

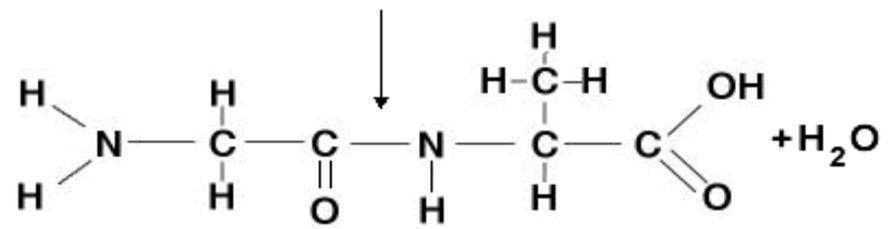
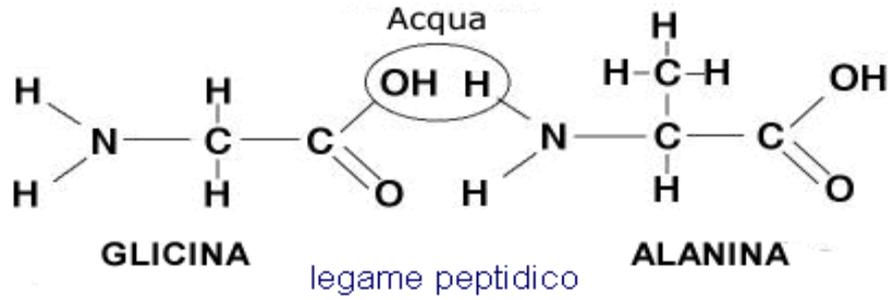
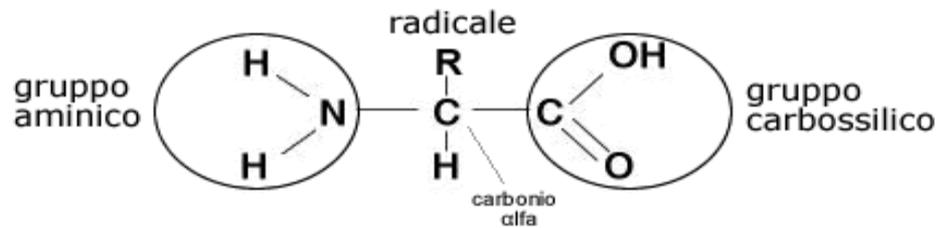
Un organismo vivente è un sistema chimico complesso nel quale la materia organica viene sintetizzata, riprodotta, trasformata e decomposta in un incessante ed intenso susseguirsi di reazioni e processi chimici attraverso i quali si svolgono tutte le funzioni biologiche.

Noi sappiamo che la materia vivente è costituita in gran parte da polimeri naturali riconducibili a tre tipi fondamentali : proteine, acidi nucleici, carboidrati. A questi si aggiungono i lipidi, l'acqua, i sali minerali, altre sostanze particolari come le vitamine ed infine i **catalizzatori biologici o enzimi.**

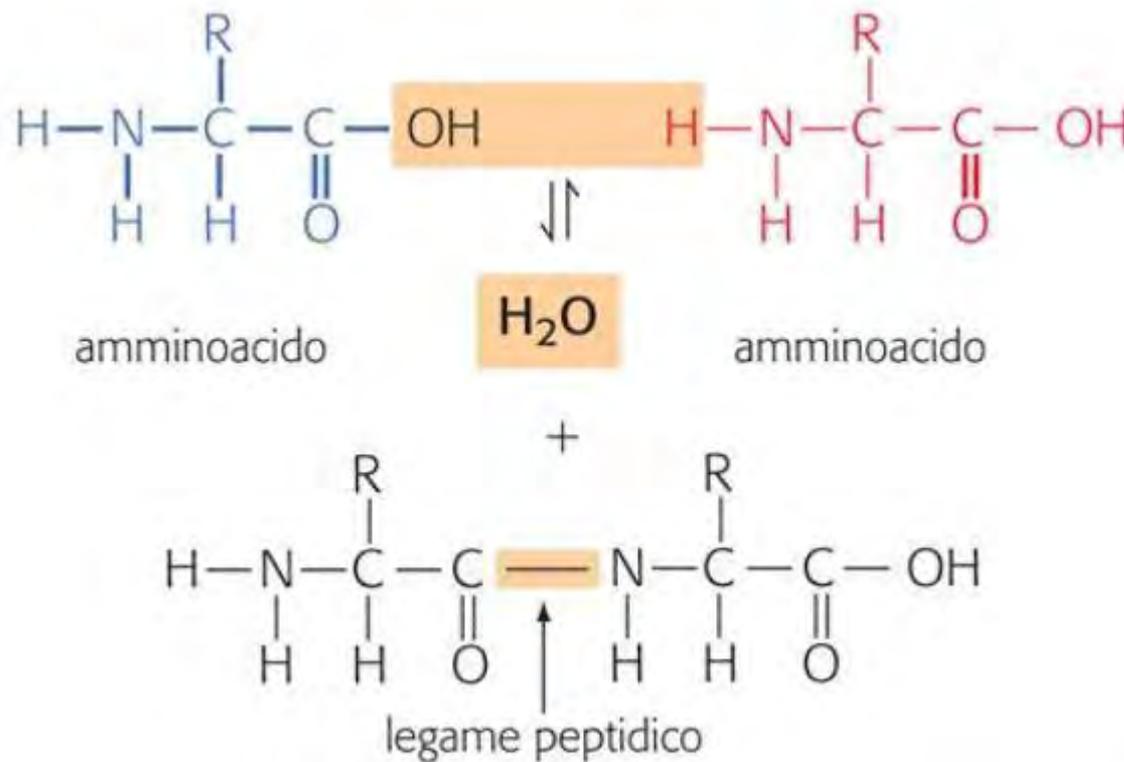
1 lezione: AMMINOACIDI E PROTEINE

Cosa sono gli amminoacidi?

