

Corso Integrato di Biochimica e Biologia Molecolare (12 crediti totali)
Docenti: prof Franco Dallochio, prof Giovanna Marchetti

GIOVANNA MARCHETTI

PROGRAMMA DOCENTE Anno Accademico 2015-16

(5 crediti di Biochimica + 1 credito di Biologia Molecolare)

Proteine, funzioni delle proteine.

Collagene: struttura e sintesi. Modificazioni post-traduzionali, assemblaggio in fibre. Cenni ai diversi tipi di collagene. Collagenasi.

Emoglobina e mioglobina: analisi e confronto della struttura. Funzioni della mioglobina e funzioni dell' emoglobina. Curve di dissociazione dell' ossigeno. Effetto Bohr, DPG. Trasporto della CO₂. Tipi di emoglobine. Emoglobinopatie, HbS e talassemie (cenni)

Proteasi e serina-proteasi. Strategie catalitiche. Meccanismo catalitico serina-proteasi. Serina-proteasi della digestione e serina-proteasi della coagulazione. Specificità per il substrato. Zimogeni. Amplificazione del segnale mediante cascate enzimatiche: esempio coagulazione del sangue. Attivazione della coagulazione in vivo. Fattori della coagulazione, modificazioni post-traduzionali e ruolo della vitamina K. Trombina e conversione del fibrinogeno in fibrina. Controllo fisiologico della coagulazione, inibizione aspecifica e specifica. Fibrinolisi (cenni).

Acidi nucleici

DNA. Struttura del DNA. Basi azotate: proprietà, tautomeria. Nucleotidi. Proprietà acide dei polinucleotidi. Regole di Chargaff, struttura B di Watson e Crick. Altre strutture a doppio filamento: DNA A e Z. Cenni alle maggiori differenze tra le varie strutture. Sequenze palindromiche, ripetute speculari. Stabilità della doppia elica. Denaturazione del DNA. Associazione tra gli acidi nucleici: ibridazione. Curve di riassociazione del DNA di E. Coli confrontata con quella del DNA di mammifero. Complessità del genoma, sequenze singole, mediamente ripetute e altamente ripetute (cenni).

Superavvolgimento del DNA. Istoni e cromatina.

RNA. Struttura del RNA. Tipi di RNA.

Metabolismo degli acidi nucleici

Replicazione del DNA. DNA polimerasi procariotiche. Attività polimerasi 5'→3', meccanismo catalitico. Attività esonucleasica 3' →5'(correzione delle bozze) e attività esonucleasica 5'→3'. Origine della replicazione in E.coli. Formazione delle due forcelle di replicazione. Proteine coinvolte nel processo di inizio. Sintesi del filamento veloce e del filamento lento. DNA ligasi, meccanismo d' azione.

DNA polimerasi eucariotiche. Replicazione del DNA: confronto Procarioti- Eucarioti. Replicazioni dei telomeri, telomerasi.

Mutazioni del DNA e Riparazione. Tipi di mutazioni, cause di mutazioni.

Meccanismi di riparazione del DNA: riparazione diretta, riparazione per escissione di basi, riparazione per escissione di nucleotidi. Riconoscimento degli errori di appaiamento in E. Coli (discriminazione delle catene tramite metilazione) e riparazione (sistema MthH, MutS e MutL).

Trascrizione. RNA polimerasi procariotica Differenze tra replicazione e trascrizione. Sequenze promotrici nei procarioti. Motivi strutturali in proteine che legano il DNA: elica-giro-elica, cerniera di leucine, "zinc finger". Trascrizione: inizio, allungamento, termine. Inibitori della trascrizione.

RNA Polimerasi Eucariotiche. Promotori di classe I, II e III.

Controllo trascrizionale. Controllo trascrizionale in cellule procariotiche: modello dell' operon del lattosio.

Controllo trascrizionale in cellule eucariotiche. Promotori, sequenze enhancer, sequenze responsive e fattori di trascrizione.

Regolazione dell' attività di fattori di trascrizione: per legame con un ormone di natura lipidica (esempio ormoni steroidei, ormoni tiroidei); per fosforilazione (esempio: proteina stat91 e fosforilazione indotta dall' interferone γ).

Struttura della cromatina e attività trascrizionale. Siti sensibili e ipersensibili alla DNasi.

Modificazioni covalenti della cromatina e attività trascrizionale. Acetilazione-deacetilazione degli istoni. Metilazione del DNA.

Maturazione delle molecole di RNA. Trascritti precursori di RNA messaggeri: modificazione dell' estremità 5' (aggiunta del CAP); modificazione dell' estremità 3' (aggiunta della coda polyA). Splicing, spliceosoma, snRNPs.

Maturazione dei trascritti primari di rRNA e tRNA nei procarioti ed eucarioti.

Regolazione post-trascrizionale dell' espressione genica: Splicing differenziale (esempi: gene per la calcitonina e il peptide CGRP, fibronectina, immunoglobuline IgM di membrana e solubili).

Stabilità delle molecole di mRNA. Esempio di modulazione della stabilità del mRNA: messaggero per il recettore della transferrina.

Modificazione post-trascrizionale del mRNA attraverso meccanismo di *editing* (revisione): esempio apolipoproteine B-100/B48. Regolazione tramite micro RNA.

Metabolismo delle proteine

Codice genetico. Caratteristiche del codice genetico. Modalità di riconoscimento codon-anticodon.

Sintesi proteica. Ribosomi, tRNA, attivazione degli aminoacidi, aminoacil-tRNA sintetasi.

Sintesi proteica: fase di inizio, selezione del sito di inizio in eucarioti e procarioti. t-RNA iniziatore. Fase di allungamento, ciclo del fattore Tu, formazione del legame peptidico. Fase di termine, fattori di rilascio.

Fedeltà e velocità del processo di traduzione (ciclo GTP-GDP del fattore di allungamento Tu). Dispendio energetico del processo sintesi in vivo di un legame peptidico. Confronto procarioti –eucarioti nel processo di sintesi delle proteine. Inibitori del processo di traduzione: antibiotici, tossine. Regolazione della traduzione (fosforilazione fattori di inizio, legame di proteine al messaggero esempio: messaggero per la ferritina).

Trasporto a destinazione delle proteine e modificazioni post-traduzionali.

Destinazione al RE: particella di riconoscimento del segnale (SRP). Modificazioni post-traduzionali delle proteine: formazione di ponti disolfuro (ruolo del glutatione);

glicosilazione delle proteine in -N in -O. Glicosilazione e suo significato biologico/clinico.

Segnali molecolari per la destinazione ai lisosomi, al nucleo, ai mitocondri. Distruzione intracellulare delle proteine: sistema lisosomiale e sistema citoplasmatico (ubiquitina e ATP dipendente).

Ormoni e meccanismi generali di trasduzione del segnale ormonale.

Ormoni. Recettori e loro localizzazione. Recettori associati a proteine G. Cenni ai diversi componenti della famiglia delle proteine G. Tossine batteriche e inibizione delle proteine G (esempio: tossina del vibrione del colera). Adenilato ciclasi e produzione di cAMP (secondo messaggero). cAMP e attivazione della proteina chinasi A (PKA). Esempi di substrati della PKA. Altri secondi messaggeri: fosfoinositidi, ione calcio, cGMP e NO. Recettori ad attività tirosino-chinasica (recettore insulina e recettori di fattori di crescita). Proteina RAS. Recettori ad attività guanilil-ciclasica. Recettori privi di attività enzimatica intrinseca, che si associano a chinasi citosoliche dopo legame con il ligando. Recettori nucleari e ormoni lipofili. Regolazione ormonale del metabolismo energetico.