

Corso Integrato di **BIOCHIMICA E BIOLOGIA MOLECOLARE**

I° ANNO	SSD INSEGN.	MODULO INSEGNAMENTO	DOCENTI	CFU
CFU 10 <i>Coordinatore</i>	BIO/10	Biochimica	6
	BIO/11	Biologia Molecolare	4

OBIETTIVI FORMATIVI E RISULTATI DI APPRENDIMENTO ATTESI**Oiettivi formativi generali del Corso Integrato di Biochimica e Biologia Molecolare:**

Lo scopo principale del corso è quello di illustrare agli studenti di Medicina Veterinaria quali siano le basi molecolari della medicina moderna, fornendo loro indicazioni sull'approccio scientifico della Biochimica alla complessità dei problemi che caratterizzano il metabolismo. Il corso si propone inoltre di fornire allo/a studente/studentessa conoscenze dei meccanismi molecolari di base per la trasmissione dell'informazione genetica, la sua espressione e regolazione.

In generale, il corso si prefigge di insegnare come dai dati sperimentali si siano elaborate ipotesi e di come le stesse siano state successivamente validate (o invalidate) sulla base di ulteriori prove progettate ad hoc

Lo/a studente/studentessa dovrà inoltre dimostrare di aver compreso i principi teorico pratici delle principali metodologie applicate allo studio di DNA, RNA e Proteine. Tale approccio ha lo scopo di abituare gli studenti a discutere in modo scientifico il rapporto causa/effetto di un processo biochimico, insegnando loro le basi del cosiddetto metodo deduttivo che riveste un'enorme importanza nell'ambito della professione medica (si pensi, ad esempio, all'iter diagnosi-prognosi che caratterizza i vari aspetti di un caso clinico).

Infine, nelle lezioni del corso vengono continuamente proposti problemi quantitativi, le cui soluzioni sono discusse in modo articolato in sessioni di esercitazioni successive, in modo da spingere gli studenti a pensare in modo autonomo e poi a confrontarsi con il docente.

Oiettivi formativi specifici del Corso Integrato di Biochimica e Biologia Molecolare:

- 1) Apprendimento della struttura delle principali molecole d'interesse biologico;
- 2) Apprendimento delle reazioni che caratterizzano le principali vie metaboliche nelle diverse specie animali;
- 3) Apprendimento dei meccanismi omeostatici che regolano il funzionamento della cellula e l'integrazione fra organi e tessuti;
- 4) Apprendimento delle metodologie di indagine a livello molecolare, per la comprensione dei fenomeni biologici significativi in medicina veterinaria.

I risultati di apprendimento specifici del programma sono coerenti con le disposizioni generali del Processo di Bologna e le disposizioni specifiche della direttiva 2005/36 / CE. Si trovano all'interno del Quadro europeo delle qualifiche (descrittori di Dublino) come segue:

1. Conoscenza e comprensione

Lo/a studente/studentessa dovrà dimostrare una adeguata conoscenza

-circa gli aspetti di logica molecolare della vita, le conoscenze sugli aspetti strutturali degli acidi nucleici e dei meccanismi molecolari che stanno alla base dei processi di replicazione, riparazione, trascrizione, regolazione dell'espressione genica e traduzione del DNA sia negli organismi procarioti che eucarioti .

- della bioenergetica;

- delle vie metaboliche, delle loro integrazioni e regolazioni;

- comprendere le specializzazioni metaboliche dei diversi distretti dell'organismo ed in particolare di mammella, fegato e ruminante;

- delle principali differenze metaboliche che sussistono tra le diverse specie animali con particolare riferimento tra specie mono- e poli-gastriche.

-Lo/a studente/studentessa inoltre acquisirà conoscenze sulle metodologie di base applicate alla Biologia Molecolare.

2. Conoscenze applicate e capacità di comprensione

Alla fine del corso, lo/a studente/studentessa dovrà aver sviluppato le seguenti abilità:

- comprendere le specificità d'organo e tessuto e le differenze tra specie;

- comprendere, riconoscere e prevedere i diversi adattamenti metabolici conseguenti ai mutamenti alimentari o ambientali, oltre i diversi bisogni fisiologici e legati in generale al benessere animale;

- comprendere le diverse esigenze nutrizionali

- comprendere la gestione delle patologie in maniera specie-specifica
- fornire competenze di base relative alla comprensione di fenomeni molecolari alla base della vita e alla valutazione di problematiche di tipo molecolare.