- 1 Rappresentano l'unità strutturale primaria delle proteine.
- 2 Composto organico caratterizzato dal gruppo carbossilico (COOH) ed un gruppo aminico (NH₂).
- 3 Ogni amminoacido si contraddistingue dagli altri per la presenza di un residuo (R).



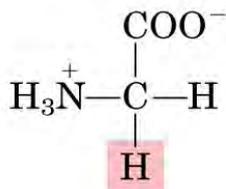
4 IL LEGAME PEPTIDICO



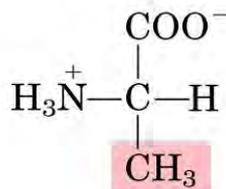
Il legame covalente che unisce il gruppo carbossilico di un amminoacido con il gruppo amminico di un altro (con eliminazione di una molecola d'acqua).

5 In natura, esistono 20 amminoacidi

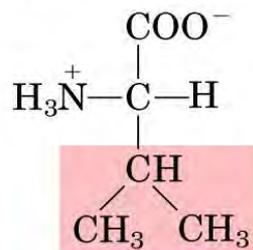
Nonpolar, aliphatic R groups



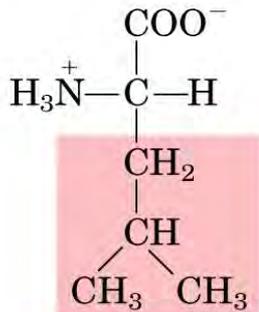
Glycine



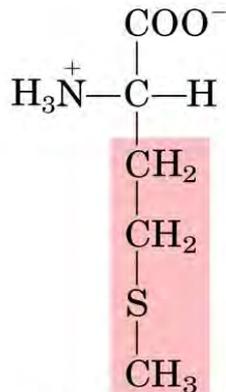
Alanine



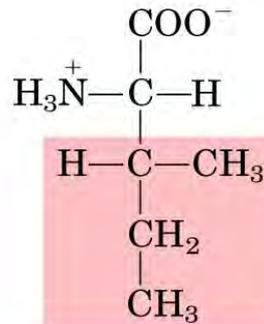
Valine



Leucine

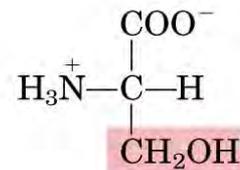


Methionine

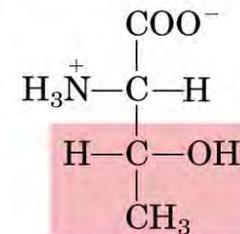


Isoleucine

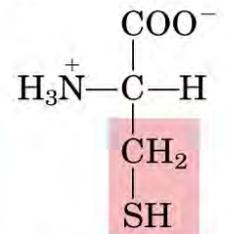
Polar, uncharged R groups



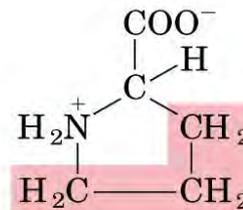
Serine



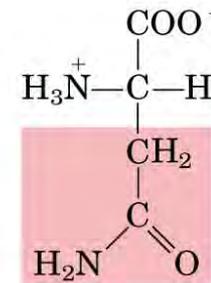
Threonine



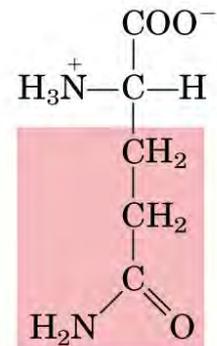
Cysteine



Proline



Asparagine



Glutamine

LE PROTEINE

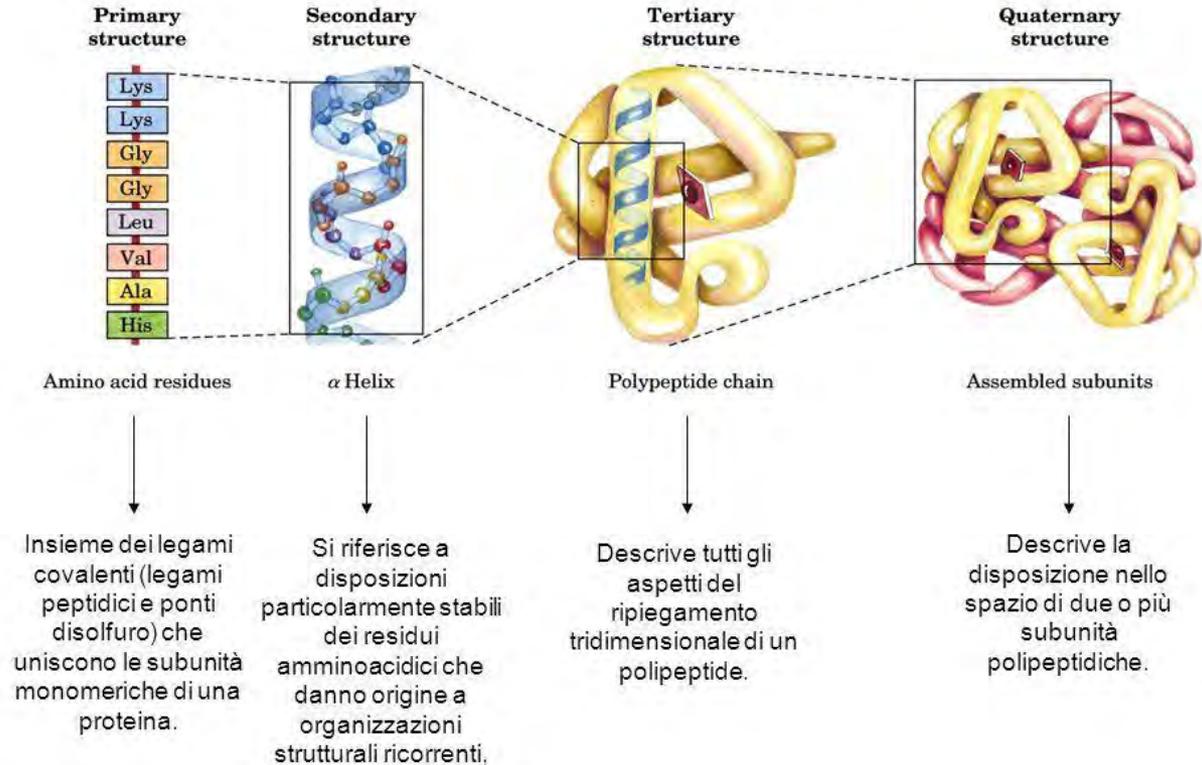
Le proteine sono elementi essenziali per la vita :

