

Testi del Syllabus

Resp. Did.	GENNARO RENATO	Matricola: 000619
Docenti	GENNARO RENATO, 6 CFU SCOCCHI MARCO, 3 CFU	
Anno offerta:	2020/2021	
Insegnamento:	918SM - BIOCHIMICA CELLULARE	
Corso di studio:	SM53 - GENOMICA FUNZIONALE	
Anno regolamento:	2020	
CFU:	9	
Settore:	BIO/10	
Tipo Attività:	B - Caratterizzante	
Anno corso:	1	
Periodo:	Primo Semestre	
Sede:	TRIESTE	



Testi in italiano

Lingua insegnamento

Italiano

Contenuti (Dipl.Sup.)

Biogenesi degli organelli: via secretoria: generalità; sintesi proteica nel RER; peptide segnale, signal recognition particle (SRP), recettore di SRP e translocon; sintesi proteine di membrana e loro inserimento; classi topologiche e sequenze topogeniche; domini transmembrana e loro identificazione per via bioinformatica; modificazioni post-traduzionali nel RER e loro significato: folding e ruolo delle chaperonine; formazione e riarrangiamento dei ponti disolfuro (PDI), glicosilazione O-linked e N-linked e loro significato, ancore GPI e lipidiche; controllo di qualità del folding proteico.

Traffico vescicolare: meccanismi molecolari del trasporto vescicolare tra i diversi compartimenti: generalità; tipi di vescicole (COP I, COP II e con clatrina) e loro ruolo; funzione di proteine G e di loro effettori per l'assemblaggio delle vescicole; apparato molecolare per la formazione delle vescicole e per la selezione del materiale da trasportare; meccanismi di riconoscimento tra vescicole e membrana bersaglio: ruolo di Rab e loro effettori; complessi v-SNARE e t-SNARE e loro ruolo nel docking e nella fusione di membrana tra vescicole e bersaglio; traffico tra cis-Golgi network e RER; vescicole di clatrina e complessi AP; endocitosi mediata da recettore: recettore delle LDL come esempio; compartimento endosomiale precoce e tardivo. Biogenesi dei lisosomi: mannosio 6-fosfato come segnale d'indirizzamento ai lisosomi; recettore per il mannosio 6-fosfato; malattia delle cellule I e altre malattie da accumulo lisosomiale. Formazione dei granuli di secrezione (cromogranina e secretogranina); secrezione costitutiva e regolata; maturazione proteolitica delle pro-proteine.

Biogenesi di mitocondri, cloroplasti e perossisomi: indirizzamento delle proteine ai mitocondri e segnali che lo determinano; sistemi di attraversamento delle membrane mitocondriali e siti di contatto tra MME e MMI. Biogenesi dei cloroplasti e segnali d'indirizzamento nei loro diversi compartimenti; doppi segnali e sistemi di traslocazione per l'indirizzamento delle proteine alle vescicole tilacoidi. Ruolo dei

perossisomi; segnali d'indirizzamento delle proteine nei perossisomi e ruolo delle peroxine nella biogenesi; formazione ex novo dei perossisomi a livello del RE; sindrome di Zellweger e adrenoleucodistrofia.

Metabolismo dei nucleotidi: biosintesi de novo dei nucleotidi purinici e pirimidinici e regolazione delle vie; vie di recupero; sintesi dei deossiribonucleotidi e del timidilato; catabolismo dei nucleotidi; gotta, farmaci antifolici e analoghi delle basi nella terapia antineoplastica e antivirale.

Metabolismo e trasporto dei lipidi: metabolismo dei lipidi complessi; colesterolo: cenni sulla sintesi e sulla sua regolazione (sistema SREBP-SCAP-INSIG); sintesi e ruolo dei sali biliari e loro ricircolo entero-epatico; proteine ABC nel movimento trans-membrana dei lipidi; lipoproteine e loro classi: struttura, ruolo e metabolismo di chilomicroni, VLDL, LDL e HDL; recettore delle LDL e ipercolesterolemia familiare; aterosclerosi e ruolo delle LDL e HDL nella sua genesi; statine e colestiramina.