3. Autonomia di giudizio

Lo/a studente/studentessa dovrà essere in grado di:

- argomentare in modo critico e autonomo gli adattamenti omeostatici attesi in caso di mutamenti, sia normali che patologici, del metabolismo o dell'alimentazione;
- comprendere come l'omeostasi dipenda dai meccanismi di trasduzione del segnale
- valutare criticamente i dati provenienti dalla letteratura scientifica e dalle esperienze in laboratorio

4. Comunicazione

Al termine del corso lo/a studente/studentessa dovrà essere in grado di organizzare ed esporre le conoscenze acquisite supportandole con rigore argomentativo, completezza, proprietà di linguaggio, e capacità di collegamento con altri contesti sia in forma scritta che orale.

5. Capacità di apprendimento

Al termine del corso lo/a studente/studentessa dovrà essere in grado di:

- possedere una padronanza della materia tale da poter comprendere i contenuti della biologia molecolare, della fisiologia, della patologia generale, della nutrizione, della farmaco-tossicologia e della medicina di laboratorio.
- saper integrare e gestire in modo autonomo le conoscenze acquisite con informazioni derivate da testi scientifici o risorse bibliografiche e di impiegare quanto appreso anche in contesti diversi, compresa la ricerca.

PREREQUISITI

Precedenti conoscenze e competenze nelle seguenti materie: Chimica generale ed organica

PROGRAMMA DI BIOLOGIA MOLECOLARE

A) Lezioni frontali

Aspetti biochimici della trasmissione dell'informazione genetica.

Il DNA: nucleosidi, nucleotidi, struttura primaria. Struttura secondaria del DNA (B, A, Z); differenze nella configurazione del desossi-ribosio e altre caratteristiche strutturali. Proprietà in soluzione del DNA, effetto ipercromico, denaturazione e rinaturazione. Ibridazione. Idrolisi enzimatica e chimica degli acidi nucleici. Esonucleasi ed endonucleasi. DNA super elica, numero di legame, topoisomerasi. Dimensioni del DNA. Localizzazione e compattazione nei procarioti e negli eucarioti. Istoni, nucleosomi, cromatina (struttura e funzione). Duplicazione. Sintesi semiconservativa e bidirezionale del DNA. La duplicazione nei procarioti: Meccanismo d'azione delle DNA polimerasi. Correzione degli errori durante la polimerizzazione. Ruolo della DNA polimerasi I e III. Sintesi del filamento veloce e ritardato, frammenti di Okazaki. Il replisoma e gli enzimi coinvolti. La duplicazione del cromosoma batterico. La duplicazione negli eucarioti: similitudini con quella dei procarioti. DNA polimerasi e proteine accessorie. Duplicazione dei cromosomi, delle loro estremità e ruolo della telomerasi. Errori di duplicazione. Danneggiamento del DNA: deaminazione delle basi, agenti alchilanti, agenti intercalanti, radiazioni, dimeri di timina. Meccanismi di riparazione del DNA: Mismatch repair, Nucleotide excision repair, Base excision repair, Non homologous end joining, cenni sulla riparazione per ricombinazione omologa, Fotoliasi, sistema TLS.

Endonucleasi di restrizione. Ruolo biologico e specificità. Sequenze palindrome. Loro utilizzo per studiare il DNA. Sequenza del DNA. Metodo di Sanger. RNA. Struttura chimica e tipi. Idrolisi alcalina ed enzimatica. Meccanismo d'azione delle ribonucleasi. Biosintesi del RNA (trascrizione). Sequenze promotori negli eucarioti. Inizio, allungamento, terminazione della trascrizione. Maturazione degli RNA ribosomali e di trasporto nei procarioti e negli eucarioti. Enzimi coinvolti. Esoni e introni. Autosplicing. Maturazione del mRNA eucariotico: inserimento del cappuccio, poliadenilazione, rimozione degli introni (splicing). Codice genetico. Proprietà e caratteristiche del codice genetico: codoni, universalità, degenerazione, fase di lettura, codoni sinonimi. Codice genetico nei mitocondri. Sintesi proteica (traduzione). tRNA. Struttura secondaria e terziaria, e proprietà. tRNA isoaccettori, tRNA soppressori, mutazioni di senso e non senso. Attivazione degli amminoacidi, amminoacil-sintetasi. Cenni su inizio, allungamento e terminazione della traduzione. Poliribosomi. Costo energetico della sintesi proteica. Modificazioni post-traduzionali nelle proteine. Regolazione della trascrizione. Negli eucarioti: interazione tra proteine e solco maggiore o minore del DNA. Assemblaggio dei complessi di trascrizione e ruolo dei fattori di trascrizione. Fattori di trascrizione per geni di classe I, II e III. Recettori ormonali. Ruolo della cromatina nella regolazione della trascrizione, code istoniche e struttura della cromatina, istone acetilasi e deacetilasi, metilazione del DNA e degli istoni, varianti istoniche. Tecniche di biologia molecolare: Southern, Northern, Western blotting, plasmidi, clonaggio, DNA ricombinante, cDNA, PCR, vettori di espressione, mutagenesi sito-diretta. Proteine ricombinanti. Le tecniche di biologia molecolare nella diagnosi di malattie genetiche.