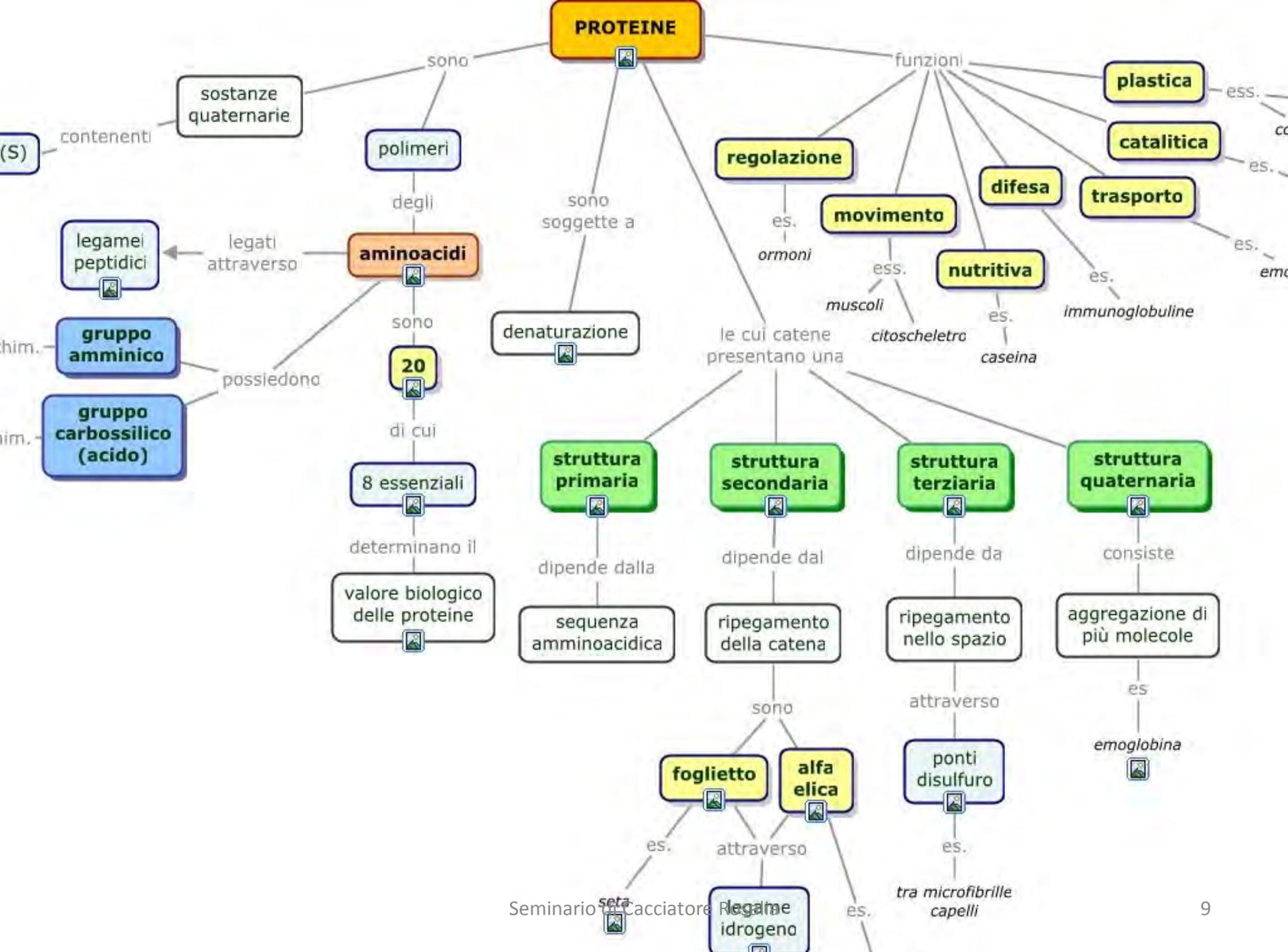
- Crescita,
- Riparazione,
- Funzionamento
- Struttura



Struttura delle proteine

Le proteine hanno diversi livelli di struttura





Steps di purificazione:

