

Anno Accademico 2019-20
GIOVANNA MARCHETTI
PROGRAMMA DOCENTE
(5 crediti di Biochimica)

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.

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).

Proteine plasmatiche.

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 eucariotica, meccanismo d' azione.

DNA polimerasi eucariotiche. Replicazione DNA eucarioti. 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 MutH, 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); per taglio proteolitico (esempio: proteina legante l'elemento di risposta agli steroli (SREBP)).

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, 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.

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. Dispendio energetico. Confronto procarioti – eucarioti nel processo di inizio sintesi delle proteine. Inibitori del processo di traduzione: antibiotici, tossine. Regolazione della traduzione (fosforilazione di 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). degradazione 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 (recettore dell'ANF, recettore attivato da NO). Recettori privi di attività enzimatica intrinseca (segnalazione mediata da chinasi JAK e fattori di trascrizione STAT). Recettori nucleari e ormoni lipofili. Regolazione ormonale del metabolismo energetico.