

PROGRAMMA MODULO 2 DEL CORSO DI BIOCHIMICA PER FARMACIA AA 17-18

24 ORE – 3 CFU

Dott.ssa Diana Fiorentini

Carboidrati: isomeri D – semiacetali e C anomero - mutarotazione. Strutture di glucosio, galattosio, fruttosio, ribosio, deossiribosio. Acetali e legame O-glicosidico. Strutture di maltosio, lattosio, cellobiosio e saccarosio. Omopolisaccaridi: strutture e funzioni di amido, glicogeno e cellulosa. Derivati degli esosi. Eteropolisaccaridi: glicosamminoglicani, struttura e funzione di eparina e acido ialuronico, cenni a struttura e funzione dei proteoglicani. Nucleotidi: strutture delle basi azotate, tautomeria, legame N-glicosidico e formazione di nucleosidi. Legame estereo e formazione di nucleotidi e nucleosidi trifosfati. Struttura ATP, legami anidridici e legami esterei. Forme di risonanza di ATP, ADP e Pi. Nucleoside difosfato chinasi e conversione di nucleosidi trifosfati. Funzioni dei nucleotidi. AMPc e GMPc.

Emostasi: definizione, ruolo dei vasi sanguigni, delle piastrine e dei fattori della coagulazione. Descrizione della cascata, coagulazione all'esterno e all'interno di un vaso. Attivazione proteolitica dei fattori della coagulazione, gamma-carbossilazione dei residui di glutammato e ruolo della vitamina K. Conversione del fibrinogeno in fibrina. Cenni agli anticoagulanti orali e ai difetti genetici dell'emostasi.

Struttura generale degli acidi nucleici: legame 5'-3' fosfodiesterico. Direzionalità delle catene polinucleotidiche. Idrolisi basica dell'RNA. Idrolisi enzimatica degli acidi nucleici: eso ed endonucleasi, endonucleasi di restrizione. Modello della struttura del DNA proposto da Watson e Crick. Complementarietà dei filamenti. Fattori che stabilizzano la doppia elica. Denaturazione del DNA. Struttura RNA: filamento unico, basi modificate, bolle, forcine e ripiegamenti. Forme mature di mRNA, tRNA, rRNA eucariotici e loro funzioni.

Superavvolgimenti del DNA in E. Coli: supereliche negative e positive e loro significato. Topoisomerasi di tipo I e II. Inibitori delle topoisomerasi come farmaci. Genomi procariotici ed eucariotici. Genoma umano, struttura della cromatina, acetilazione/deacetilazione degli istoni. Replicazione del DNA in E. Coli: semiconservativa, bidirezionale, primer, reazione di polimerizzazione. Processività delle DNA polimerasi di E. Coli. Funzioni e caratteristiche della DNA polimerasi III. OriC: origine della replicazione. Allungamento: replicazione del filamento leader e di quello ritardato, frammenti di Okazaki. Funzioni e caratteristiche della DNA polimerasi I. DNA ligasi. Fedeltà di replicazione: attività di proof-reading della DNA polimerasi III e I, significato del primer di RNA. Cenni alla duplicazione del DNA negli eucarioti.

Danni al DNA degli eucarioti: considerazioni generali. Depurinazione, deamminazione della citosina e dell'adenina. Esempi di agenti mutageni: additivi alimentari (nitriti e bisolfito), agenti metilanti, intercalanti, aflatossine e benzopirene. Danni da radiazioni e da ROS/RNS.

Definizione di radicale libero e di specie reattive dell'ossigeno. Configurazione elettronica della molecola di ossigeno. Formazione di ROS: anione radicale superossido, perossido di idrogeno e radicale idrossile. Reazioni di Fenton e di Haber-Weiss. Specie reattive dell'azoto: monossido di azoto e perossinitrito. Sorgenti endogene ed esogene di ROS.

Funzioni fisiologiche delle ROS. Correlazioni tra ROS e sviluppo del cancro. Cenni ai sistemi di riparazione del DNA. Cenni al DNA mitocondriale.

Trascrizione in *E. Coli*: differenze tra replicazione e trascrizione, filamento stampo e codificante, polimerizzazione, caratteristiche della RNA polimerasi, fedeltà di trascrizione, bolla di trascrizione. Geni costitutivi e non costitutivi. Subunità sigma e riconoscimento del promotore. Descrizione dei promotori. Struttura dei promotori forti e deboli. Riconoscimento di promotori deboli da parte di subunità sigma alternative. Inibitori della trascrizione come farmaci (rifampicina). Maturazione degli RNA procariotici. Lac-operon e sua regolazione in presenza e in assenza di glucosio e lattosio.

Cenni alla trascrizione negli eucarioti. Maturazione degli RNA eucariotici, introni ed esoni, splicing e significato dello splicing alternativo. Esempi di regolazione della trascrizione degli eucarioti ad opera di ormoni steroidei o peptidici. Inibitori della RNA polimerasi eucariotica come veleni.

Aggiornamento del dogma centrale: retrovirus, trascrittasi inversa, costruzione di una libreria di cDNA, RNA replicasi.

Amminoacilazione: amminoacil-tRNA sintetasi, meccanismo di reazione, riconoscimento del corretto amminoacido e del corrispondente tRNA.

Definizione di codice genetico. Modalità di lettura dei codoni, effetti di inserzioni/delezioni, associazione codoni/amminoacidi. Descrizione del codice genetico: quadro completo, codoni di stop e di inizio, degenerazione non uniforme, codoni sinonimi. Riconoscimento della selenocisteina. Effetti di mutazioni su prima, seconda e terza base (mutazioni silenti, di senso e non senso).

Appaiamento codone/anticodone, ipotesi della base vacillante. Due tRNA per il codone AUG. Descrizione dei ribosomi dei procariotici. Inizio della traduzione. Sequenza di Shine-Dalgarno. Allungamento: formazione del legame peptidico. Termine della traduzione. Cenni alle modificazioni post-traduzionali.

Rimodellamento della cromatina ed accessibilità per la trascrizione. Modificazioni degli istoni. Metilazione del DNA e sua trasmissibilità. Concetto di epigenetica. Differenze tra genotipo e fenotipo.

RNA non codificanti: miRNA, meccanismo d'azione e sintesi. Impiego dei siRNA e loro potenziale funzione terapeutica.

Passaggi necessari per la formazione di un DNA ricombinante. Endonucleasi di restrizione: generalità e modalità di taglio del DNA. Cenni alla separazione dei frammenti di DNA mediante elettroforesi su gel di agarosio. Vettori di clonaggio. Costruzione di un DNA chimerico. Trasfezione. Costruzione di una libreria genomica, differenze con la libreria a cDNA. Modalità di produzione dell'insulina dai batteri. Esempi di applicazioni biotecnologiche.