Estratto grezzo

Frazionamento

Dialisi

Cromatografia

- il campione è introdotto nella fase mobile, che può essere un gas, un liquido o un fluido supercritico;
- la fase mobile viene fatta eluire in continuo attraverso la fase stazionaria, che deve essere immiscibile nell'eluente;
- fase stazionaria (liquida o solida) si trova all'interno di una colonna oppure è supportata su una superficie piana;
- la fase mobile e la fase stazionaria sono scelte in modo che i componenti della miscela da separare si distribuiscano tra le due fasi

- i componenti più affini alla fase stazionaria passeranno più tempo in questa fase, quindi si sposteranno più lentamente attraverso il sistema;
- i componenti più affini alla fase mobile si sposteranno invece più velocemente;
- La separazione dei componenti avviene in quanto ogni sostanza ha una distribuzione caratteristica tra le due fasi (coefficiente di ripartizione.)

- Il coefficiente di partizione, K_d , descrive il modo in cui un composto si distribuisce tra due fasi immiscibili; ad una determinata temperatura, per una sostanza che si distribuisce tra volumi uguali di due fasi tra loro immiscibili, A e B, il valore di questo coefficiente è una costante e si definisce:

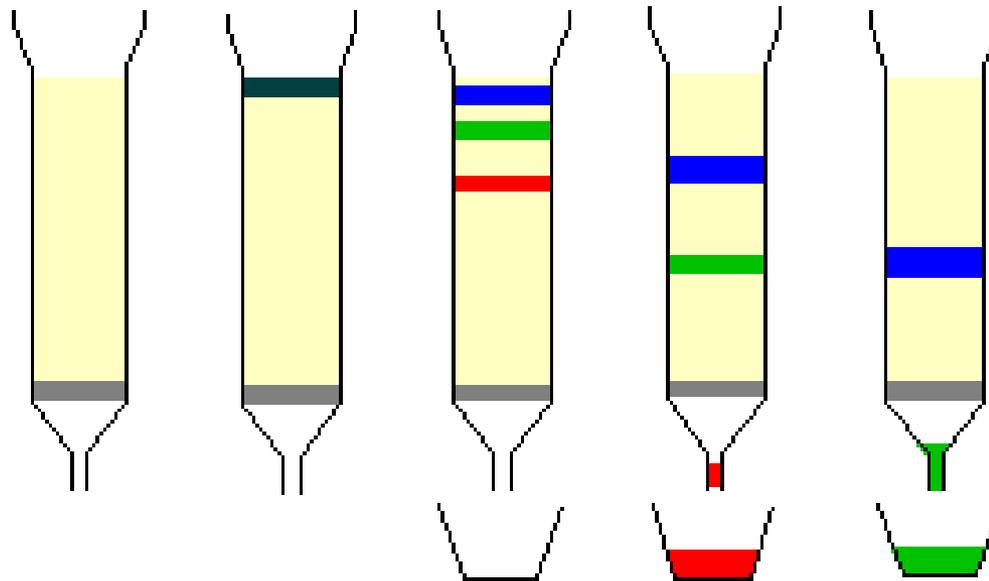
$$K_d = \frac{\text{concentrazione nella fase A}}{\text{concentrazione nella fase B}}$$

