

Corso di Laurea in Magistrale in Medicina Veterinaria

Anno Accademico 2020/2021

Programma dell'esame di **BIOCHIMICA 1**

Anno di corso I

Bimestre II

N° CFU **6**

Ore complessive **65**

Titolare del corso

Dott. Vito Porcelli

Dipartimento di Bioscienze, Biotecnologie e Biofarmaceutica

Tel. 0805442772

e-mail: vito.porcelli@uniba.it

Obiettivi formativi specifici dell'insegnamento

Il corso si propone di fornire agli studenti la chiave di comprensione del comportamento delle molecole organiche che saranno fondamentali per la comprensione della biochimica e della chimica dei composti biologici. Il principale obiettivo formativo è l'introduzione ad un metodo scientifico rigoroso, in cui i comportamenti delle molecole ed i meccanismi di reazione possono essere dedotti sulla base della conoscenza delle proprietà di base delle molecole organiche, via via introdotte. Infine, il corso si propone di impartire informazioni relative alle principali tecniche di laboratorio per lo studio qualitativo e quantitativo delle molecole biologiche in ambito medico-veterinario

Risultati d'apprendimento attesi

Al termine del corso lo studente deve aver acquisito:

Conoscenze: Lo studente dovrà (ri)conoscere la struttura, funzione e reattività delle principali macromolecole biologiche quali carboidrati, lipidi, proteine e acidi nucleici e il principio alla base delle tecniche di laboratorio per lo studio qualitativo e quantitativo di esse.

Competenze: Al termine del corso lo studente dovrà essere in grado di correlare i meccanismi molecolari e la funzione delle molecole biologiche alla funzionalità cellulare e come alcune modificazioni di esse possono indurre a patologie di carattere veterinario.

Abilità: Lo studente dovrà essere in grado di svolgere attività di laboratorio di base ed eseguire le più comuni tecniche analitiche.

Programma di studio ed argomenti di lezione dell'insegnamento

Nozioni di chimica organica: Alcani: Nomenclatura. Isomeria di posizione e conformazionale. Reazioni di alogenazione e combustione. Cicloalcani. Il cicloesano. Isomeria conformazionale e geometrica nei cicloalcani. I meccanismi di reazione. Il concetto di elettrofilo e nucleofilo. Carbocationi e carbanioni. Alcheni ed alchini: Nomenclatura. Isomeria geometrica. Reazioni di addizione elettrofila agli alcheni: meccanismo generale. Reazioni di addizione: idracidi, acqua e alogeni. Stereochimica delle reazioni di ossidazione. Cenni sulle reazioni di polimerizzazione degli alcheni. Idrocarburi Aromatici Il benzene: struttura, aromaticità ed energia di stabilizzazione. Isomeria Ottica: Chiralità ed elementi di simmetria. Enantiomeri, racemi e diastereoisomeri. Configurazione assoluta di carboni chirali. Cenni Alogenuri Alchilici: Nomenclatura. Alcoli e Glicoli: Nomenclatura. Acidità degli alcoli. Alcoolati. Disidratazione di alcoli ad alcheni (meccanismo E1). Ossidazione di alcoli a composti carbonilici. Glicoli e glicerolo: sintesi e proprietà. Eteri, Epossidi e fenoli: Nomenclatura e sintesi. Aldeidi e Chetoni: Nomenclatura. Struttura del carbonile. Reazioni di addizione nucleofila al carbonile: Acetali ed emiacetali,

Aldimine e basi di Schiff. Enoli ed enolati: tautomeria cheto-enolica e sua importanza nei processi metabolici. Acidi Carbossilici: Nomenclatura. Struttura del carbossile. Acidità. Esterificazione. Alogenuri acilici ed anidridi: sintesi e reazioni. Reazioni di riduzione. Acidi grassi e loro sali. Esteri: Nomenclatura. Esterificazione di Fisher. Saponificazione. Saponi. Reazioni di formazione del legame carbonio-carbonio: Condensazioni aldoliche. Similitudine tra condensazione di Claisen e quella di tiolesteri.

Cenni di Chimica Organica Applicata: Radicali. Stabilità. risonanza. Generazione termica e fotochimica, dissociazione e reazione con altri radicali. Reazioni di termine, accoppiamento e disproporzione. Propagazione, trasposizione.

Amminoacidi e Proteine: Classificazione degli amminoacidi. Legame peptidico. Proteine: struttura primaria, secondaria, terziaria e quaternaria. Classificazione funzionale delle proteine: catalitiche, di sostegno, di trasporto, ormoni. Derivati amminoacidici: ammine biogene

Carboidrati (semplici e complessi): Zuccheri: Aldoesosi e Chetoesosi. Epimeri. Glucosidi e loro importanza biologica. Pentosi e N-ribosidi. Glucosammine. Disaccaridi: maltosio, cellobiosio, lattosio, saccarosio. Oligosaccaridi. Polisaccaridi: amido, cellulosa, glicogeno e loro struttura. Glicoproteine: struttura e classificazione: immunoglobuline, glicoproteine del latte, del plasma e gruppi sanguigni.