B) Lezioni pratiche

L'esercitazione pratica prevede l'esecuzione di un esperimento di estrazione di acidi nucleici ed elettroforesi di DNA,

sotto la supervisione di un Tutor, ed esercitazioni guidate di informatica per l'utilizzo di database.

PROGRAMMA DI BIOCHIMICA

A) Lezioni frontali

INTRODUZIONE al METABOLISMO: Trasporti attraverso le membrane (diffusione semplice e facilitata, proteine vettrici e canale, trasporto attivo primario e secondario, affinità, specificità e velocità massima). Interazione proteina-ligando e la modificazione conformazionale. Meccanismi di regolazione dell'attività enzimatica, modulazione allosterica omotropica ed eterotropica, modello simmetrico e sequenziale, comportamento dell'emoglobina; regolazione covalente reversibile, concetto di secondo messaggero, amplificazione a cascata del segnale. La regolazione automatica: termodinamica e cinetica. La regolazione a distanza, trasduzione del segnale. Compartimentazione cellulare. Organizzazione del metabolismo, legami ad alta energia libera di idrolisi, ciclo dell'ATP (4 modi di utilizzazione e 4 modi per la sintesi dell'ATP).

METABOLISMO GLUCIDICO: Origine e destini del glucosio, ruolo dell'esochinasi e della glucochinasi; la glicolisi: le singole reazioni delle due fasi, utilizzazione di altri monosaccaridi, destini del piruvato (lattato deidrogenasi e complesso della decarbossilazione del piruvato); gluconeogenesi: origine dei precursori, reazioni specifiche; regolazione reciproca di glicolisi e gluconeogenesi, enzima bifunzionale e fruttosio 2-6 bisfosfato. Sintesi e degradazione del glicogeno, ruolo dell'UDP-glucosio, regolazione allosterica e covalente del metabolismo del glicogeno. Ciclo di Cori. Via del pentosio fosfato.

METABOLISMO TERMINALE: Origine dell'Acetil-CoA, Ciclo di Krebs: singole reazioni, ruolo anfibolico, ruolo dell'ossalacetato, reazioni anaplerotiche; regolazione reciproca di piruvato carbossilasi e piruvato deidrogenasi. Catena respiratoria: trasportatori e potenziale red-ox, ciclo dell'ubichinone, le pompe protoniche, il gradiente protonico come forma di immagazzinamento di energia (traslocasi dei nucleotidi adenilici e termogenina); Fosforilazione ossidativa. Regolazione da carico energetico. Resa energetica. I sistemi navetta (del malato-aspartato e del glicerolo-fosfato).

METABOLISMO LIPIDICO, PROTEICO ed INTERRELAZIONI METABOLICHE: Trasporto dei lipidi nel sangue. AcilCoA sintetasi, ruolo della carnitina e regolazione del trasporto, beta-ossidazione degli acidi grassi saturi ed insaturi e a numero dispari di C: singole reazioni e resa energetica; sintesi e significato dei corpi chetonici. Sintesi del palmitato, reazioni di allungamento e desaturazione, trasporto del citrato e ruolo dell'enzima malico. Amminoacidi glucogenici e lipogenici, transdeaminazioni, ruolo di alanina e glutammina. METABOLISMO AZOTATO E CICLO DELL'UREA. Interrelazioni metaboliche.

DESCRIZIONE DELLE PRINCIPALI SPECIALIZZAZIONI METABOLICHE DEI DIVERSI TESSUTI E ORGANI.

Digestione, assorbimento e trasporto di carboidrati e lipidi nelle specie monogastriche.

LIPOPROTEINE: struttura sintesi e ruolo, biosintesi del colesterolo.

Digestione proteine dei monogastrici, ruolo e specificità delle proteasi. Assorbimento degli amminoacidi e overview sul loro destino metabolico. Ammine biogene.

INTRODUZIONE AL METABOLISMO RUMINALE. Caratteristiche strutturali dei polissaccaridi vegetali; cellulosa, emicellulosa, sostanze pectiche. Fase idrolitica della digestione ruminale dei carboidrati. Fase ossidativa della digestione ruminale dei glucidi: glicolisi anaerobia, via di Entner-Doudoroff, via fosfochetolasi, via del pentosio fosfato. Fase riduttiva del metabolismo glucidico ruminale-Destino dell'acido piruvico: produzione di acetato, propionato, butirato, lattato, formiato, e H₂ metanogenesi.

BIOIDROGENAZIONE: reazioni e significato, gli isomeri coniugati dell'Ac. Linoleico (CLA).

