Biochimica Applicata

Anno accademico 2024-2025

Applicazioni biotecnologiche degli enzimi. Proprietà degli enzimi: chemio-, regio- e stereoselettività. Inibizione enzimatica reversibile, irreversibile e 'suicida': esempi di importanza pratica (inibizione della sintesi dei coenzimi folici, della timidilato sintasi e della beta-lattamasi). Produzione di enzimi e proteine ricombinanti: metodi e strategie. Ingegnerizzazione degli enzimi: mutagenesi sito-specifica ed evoluzione in vitro. Principali tecniche di immobilizzazione delle cellule e degli enzimi. Biocatalizzatori: utilizzo di proteasi, lipasi e penicillina acilasi per la preparazione di composti di interesse biotecnologico (antibiotici semi-sintetici, precursori di farmaci, aromi).
Sistemi multienzimatici nella biosintesi di metaboliti secondari bioattivi. Biosintesi non ribosomiale di metaboliti peptidici. Meccanismo enzimatico delle sintetasi peptidiche. Esempi (gramicidina, surfactina, penicilline e cefalosporine). Biosintesi dei polichetidi. Meccanismo delle polichetide sintasi e analogie con la sintesi degli acidi grassi. Esempi (eritromicina, statine). Approcci biologici per la produzione di analoghi strutturali di metaboliti naturali (biosintesi diretta da precursore, modificazioni dei geni biosintetici).
Metodi di studio delle interazioni proteina-proteina. Metodi biochimici per identificare proteine che interagiscono: cromatografia di affinità e uso dei cross-linker. Sistemi basati sulle split-proteins. Metodi biochimici per lo studio quantitativo delle interazioni proteina-proteina.
Biosensori. Componente 'bio' e componente 'sensore'. Applicazioni di biosensori nelle analisi biomediche, alimentari e della rivelazione degli inquinanti ambientali.
Biochimica dei metalli. Metalloproteine e aspetti del metabolismo dei metalli. Meccanismi di omeostasi del rame e del ferro in procarioti ed eucarioti.

Esercitazioni
Immobilizzazione di cellule di lievito in alginato
Cromatografia di affinità
Dosaggio delle proteine

Applied Biochemistry

Academic year 2022-2023

Biotechnological applications of enzymes. Properties of enzymes: chemo-, regio- and stereo-selectivity. Reversible, irreversible and 'suicide' enzyme inhibition: practical examples (inhibition of the biosynthesis of folic coenzymes, inhibition of thymidylate synthase and beta-lactamase). Main techniques of cell and enzyme immobilization. Use of proteases, lipases and penicillin acylase for production of biotechnologically relevant compounds. Production of recombinant enzymes and proteins: methods and strategies. Enzyme engineering: site-specific mutagenesis, in vitro evolution.
Multienzymatic systems for biosynthesis of bioactive secondary metabolites. Non-ribosomal biosynthesis of peptides. Enzyme mechanism of peptide synthetases. Examples (gramicidin, surfactin, penicillins and cefalosporins). Biosynthesis of polyketides. Mechanism of polyketide formation and analogies with fatty acid biosynthesis. Examples (erythromycin).
Methods for the study of protein-protein interactions. Biochemical methods to identify interacting proteins: affinity chromatography, ligand blot and use of cross-linkers. Systems based on split-proteins. Biochemical methods for the quantitative study of protein-protein interactions.
Biosensors. The 'bio' and the 'sensor' components. Examples of applications for biomedical, food and pesticide analyses.
Metallobiochemistry. Metalloproteins and aspects of metabolism of metals. Mechanisms of copper and iron homeostasis in prokaryotes and eukaryotes.

Guided activities
Immobilization of yeast cells in alginate
Affinity chromatography
Protein assay (Bradford)