Lipidi: Classificazione e funzioni biologiche. Lipidi semplici: acidi grassi, Acidi grassi saturi e insaturi. Isomerizzazione. Trigliceridi. Saponificazioni. Micelle e saponi. Irrancidimento ossidativo. Fosfolipidi, glicolipidi e sistemi lipoproteici di particolare interesse medico-veterinario. Prostaglandine e steroidi. Antiossidanti di tipo fenolico, acido ascorbico e carotenoidi

Acidi Nucleici: basi puriniche e pirimidiniche, nucleotidi e acidi nucleici: DNA (nDNA e mtDNA), RNA (mRNA, tRNA)

Micronutrienti: vitamine idrosolubili e liposolubili, struttura, azione biologica, meccanismo d'azione, ipo ed ipervitaminosi.

Enzimi: nomenclatura e classificazione, struttura, siti attivi e specificità enzimatica, cinetica enzimatica e regolazione. Inibitori e loro meccanismo di azione. Principali reazioni catalizzate dagli enzimi.

Meccanismi di replicazione del DNA in cellule procariotiche ed eucariotiche, trascrizione genica e modifiche post trascrizionali. Sintesi proteica e modifiche post-traduzionali.

Tecniche di laboratorio Biochimico: Preparazione e manipolazione di campioni biologici. Tamponi utilizzati in biochimica.

Spettrofotometria: Proprietà della radiazione elettromagnetica, spettri di assorbimento atomici e molecolari, legge di Lambert-Beer, classificazione degli spettrofotometrici: mono raggio, doppio raggio e doppia lunghezza d'onda; Struttura e funzione di: sorgenti, monocromatori, porta campioni e rivelatori; misura del coefficiente di estinzione molare, dosaggio attività enzimatica e dosaggio di un substrato in campione biologico.

Principali tecniche di biologia molecolare: PCR, Real time PCR e RT-PCR, enzimi di restrizione.

Tecnologia del DNA ricombinante e sue applicazioni nell'espressione eterologa di proteine.

Tecniche Cromatografiche: Classificazione e principi. Fattori che influenzano il processo cromatografico: coefficiente di partizione, fattore di capacità, fattore di selettività ed efficienza della colonna. Cromatografia per ripartizione, scambio ionico, esclusione molecolare e per affinità.

Tecniche immunochimiche, Immunoprecipitazione. Analisi mediante western blotting di un campione proteico.

Modalità di erogazione della didattica

Lezioni frontali: **CFU 40 Ore**

Esercitazioni pratiche: **CFU 25 Ore**

Frequenza

Obbligatoria

Prerequisiti (propedeuticità e competenze acquisite)

CHIMICA

Lo studente deve aver acquisito conoscenze e competenze relative ai concetti generali di fisica, con particolare riguardo alla termodinamica, e di citologia, con particolare riguardo alla conoscenza della struttura della cellula eucariotica.

Metodi didattici

La parte teorica del corso si effettua in aule dotate di pc, proiettore e connessione internet, avvalendosi di diapositive in power point. Le lezioni pratiche si effettuano nel laboratorio opportunamente attrezzato della sezione di biochimica. Gli studenti, suddivisi in piccoli gruppi di 8-10 persone e assistiti dal docente, si approcceranno, individualmente o in piccoli gruppi, alle tecniche di laboratorio oggetto dell'esercitazione.

Accertamento dell'acquisizione delle conoscenze/competenze

Prove in itinere: NO
Test di autovalutazione: NO
Prova Pratica: NO
Esame di profitto finale: ORALE

Modalità di svolgimento dell'esame e criteri di valutazione dell'apprendimento:

La valutazione delle conoscenze avviene con prova orale inerente le principali tematiche del programma di studio. Lo studente dovrà essere in grado, utilizzando l'appropriata terminologia scientifica, di descrivere il meccanismo di reazione che coinvolge i principali gruppi funzionali di chimica organica, come essi sono alla base del funzionamento di enzimi e come questi ultimi possono essere oggetto di studio laboratoriale a fine diagnostico.