Lo sviluppo di nuovi farmaci: concetti generali sullo sviluppo di un farmaco; metodi classici e moderni per giungere a un composto guida; librerie di composti per sfruttare la "biodiversità" molecolare; regole di Lipinski; fasi pre-clinica e clinica dello sviluppo di un farmaco; parametri ADMET; metabolismo dei farmaci: reazioni di ossidazione dipendenti da citocromi P450 e reazioni di coniugazione; polimorfismi nei geni CYP e loro effetto sul metabolismo di farmaci; esempi di farmaci e loro meccanismo d'azione; sviluppo di nuovi farmaci antitumorali e antivirali: Glivec e inibitori dell'aspartico-proteasi di HIV. Terapia enzimatica sostitutiva; biofarmaci.

Testi di riferimento

Parte A

Lodish, Berk, Kaiser, Krieger, Scott, Bretscher, Ploegh, Matsudaira: *Biologia Molecolare della Cellula*, III edizione italiana condotta sulla VI edizione inglese, Ed. Zanichelli (Capitoli 13 e 14 per la Biogenesi degli organelli cellulari e il traffico vescicolare).

Lodish, Berk, Matsudaira, Kaiser, Krieger, Scott, Zipursky e Darnell - *Molecular Cell Biology*, V edizione, W.H. Freeman and Company, New York (Capitoli 16 e 17 per la Biogenesi degli organelli cellulari e il traffico vescicolare; Capitolo 18 per il metabolismo e movimento dei lipidi).

Berg, Tymoczko, Stryer: *Biochimica*, VI edizione, Ed. Zanichelli (Capitolo 25 per il metabolismo dei nucleotidi; Capitolo 35 per lo sviluppo di nuovi farmaci).

Lewin, Cassimeris, Lingappa, Plopper: *Cellule*, I edizione, Ed. Zanichelli (Capitoli 3 e 4 per la Biogenesi degli organelli cellulari e il traffico vescicolare)

Devlin: *Biochimica con aspetti clinici*, V edizione italiana condotta sulla VII edizione inglese, Ed. Edises (Capitolo 11 per i citocromi P450).

Parte B

Biologia molecolare della cellula, IV edizione Alberts et al., Zanichelli, 2003. Cap. 19, 24, 25.

Bacterial disease mechanisms M. Wilson, (Cambridge University Press 2002)

Cellular microbiology P. Cossart ASM 2005.

Articoli originali

Per gli argomenti trattati possono essere consultati anche altri testi di *Biologia cellulare e molecolare* (ad es., Alberts et al.: *Biologia Molecolare della Cellula*, V edizione, Ed. Zanichelli) e di *Biochimica* (ad es., Garrett e Grisham, *Biochimica*, Zanichelli; Nelson e Cox, *I Principi di Biochimica* di Lehninger, IV edizione, Zanichelli).

Obiettivi formativi

Obiettivo generale del corso è permettere allo studente di comprendere diversi processi cellulari complessi sia degli organismi procarioti che eucarioti

In particolare la parte A si prefigge di analizzare argomenti quali:

a) la biogenesi degli organelli e il traffico vescicolare nella cellula. Lo scopo dello studio di questi fenomeni è comprendere come sia "governata" la complessità all'interno della cellula mediante l'uso di specifici segnali e recettori;

b) il metabolismo dei nucleotidi e il metabolismo e trasporto dei lipidi, importanti precursori di macromolecole fondamentali come gli acidi nucleici e i lipidi di membrana, con la finalità di comprendere alcune

patologie molecolari a essi associate;

La familiarizzazione degli argomenti a) e b) permette di capire come le conoscenze a livello biochimico e molecolare possano essere utilizzate per lo sviluppo di nuovi farmaci.