column
containing
stationary
phase

load
sample

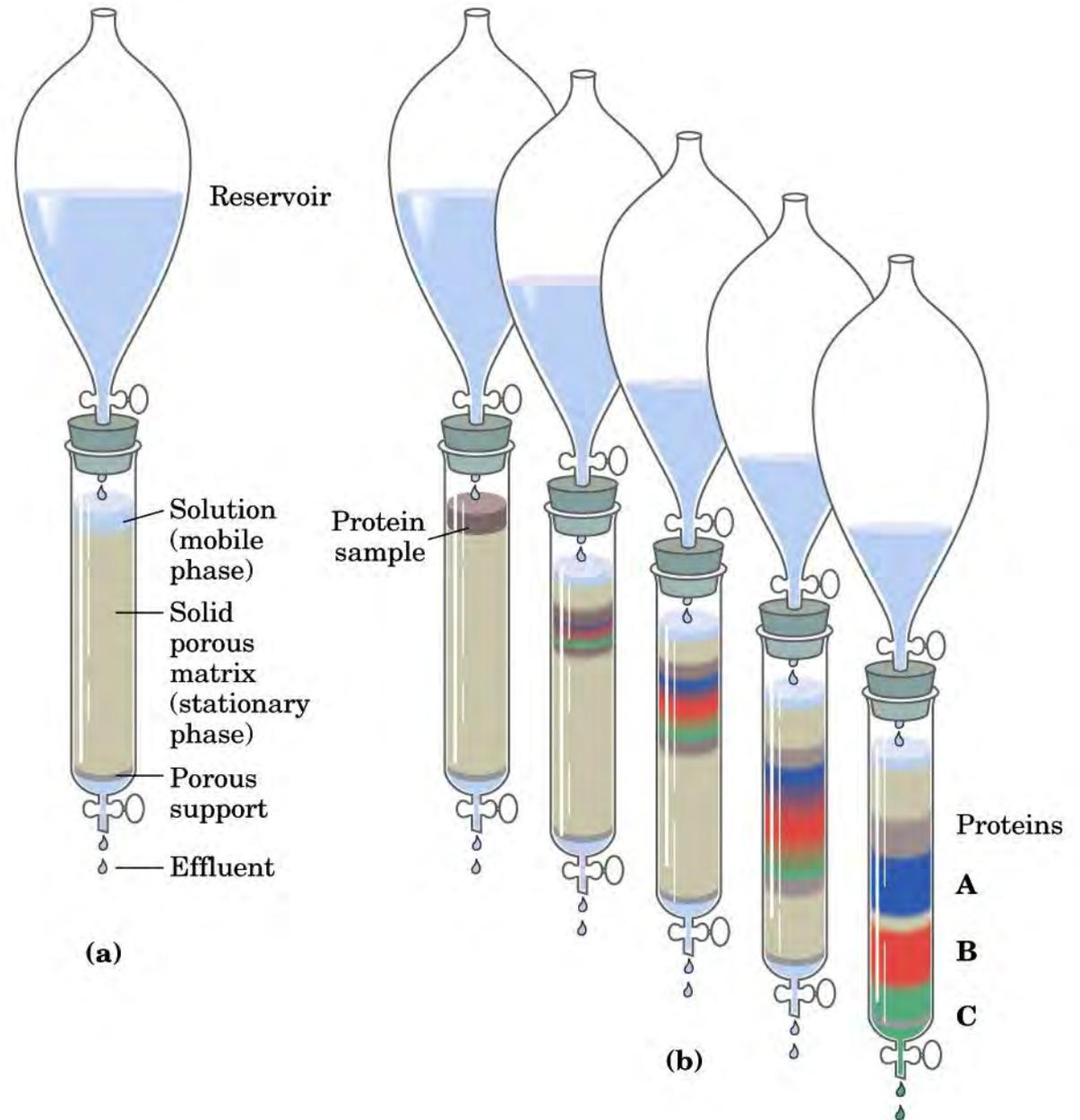
add
solvent

© 1996 B. M. Tissue
www.scimedia.com

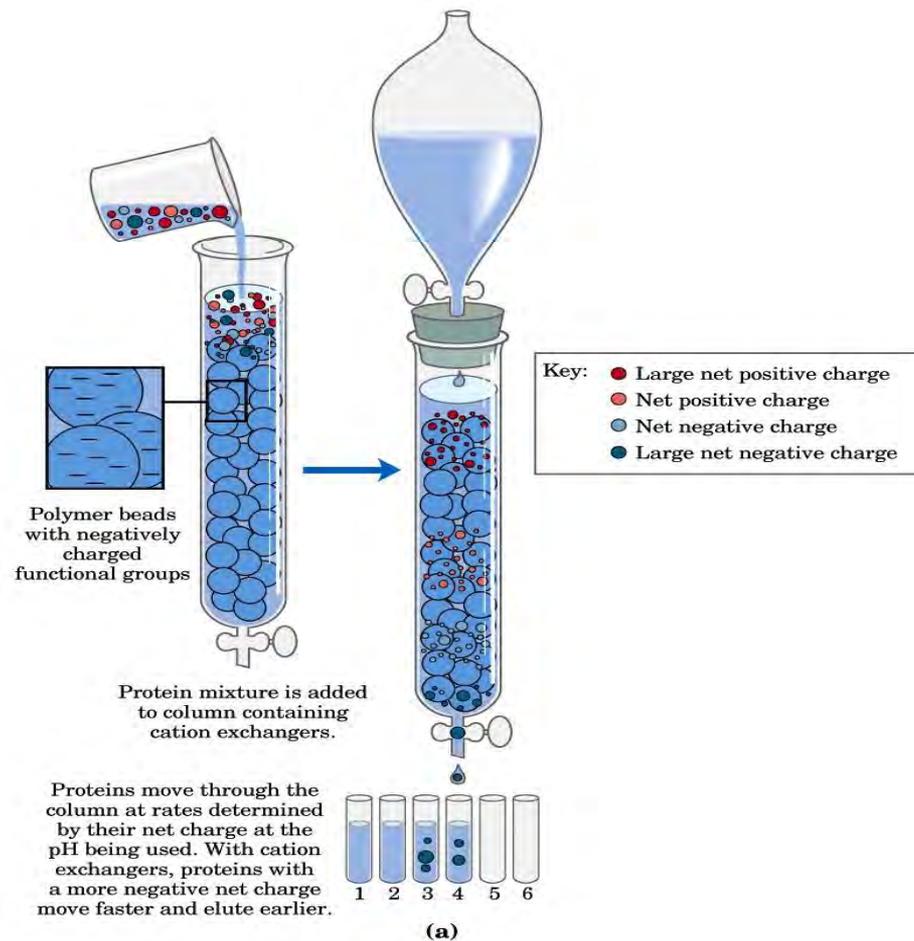


collect
components

*Cromatografia
su
colonna*



Cromatografia a scambio ionico



Negli **scambiatori anionici** la resina espone gruppi carichi positivamente (in generale, gruppi basici) che attraggono molecole cariche negativamente, e ne favoriscono l'adsorbimento sulla fase solida, mentre le molecole neutre o cariche positivamente vengono eluite nel tempo morto della colonna. Gli **scambiatori cationici** possiedono invece gruppi carichi negativamente (acidi) e attraggono, quindi, molecole cariche positivamente.