Libri di Testo e materiale didattico di riferimento

Appunti delle lezioni, slides presentate a lezione. Testi consigliati: Siliprandi e Tettamanti, Biochimica Medica, V edizione - PICCIN

Materiale ed abbigliamento di biosicurezza richiesti per la frequenza al corso

(Camice bianco o Camice monouso, Guanti monouso, cuffia)

Orario di ricevimento studenti

Lunedì 9:00-11:30, previo appuntamento

Syllabus

<u>Conoscenze</u>	<u>argomenti</u>	<u>descrizione</u>	<u>ore</u>
Introduzione al corso Lo studente dovrà avere conoscenza per affrontare al meglio le numerose reazioni organiche del metabolismo cellulare oggetto di studio nell'insegnamento di	Presentazione del corso: finalità e modalità. Criteri di valutazione	Il ruolo della Biochimica nella medicina veterinaria. Presentazione del corso e modalità di verifica finale	1

Biochimica II. Inoltre, lo studente deve essere consapevole dell'importanza dei test di laboratorio biochimico			
Principi di Chimica Organica: Acquisizione di: -conoscenze della chimica del carbonio nelle molecole di interesse biologico. -capacità di riconoscere la natura delle biomolecole in relazione al gruppo funzionale -capacità di comprendere i meccanismi di reazione che coinvolgono le macromolecole nei processi biologici	Chimica del Carbonio	L'ibridazione e la struttura delle molecole organiche, strutture con doppi e tripli legami	1
	Alcani e Cicloalcani	Isomeria di posizione, conformazionale e configurazionale. Proprietà chimico fisiche	1
	Alcheni, Alchini, dieni coniugati	Proprietà chimico fisiche ed effetto di risonanza	1
	Idrocarburi aromatici	Benzene e proprietà chimico fisiche. Reazioni di sostituzione elettrofila e reattività	1
	Alcoli, Fenoli ed eteri	Nomenclatura e proprietà chimico-fisico. Tioli e solfuri	1
	Aldeidi, Chetoni e acidi carbossilici	Nomenclatura e proprietà chimico-fisico e reattività.	2
	Stereochimica	Chiralità e attività ottica, molecole con più di un centro asimmetrico, formule di Fisher	2
Macromolecole Biologiche: Acquisizione di: -Capacità di riconoscere le diverse classi di macromolecole -Corretta terminologia per indicare le varie strutture -Capacità di riconoscere le	Glucidi	Stereoisomeria e isomeria ottica, struttura ciclica, anomeri, glicosidi e legame glicosidico, reazioni e derivati dei monosaccaridi	2
	Lipidi	Acidi grassi, glicerolipidi, glicerofosfolipidi, sfingolipidi, steroli e steroidi. Composizione delle membrane biologiche e loro ruolo nella	4

possibili reazioni a cui possono andare incontro in relazione alla loro struttura		compartimentazione cellulare	
	Amminoacidi e peptidi	Classificazione; amminoacidi proteici e non, proprietà chimico fisiche degli amminoacidi, utilizzo degli amminoacidi nella diagnostica. Oligopeptidi e polipeptidi.	2
	Proteine	Proprietà elettrochimiche, isolamento e idrolisi. Organizzazione strutturale delle proteine. Proteine globulari, fibrose. Proteine coniugate, immunoglobuline e proteine glicate.	2
	Cromoproteine e il trasporto dell'Ossigeno	Eme, Mioglobina e Emoglobina: struttura funzione e trasporto	2
	Enzimi	Classificazione e cinetica enzimatica, regolazione enzimatica e inibizione enzimatica. Sintesi proteica	5
	Vitamine e Coenzimi	Vitamine lipo e idrosolubili, vitamina B e coenzimi, fattori vitaminsolubili	2
	Acidi Nucleici	Nucleosidi e nucleotidi,, RNA (mRNA e tRNA), DNA e organizzazione cromosomiale. Replicazione, trascrizione.	3
Propedeutica al laboratorio di biochimica e biologia molecolare: Acquisizione dei principi teorici su cui si basano le principali metodologie utilizzate in biologia molecolare	Preparazione e conservazione di campioni biologici	Preparazione e manipolazione di campioni biologici. Tamponi utilizzati in biochimica.	1
	Tecniche Immunochimiche	SDS-PAGE e Western blott, ELISA	1
	Tecniche cromatografiche	La cromatografia per lo studio delle proteine in ambito diagnostico	2

	Spettrofotometria e sue applicazioni diagnostiche	Attività enzimatica, dosaggio di un substrato in campioni biologici	2
	Tecnologia del DNA ricombinante	Estrazione acidi nucleici, PCR, Real time PCR, RT-PCR ed espressione eterologa. CRISPR-CAS9	2
ESERCITAZIONI DI LABORATORIO			
	Preparazione di soluzioni tampone e uso del pH-metro		4
	Estrazione DNA plasmidico e corsa elettroforetica		9
	Dosaggio attività GDH		4
	Dosaggio del substrato		4
	Dosaggio proteine totali		4