



UNIVERSITÀ DI PAVIA

Anno Accademico 2019/2020

ENZIMOLOGIA GENERALE APPLICATA E LABORATORIO

Anno immatricolazione	2017/2018
Anno offerta	2019/2020
Normativa	DM270
SSD	BIO/10 (BIOCHIMICA)
Dipartimento	DIPARTIMENTO DI BIOLOGIA E BIOTECNOLOGIE "LAZZARO SPALLANZANI"
Corso di studio	BIOTECNOLOGIE
Curriculum	Biomolecolare
Anno di corso	3°
Periodo didattico	Secondo Semestre (01/03/2020 - 14/06/2020)
Crediti	6
Ore	60 ore di attività frontale
Lingua insegnamento	ITALIANO
Tipo esame	SCRITTO E ORALE CONGIUNTI
Docente	TIRA MARIA ENRICA (titolare) - 3 CFU CHIARELLI LAURENT ROBERT - 3 CFU
Prerequisiti	Si richiede la conoscenza dei fondamenti di biochimica, per una chiara comprensione delle proprietà strutturali e funzionali delle proteine e degli enzimi.
Obiettivi formativi	L'obiettivo principale del corso è di fornire le conoscenze di base relative a struttura, meccanismi d'azione, controllo ed applicazioni biotecnologiche degli enzimi.
Programma e contenuti	Enzimologia Generale (3 CFU) Rapporto struttura/funzione degli enzimi. Modello chiave-serratura e dell'adattamento indotto. Il sito attivo: studio con marcatura covalente e di affinità; doppia marcatura; quasi substrati; inibitori suicidi. Strategie catalitiche: catalisi per prossimità, orientamento, distorsione, covalente, acido-base specifica e generale. Struttura e meccanismo d'azione di

lisozima, glutatione reduttasi, chimotripsina. Misura del legame con il substrato. Cinetica enzimatica secondo Michaelis - Menten: misura della velocità di reazione (V_0). Stato stazionario; legge della velocità, misura e significato dei valori di K_m e V_{max} ; metodo di Lineweaver e Burk; cinetica dell'inibizione competitiva e non competitiva. Regolazione dell'attività: effetto del pH, temperatura, enzimi allosterici: modelli di simmetria e sequenziale; effetti omotropi ed eterotropi. Aspartato transcarbamilasi. Enzimi regolati covalentemente. Le serina proteasi della cascata coagulativa: trombina, struttura, meccanismo d'azione, meccanismi di attivazione ed inibizione. Isoenzimi

Laboratorio di Enzimologia Applicata (3 CFU)

Principali metodi e tecniche per l'estrazione, purificazione e caratterizzazione degli enzimi. L'esperienza consiste nella purificazione di una proteina enzimatica a partire da un estratto cellulare grezzo e nella successiva caratterizzazione e valutazione del comportamento cinetico dell'enzima. Verranno trattati: preparazione di soluzioni tampone per sistemi biologici e misurazione del pH; tecniche cromatografiche per la separazione di proteine; spettrofotometria; centrifugazione; elettroforesi di proteine; saggi di attività enzimatica; principi di quantificazione dei parametri cinetici di enzimi. Il presente modulo ha l'obiettivo di fornire allo studente le informazioni e le competenze necessarie per avvicinarsi allo studio degli enzimi e per comprendere a fondo le potenzialità della catalisi enzimatica nelle applicazioni mediche e industriali. Durante le esercitazioni verranno richiamate le basi teoriche delle tecniche adottate.

Metodi didattici

Il modulo di Enzimologia Generale verrà condotto attraverso lezioni frontali.

Il modulo di Laboratorio di Enzimologia Applicata verrà svolto attraverso una serie di esperimenti condotti in laboratori didattici, corredati da brevi lezioni teoriche sulla tecniche applicate.

Testi di riferimento

Enzimologia Generale (3 CFU)

Appunti delle lezioni.

Testi: gli stessi usati per gli esami di Biochimica I e II (capitoli riguardanti la biochimica degli enzimi).

Laboratorio di Enzimologia Applicata (3 CFU)

Appunti delle lezioni e materiale fornito dal docente

Testi di riferimento per eventuali integrazioni: I principi di Biochimica di Lehninger (Nelson e Cox), Fondamenti di Biochimica (Voet, Voet, Pratt)

Modalità verifica apprendimento

Colloquio orale comprensivo della discussione della relazione scritta riguardante il modulo di Laboratorio Enzimologia Applicata

Altre informazioni

E' richiesto agli studenti di portare un camice, da indossare durante gli esperimenti.

Obiettivi Agenda 2030 per lo sviluppo sostenibile

[\\$|b|_legenda_sviluppo_sostenibile](#)