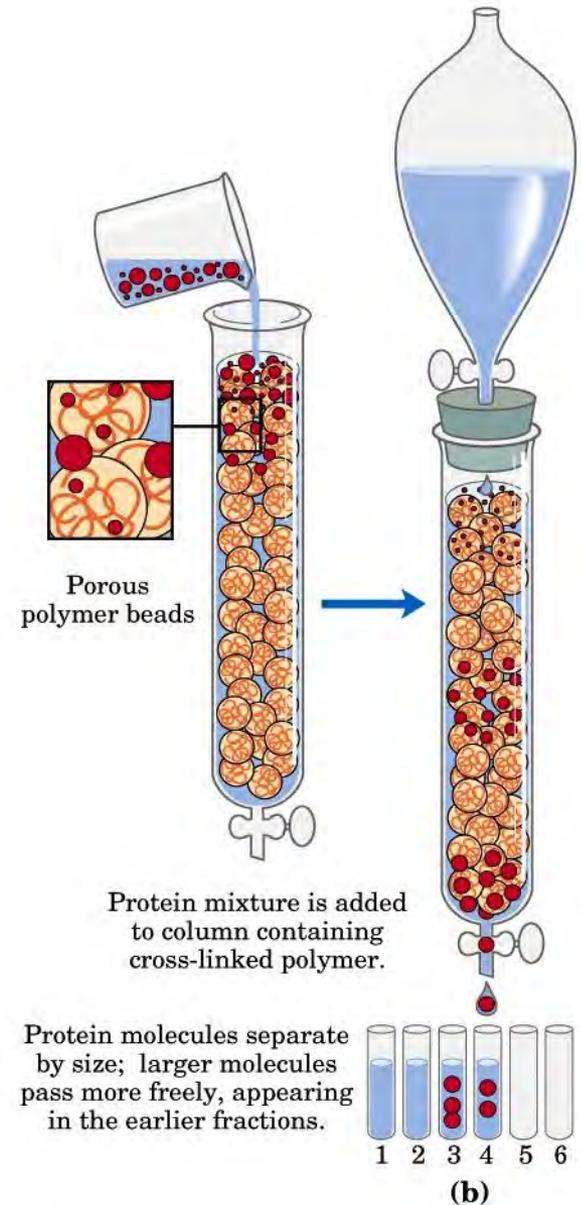
Cromatografia per esclusione molecolare o Gel filtrazione

Si basa sulle diverse dimensioni dei soluti da separare

La **cromatografia di esclusione molecolare** è un processo di analisi che si utilizza per separare sostanze organiche aventi elevati pesi molecolari, soprattutto proteine e macromolecole.

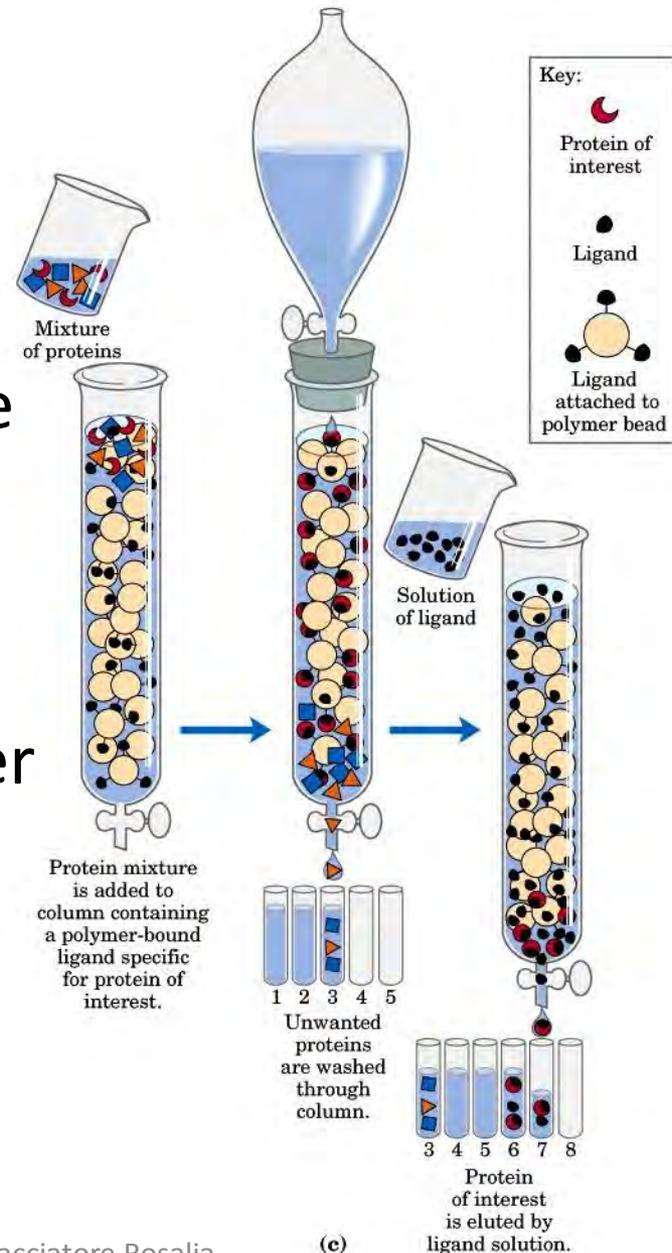
Le molecole più grandi eluiranno
più velocemente

Le molecole piccole penetrano dentro i
granuli di gel e sono ritardate



Cromatografia per affinità

La **cromatografia di affinità** è una tecnica cromatografica che si basa sulle interazioni che si formano tra una sostanza ed il relativo ligando, si viene a formare un legame chimico, per esempio una proteina che ha come ligando l'ATP.