METABOLISMO DEI COMPOSTI AZOTATI NELLE SPECIE POLIGASTRICHE - Vie di escrezione dell'azoto, sintesi acido Urico
GHIANDOLA MAMMARIA: sintesi del lattosio e ruolo dell'alfa-lattoalbumina.

B) Lezioni pratiche

Le esercitazioni pratiche prevedono l'allestimento di una curva di taratura e la determinazione quantitativa di proteine in un campione mediante tecniche spettrofotometriche.

TESTI CONSIGLIATI

NELSON, COX "I Principi di Biochimica di Lehninger" 7a Ed. ZANICHELLI (2018)

VOET, VOET, PRATT "Fondamenti di Biochimica" PICCIN (2013)

GARRETT, GRISHAM "Principi di biochimica" PICCIN (2014)

MODALITÀ DI SVOLGIMENTO E METODI DIDATTICI ADOTTATI

Frequenza obbligatoria.

Il modulo di biologia molecolare è organizzato nel seguente modo: lezioni frontali presso le aule della Facoltà di Medicina e Chirurgia su tutti gli argomenti del corso ed esercitazioni in laboratorio (presso la Macroarea di Scienze "Complesso Didattico Sogene") ed in aula informatica presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia. Per l'attività in laboratorio gli studenti/ le studentesse saranno divisi/e in gruppi da 20 per un'esercitazione pratica sotto supervisione di un tutor per una durata di 4h.

Il modulo di biochimica si articolerà in: lezioni frontali in aula (presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia) che tratteranno tutti gli argomenti previsti dal programma del corso, esercitazioni pratiche della durata di 5h sotto la supervisione di un Tutor (presso i laboratori della Macroarea di Scienze "Complesso Didattico Sogene"). Gli studenti/Le studentesse verranno suddivisi/e in gruppi di massimo 20 partecipanti.

MODALITA' DI VALUTAZIONE E CRITERI DI VERIFICA DELL'APPRENDIMENTO

Il Corso Integrato di Biochimica e Biologia Molecolare prevede due prove scritte per l'ammissione alla prova finale orale. La prima prova scritta, vertente sulla prima parte del programma (modulo di Biologia Molecolare) fa media pesata (4 crediti su 10) con l'esame orale finale; la seconda prova scritta, vertente sulla seconda parte del programma (modulo di Biochimica) serve esclusivamente all'ammissione all'esame orale finale. Ogni prova sostenuta e non superata (con la votazione minima di 18/30) non può essere ripetuta prima di 15 giorni solari; ogni prova superata conserva la validità ai fini dell'ammissione alla successiva per un tempo massimo di diciotto mesi. La prova orale finale si sostiene di fronte ad un'unica Commissione esaminatrice composta da docenti e ricercatori di ruolo. Le due prove scritte contengono una serie di domande con risposte a scelta multipla.

La prova di biochimica, propedeutica all'esame orale, contiene anche da 1 a 3 domande aperte in cui gli studenti debbono affrontare un problema (anche numerico) la cui soluzione richiede la conoscenza delle strutture molecolari e delle reazioni metaboliche introdotte a lezione. Le domande vertono su tutti gli argomenti del programma in modo da verificare in modo capillare quanto è stato appreso da ciascuno/a studente/studentessa. Il punteggio delle domande aperte varia a seconda del grado di difficoltà del quesito e viene stabilito in modo che il totale della prova scritta dia 31 (30 + lode). Gli studenti hanno la facoltà di richiedere una discussione sulla prova di biochimica all'orale in modo da dimostrare di aver capito gli eventuali errori commessi.

Questo complesso sistema di valutazione (2 prove scritte e un orale) permette di valutare in modo oggettivo il grado di apprendimento e i risultati conseguiti dallo studente/studentessa alla fine del corso.

La prova di esame sarà valutata secondo i seguenti criteri:

Non idoneo: importanti carenze e/o inaccuratezza nella conoscenza e comprensione degli argomenti; limitate capacità di analisi e sintesi, frequenti generalizzazioni.

18-20: conoscenza e comprensione degli argomenti appena sufficiente con possibili imperfezioni; capacità di analisi sintesi e autonomia di giudizio sufficienti.

21-23: Conoscenza e comprensione degli argomenti routinaria; Capacità di analisi e sintesi corrette con argomentazione logica coerente.

24-26: Discreta conoscenza e comprensione degli argomenti; buone capacità di analisi e sintesi con argomentazioni espresse in modo rigoroso.

27-29: Conoscenza e comprensione degli argomenti completa; notevoli capacità di analisi, sintesi. Buona autonomia di giudizio.

30-30L: Ottimo livello di conoscenza e comprensione degli argomenti. Notevoli capacità di analisi e di sintesi e di autonomia di giudizio. Argomentazioni espresse in modo originale.