In particolare la parte B si prefigge di analizzare argomenti quali:

a) la secrezione delle proteine, i meccanismi molecolari di comunicazione intra e intercellulare dei batteri al fine di comprendere come i batteri interagiscono e rispondono all'ambiente circostante.

b) I fattori di virulenza dei batteri patogeni, le tecniche di indagine e gli elementi di base della risposta immunitaria innata dell'ospite al fine di comprendere i meccanismi alla base del riconoscimento reciproco tra patogeni e organismi bersaglio nelle infezioni e nella risposta immunitaria.

Prerequisiti

Sono necessarie conoscenze di base dei principi fondamentali della biochimica e della biologia molecolare. Non sono previste propedeuticità.

Metodi didattici

Lezioni frontali con l'ausilio di videoproiezione e, ove necessario, la lavagna.

Le presentazioni ppt sono fornite agli studenti che possono scaricarle dalla piattaforma moodle all'indirizzo

<http://moodle.units.it/moodle/course/view.php?id=230> con richiesta di password al docente.

Modalità di verifica dell'apprendimento

L'esame di Biochimica cellulare consiste in una prova scritta con cinque domande a risposta aperta da svolgere in 2.5 ore. Le domande hanno un uguale peso e riguardano il programma svolto a lezione e sopra riportato. Alla fine del corso viene dedicata almeno una lezione di due ore allo svolgimento in classe di domande prese da compiti precedenti e viene spiegata agli studenti la modalità d'esame e la necessità di analizzare correttamente il testo della domanda affinché la risposta possa essere puntuale. Viene inoltre distribuito il testo di almeno 4 compiti precedenti affinché gli studenti abbiano a disposizione una casistica di esercizi che virtualmente copre l'intero programma e che permetta loro di valutare il livello di preparazione raggiunto. Infine, il docente è disponibile, su richiesta, a un'ulteriore lezione per svolgere problemi di compiti precedenti.

Programma esteso

Biogenesi degli organelli: via secretoria: generalità; sintesi proteica a livello di RER; peptide segnale, signal recognition particle (SRP), recettore di SRP e translocon; sintesi proteine di membrana e loro inserimento; classi topologiche e sequenze topogeniche; domini transmembrana e loro identificazione per via bioinformatica; modificazioni post-traduzionali nel RER e loro significato: folding e ruolo delle chaperonine; formazione e riarrangiamento dei ponti disolfuro (PDI), isomerizzazione della prolina (PPI), glicosilazione O-linked e N-linked e loro significato, ancore GPI e lipidiche; controllo di qualità del folding proteico.

Traffico vescicolare: meccanismi molecolari del trasporto vescicolare tra i diversi compartimenti; tipi di vescicole (COP I, COP II e con clatrina) e loro ruolo; funzione di proteine G e di loro effettori per l'assemblaggio delle vescicole; apparato molecolare per la formazione delle vescicole e per la selezione del materiale da trasportare; meccanismi di riconoscimento tra vescicole e membrana bersaglio: ruolo di Rab e loro effettori; complessi v-SNARE e t-SNARE e loro ruolo nel docking e nella fusione di membrana tra vescicole e bersaglio; segnale e recettore per il traffico tra cis-Golgi network e RER; vescicole di clatrina e complessi AP; endocitosi mediata da recettore: recettore delle LDL; compartimento endosomiale precoce e tardivo. Biogenesi dei lisosomi: mannosio 6-fosfato come segnale d'indirizzamento; recettore per il mannosio 6-fosfato; malattia delle cellule I e altre malattie da accumulo lisosomiale. Formazione dei granuli di secrezione (cromogranina e secretogranina); secrezione costitutiva e regolata; maturazione proteolitica delle pro-proteine.

