaluate student's skills, and the score will be given also taking into account the attendance to the course.

FREQUENTLY ASKED QUESTIONS DURING EXAM

- PROTEIN STRUCTURAL LEVELS
- SECONDARY STRUCTURES
- TERTIARY STRUCTURE
- WEAK NON BONDED INTERACTIONS BETWEEN AMINO ACIDS SIDE CHAINS
- PROTEIN DENATURATION
- MICHAELIS – MENTEN EQUATION
- DOUBLE ELIX STRUCTURE OF DNA
- DNA POLYMERASE REACTION
- RNA POLYMERASE REACTION
- DNA LIGASE

- PROTEIN SYNTHESIS
- GLYCOLYSIS
- THE FATE OF PYRUVATE
- KREBS CYCLE
- PHOSPHOGLUCONATE PATHWAY
- FATTY ACIDS SYNTHESIS AND DEGRADATION
- TRANSAMINATION REACTIONS
- UREA CYCLE
- GLYCOGENOLYSIS AND THE SYNTHESIS OF GLYCOGEN