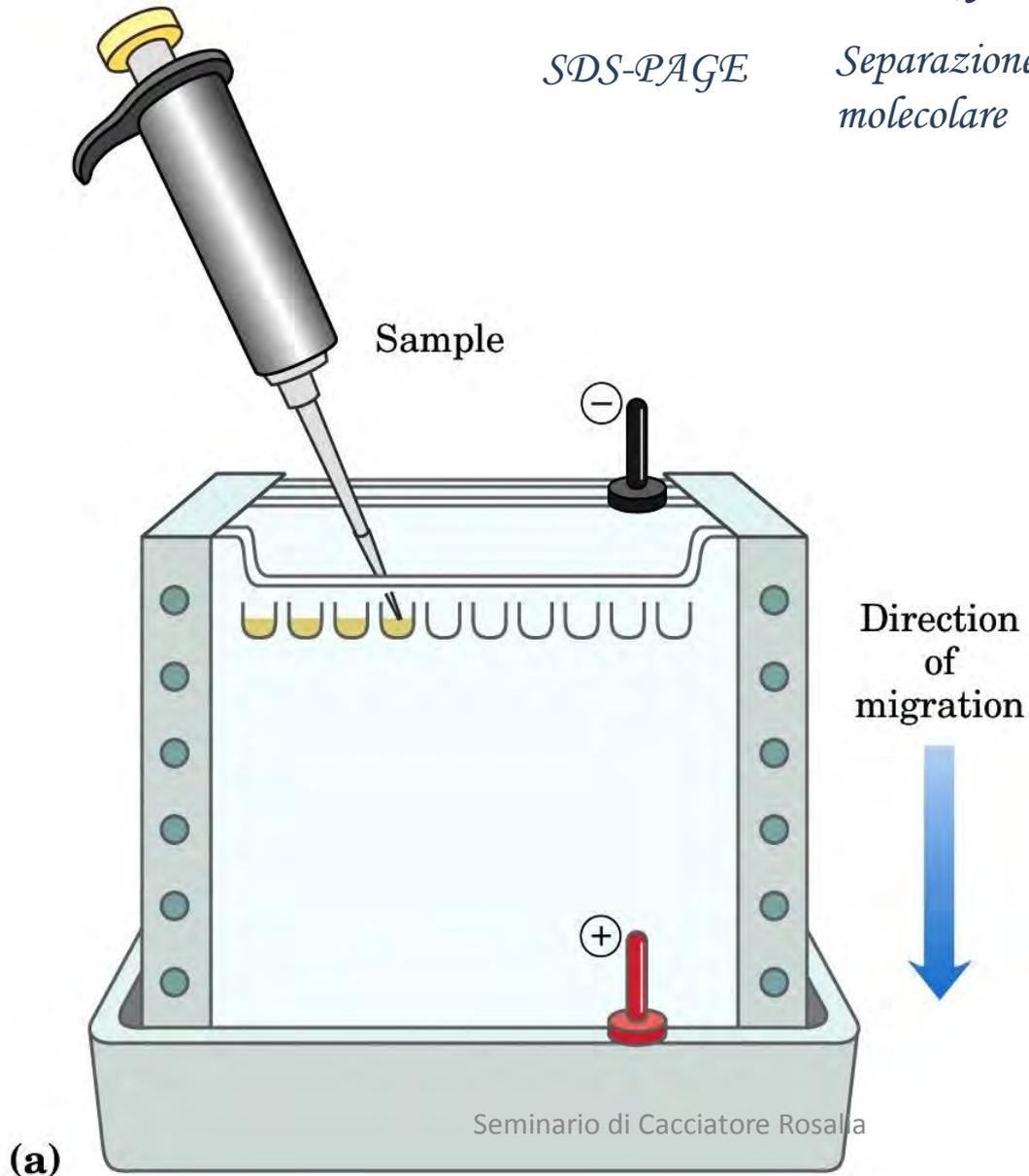
Elettroforesi

Velocità di migrazione: campo elettrico, massa/carica, forma

$$v = E z / f$$

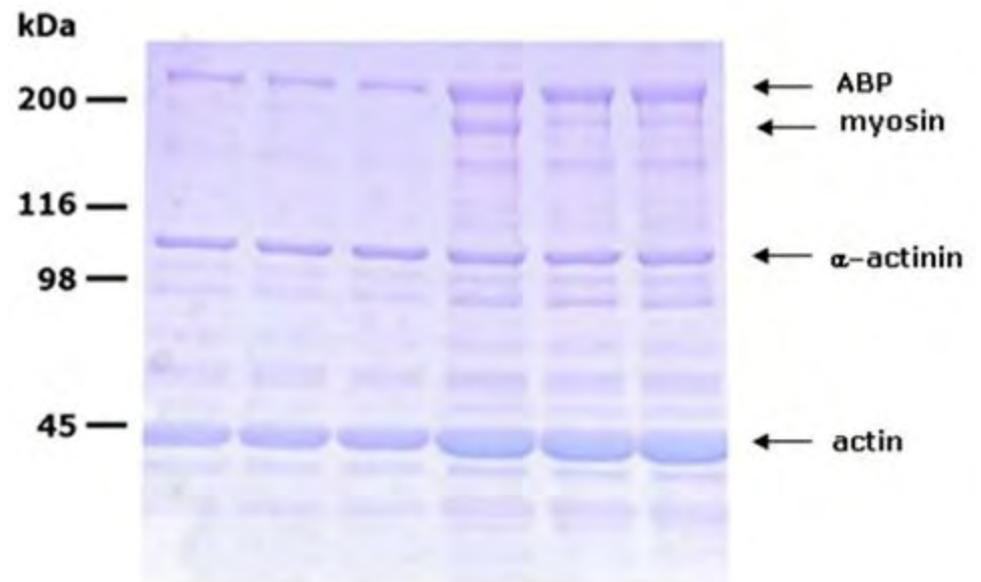
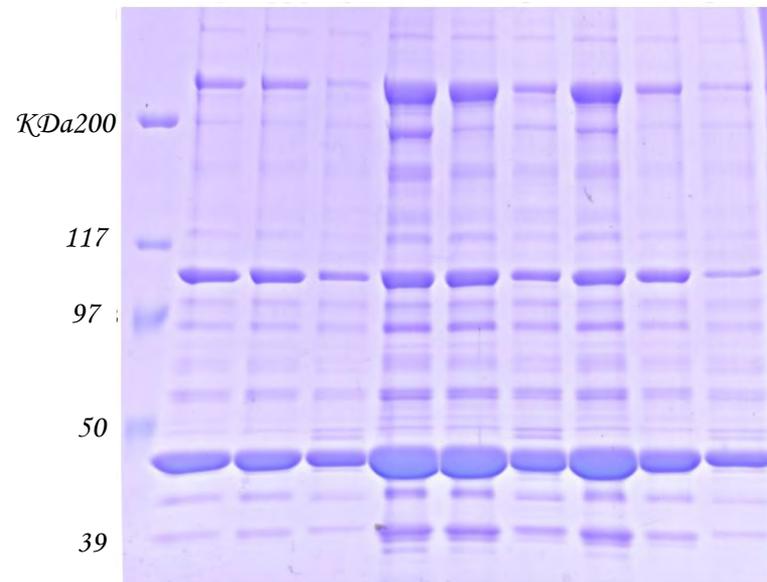
SDS-PAGE