Biogenesi di mitocondri, cloroplasti e perossisomi: indirizzamento delle proteine ai mitocondri e segnali che lo determinano; sistemi di attraversamento delle membrane mitocondriali e siti di contatto tra MME e MMI. Biogenesi dei cloroplasti e segnali d'indirizzamento nei loro diversi compartimenti; doppi segnali e sistemi di traslocazione per l'indirizzamento delle proteine alla membrana e al lume delle vescicole

tilacoidi. Ruolo metabolico dei perossisomi; segnali d'indirizzamento delle proteine nei perossisomi e ruolo delle peroxine nella biogenesi; formazione ex novo dei perossisomi a livello del RE; sindrome di Zellweger e adrenoleucodistrofia.

Metabolismo dei nucleotidi: biosintesi de novo dei nucleotidi purinici e pirimidinici e regolazione delle due vie; via di recupero delle basi; sintesi dei deossiribonucleotidi e del timidilato; catabolismo dei nucleotidi; gotta, farmaci antifolici e analoghi delle basi nella terapia antineoplastica e antivirale.

Metabolismo e trasporto dei lipidi: metabolismo dei lipidi complessi; colesterolo: cenni sulla sintesi e sulla sua regolazione (sistema SREBP-SCAP-INSIG); sintesi e ruolo dei sali biliari e loro ricircolo entero-epatico; proteine ABC nel movimento trans-membrana dei lipidi; lipoproteine e loro classi: struttura, ruolo e metabolismo di chilomicroni, VLDL, LDL e HDL; ipercolesterolemia familiare; aterosclerosi e ruolo di LDL e HDL nella sua genesi; statine.

Sviluppo di nuovi farmaci: concetti generali; metodi classici e moderni per giungere a un composto guida; librerie di composti per sfruttare la "biodiversità" molecolare; regole di Lipinski; fasi pre-clinica e clinica dello sviluppo di un farmaco; parametri ADMET; metabolismo dei farmaci: reazioni di ossidazione dipendenti da citocromi P450 e reazioni di coniugazione; polimorfismi nei geni CYP e loro effetto sul metabolismo di farmaci; esempi di farmaci e loro meccanismo d'azione; sviluppo di nuovi farmaci antitumorali e antivirali: Glivec e inibitori dell'aspartico-proteasi di HIV. Terapia enzimatica sostitutiva; biofarmaci.



Testi in inglese

Italian

PartA

Secretory pathway: protein synthesis at the RER level; signal peptide and its receptor; translocon; membrane proteins: topological classes and transmembrane domains; post-translational modifications: folding and molecular chaperones; disulfide bonds (PDI), Pro isomerization (PPI), glycosylation, GPI and lipid anchors; folding quality control.

Vesicular traffic: types of transport vesicles (COP I, COP II and with clathrin) and their role; G-proteins and their effectors in the assembly of vesicles; mechanisms of selection of cargo; mechanisms of recognition between transport vesicles and target membranes: role of Rabs, Rab effectors, v-SNARE and t-SNARE; KDEL signal and its receptor for the retrieval of ER-resident proteins; clathrin vesicles and AP complexes; receptor-mediated endocytosis: LDL receptor; early and late endosomal compartments. Biogenesis of lysosomes: mannose 6-phosphate and its receptor; lysosomal storage diseases. Biogenesis of the secretory granules; constitutive and regulated secretion; proteolytic processing. Metabolism of nucleotides: de novo synthesis of purines and pyrimidines and pathway regulation; salvage pathway; synthesis of deoxyribonucleotides and thymidylate; catabolism of nucleotides; gout; antifolic drugs and base analogues in anticancer and antiviral therapy. Metabolism and transport of lipids; cholesterol: synthesis and its regulation (SREBP-SCAP-INSIG); synthesis, role and enterohepatic recycling of bile salts; ABC proteins in the transport of lipids; lipoproteins: chylomicrons, VLDL, LDL and HDL; familial hypercholesterolemia; atherosclerosis and role of LDL and HDL; statins and cholestyramine. Development of new drugs: general concepts; classical and novel methods to identify lead compounds; combinatorial libraries; Lipinski rules; pre-clinical and clinical phases; ADMET; drug metabolism: oxidation reactions by cytochromes P450, conjugation reactions; effect of the polymorphisms of the CYP genes on drug metabolism; examples of drugs and of their mechanism; novel anticancer and antiviral drugs: Glivec and inhibitors of HIV protease. Enzyme replacement therapy; biopharmaceuticals.

Part B

Relationship between microorganisms and host organism. Microbiota and pathogenic organisms. Pathogenesis, virulence factors and host response.

Molecular biology of bacteria: components associated to the membranes, the protein secretion systems. The intracellular signaling in bacteria.

Genetic aspects of virulence: phase variation, antigenic variation, pathogenicity islands.

Extracellular matrix, receptors of cell surface as target sites of adhesion for pathogens. Tissue tropism.

Mechanisms of host cell invasion, induction of phagocytosis and endocytosis. Intracellular proliferation and survival strategies. Manipulation of the bacterial host cell.

Exotoxins and bacterial endotoxin: mechanisms of action of α -toxin, shiga toxin, diphtheria toxin, cholera toxin.

Molecular methods to study virulence factors: mutational analysis, "Signature-tagged mutagenesis", "in vivo expression technology".

Innate immunity, recognition of pathogens by the immune system. Toll-like receptors. Activation of intracellular signaling by bacterial LPS.

Cellular responses: phagocytosis and other antimicrobial mechanisms. Dendritic cells and activation of the acquired immune system.

Part A

Lodish, Berk, Kaiser, Krieger, Scott, Bretscher, Ploegh, Matsudaira: *Biologia Molecolare della Cellula*, III Italian edition Ed. Zanichelli (Chapters 13 and 14 biogenesis of cellular organelles and vesicular trafficking).

Lodish, Berk, Matsudaira, Kaiser, Krieger, Scott, Zipursky e Darnell - *Molecular Cell Biology*, V edition, W.H. Freeman and Company, New York (Chapters 16 and 17 and 18)

Berg, Tymoczko, Stryer: *Biochimica*, VI edition, Ed. Zanichelli (Chapters 25 and 35).

Lewin, Cassimeris, Lingappa, Plopper: *Cellule*, I edition, Ed. Zanichelli (Chapters 3 and 4)

Devlin: *Biochemistry with clinical aspects*, VII edition, John Wiley & Sons Ed. (Chapter 11 for P450 cytochromes).

Part B

Molecular biology of the cell, IV edizione, Alberts et al., Zanichelli, 2003. Chapters 19, 24, 25.

Bacterial disease mechanisms M. Wilson, (Cambridge University Press 2002)

Cellular microbiology, P. Cossart ASM 2005.

Original articles

Other reference texts on cellular and molecular biology and biochemistry may be used as supplementary material (e.g. Alberts et al.: *Biologia Molecolare della Cellula*, V edizione, Ed. Zanichelli; Garrett e Grisham, *Biochimica*, Zanichelli; Nelson e Cox, *I Principi di Biochimica* di Lehninger, IV edizione, Zanichelli).

Aim of the course is to provide the students adequate information to allow them to understand complex cellular processes at the level of prokaryotic and eukaryotic organisms.

Part A in particular aims at analysing topics such as: the biogenesis of cellular organelles and vesicular traffic. Aim of this part of the program is to understand how cells deal with complexity by using specific signals and receptors. Metabolism of nucleotides and metabolism and transport of lipids: nucleotides and lipids are precursors of primary macromolecules such as nucleic acids and membrane lipids. These metabolisms are also linked to important human pathologies. In this respect, the development of new drugs will be approached by taking into account classical and novel methods to identify lead compounds.

Part B in particular aims to analyze topics such as:

Protein secretion, the molecular mechanisms of intra- and intercellular communication between bacteria in order to understand how bacteria interact with and respond to the surrounding environment.

Virulence factors of pathogenic bacteria, applied techniques and the basic elements of innate immune response of the host in order to

understand the underlying mechanisms of mutual recognition between the target organisms and pathogens in infections and immune response.