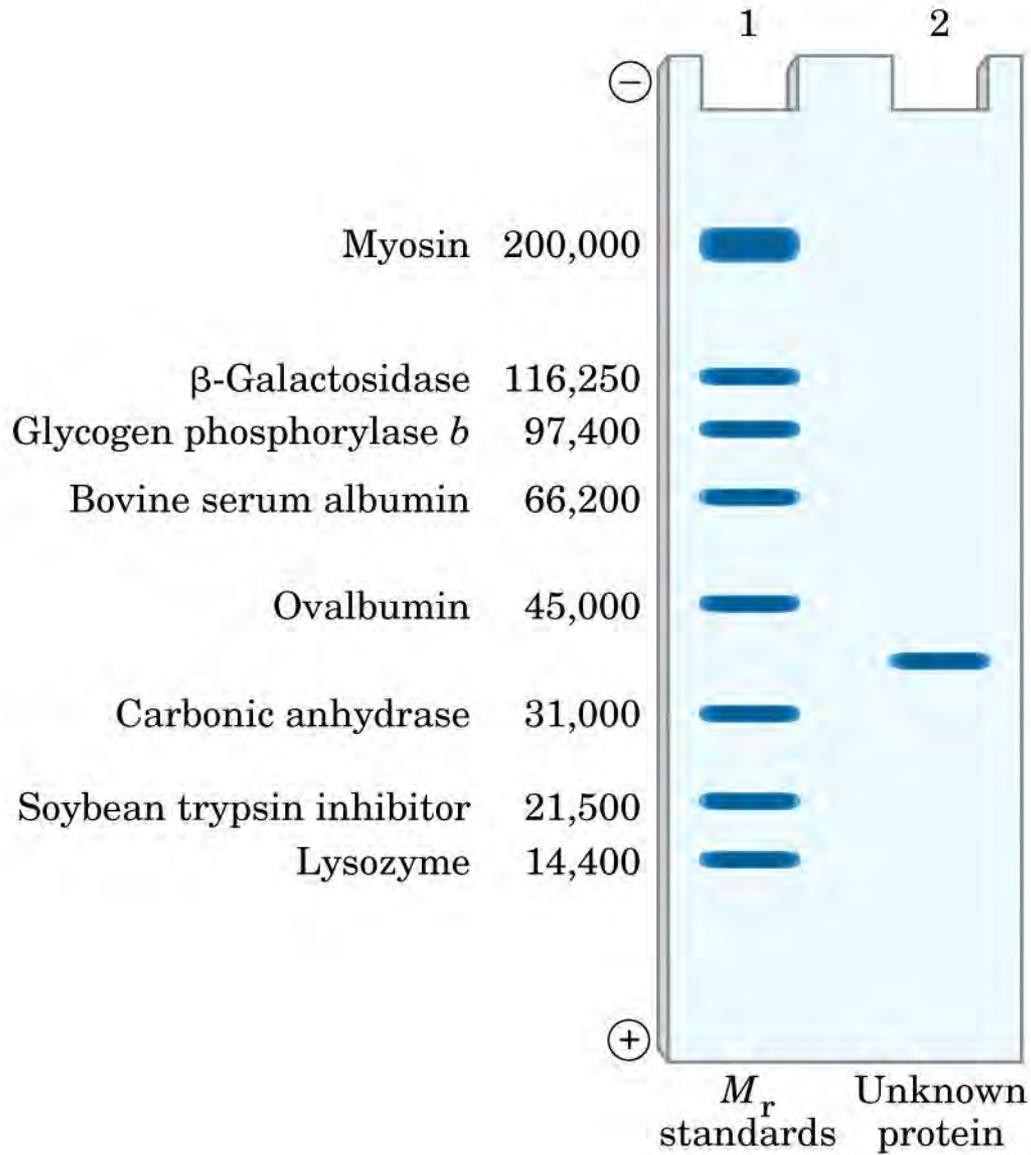
Separazione in base alla massa molecolare



Visualizzazione delle proteine con Blue di Coomassie

MrStandard





(a)