Basic knowledge of the basic principles of biochemistry and molecular biology are required, no preparatory courses are necessary.

Lessons are delivered using powerpoint slides and, when necessary, with the aid of a blackboard.

Powerpoint presentation are downloadable from the Moodle platform at <http://moodle.units.it/moodle/course/view.php?id=230> asking for a password to the lecturer.

The exam is a written test consisting of five essay-type questions or exercises. The duration of the test is 2.5 hours. The questions concern the program carried out during the lesson period and each question has the same weight.

At least a 2 h lesson at the end of the course is dedicated to solving exercises taken from previous tests. The students are thought to analyse carefully the text in order to properly answer the questions. In addition, at least four past examinations are provided to the students for self-training and for self-assessment. The lecturer is available for a further lesson dedicated to solve these problems, if required.

Part A

Secretory pathway: protein synthesis at the RER level; signal peptide and its receptor; translocon; membrane proteins: topological classes and transmembrane domains; post-translational modifications: folding and molecular chaperones; disulfide bonds (PDI), Pro isomerization (PPI), glycosylation, GPI and lipid anchors; folding quality control.

Vesicular traffic: types of transport vesicles (COP I, COP II and with clathrin) and their role; G-proteins and their effectors in the assembly of vesicles; mechanisms of selection of cargo; mechanisms of recognition between transport vesicles and target membranes: role of Rabs, Rab effectors, v-SNARE and t-SNARE; KDEL signal and its receptor for the retrieval of ER-resident proteins; clathrin vesicles and AP complexes; receptor-mediated endocytosis: LDL receptor; early and late endosomal compartments. Biogenesis of lysosomes: mannose 6-phosphate and its receptor; lysosomal storage diseases. Biogenesis of the secretory granules; constitutive and regulated secretion; proteolytic processing. Metabolism of nucleotides: de novo synthesis of purines and pyrimidines and pathway regulation; salvage pathway; synthesis of deoxyribonucleotides and thymidylate; catabolism of nucleotides; gout; antifolic drugs and base analogues in anticancer and antiviral therapy. Metabolism and transport of lipids; cholesterol: synthesis and its regulation (SREBP-SCAP-INSIG); synthesis, role and enterohepatic recycling of bile salts; ABC proteins in the transport of lipids; lipoproteins: chylomicrons, VLDL, LDL and HDL; familial hypercholesterolemia; atherosclerosis and role of LDL and HDL; statins and cholestyramine. Development of new drugs: general concepts; classical and novel methods to identify lead compounds; combinatorial libraries; Lipinski rules; pre-clinical and clinical phases; ADMET; drug metabolism: oxidation reactions by cytochromes P450, conjugation reactions; effect of the polymorphisms of the CYP genes on drug metabolism; examples of drugs and of their mechanism; novel anticancer and antiviral drugs: Glivec and inhibitors of HIV protease. Enzyme replacement therapy; biopharmaceuticals.

Part B

Relationship between microorganisms and host organism. Microbiota and pathogenic organisms. Pathogenesis, virulence factors and host response.

Molecular biology of bacteria: components associated to the membranes, the protein secretion systems. The intracellular signaling in bacteria.

Genetic aspects of virulence: phase variation, antigenic variation, pathogenicity islands.

Extracellular matrix, receptors of cell surface as target sites of adhesion for pathogens. Tissue tropism.

Mechanisms of host cell invasion, induction of phagocytosis and endocytosis. Intracellular proliferation and survival strategies. Manipulation of the bacterial host cell.

Exotoxins and bacterial endotoxin: mechanisms of action of α -toxin, shiga toxin, diphtheria toxin, cholera toxin.

Molecular methods to study virulence factors: mutational analysis, "Signature-tagged mutagenesis", "in vivo expression technology".

Innate immunity, recognition of pathogens by the immune system. Toll-like receptors. Activation of intracellular signaling by bacterial LPS.

Cellular responses: phagocytosis and other antimicrobial mechanisms. Dendritic cells and activation of the acquired immune system.