



1

Metalli nella tavola periodica

H																			He
Li	Be											B	C	N	O	F		Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl		Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br		Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I		Xe	
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At		Rn	
Fr	Ra	Ac	Rf	Ha															
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu			
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr			

- Metalli tossici
- Metalli alcalini e alcalino-terrosi
- Altri metalli

- Anfoteri
- Gas nobili
- Altri elementi

gs © 2001-2020 ver 3.7 F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

2

Classificazione dei metalli da un punto di vista biologico

H																	He	
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne	
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar	
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr	
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe	
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn	
Fr	Ra	Ac	Rf	Ha														
			Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	Tm	Yb	Lu		
			Th	Pa	U	Np	Pu	Am	Cm	Bk	Cf	Es	Fm	Md	No	Lr		

- Classe A**
 - Affinità per ligandi: $F^- > Cl^- > Br^- > I^-$
 - Affinità per donatori di e^- : $O > N > S$
- Classe B** o al confine a secondo del numero di ossidazione
 - Affinità per donatori di e^- : $S > N > O$
- Tra la classe A e B**

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

3

Tossicità dei metalli

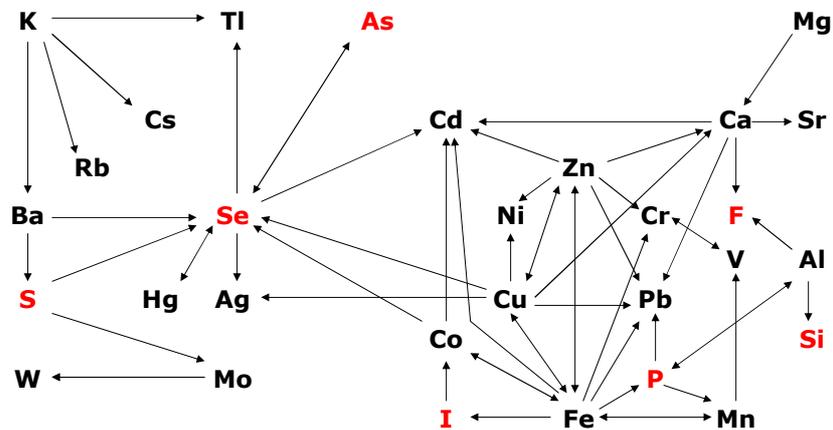
- I metalli non sono biodegradabili.
- La loro tossicità è dovuta a:
 - legame con molecole nell'organismo che ne alterino le funzione,
 - interferenza con acquisizione di metalli essenziali,
 - rimpiazzare i metalli essenziali nelle proteine in modo da alterarne le funzioni.
- Il rischio associato ai metalli è dovuto alla loro tossicità ed alla loro capacità di entrare nell'organismo.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

4

Interazione tra elementi



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

5

Assorbimento ed internalizzazione

- Solubilità nella fase lipidica dei composti organometallici: CH_3Hg , $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$.
- Trasporto attraverso sistemi di trasporto di altri metalli (Cd^{++} e Hg^{++} per Ca^{++}) o specifici.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

6

Mercurio

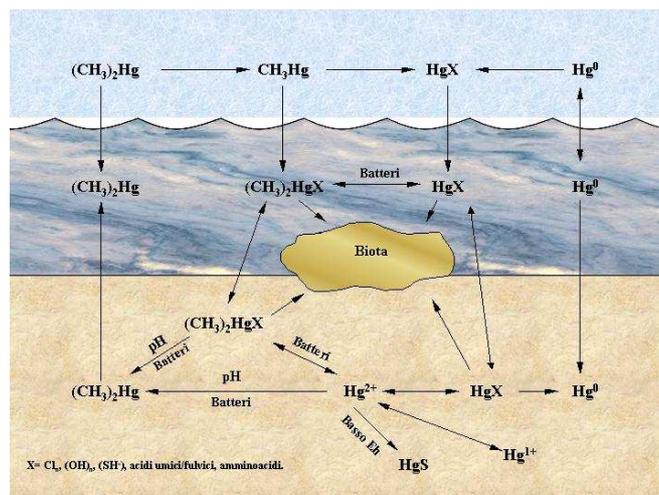
Hg^0 , Hg^+ , Hg^{++} , CH_3Hg^+ , $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

7

Mercurio

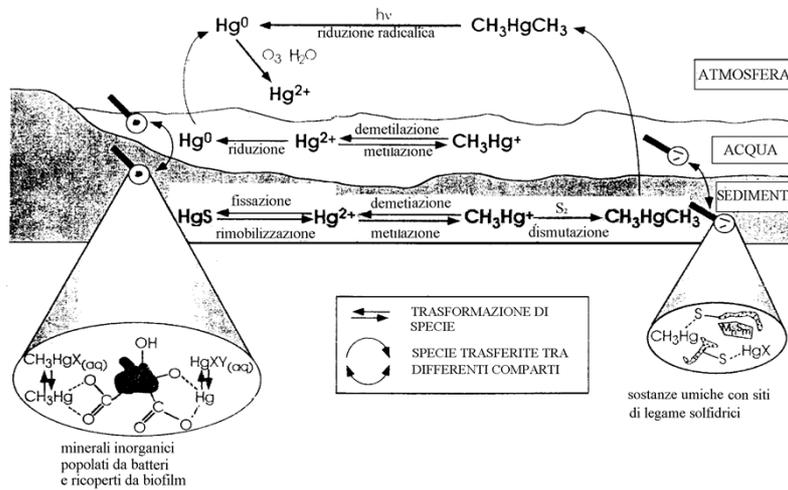


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

8

Mercurio



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

9

Stabilità dei complessi

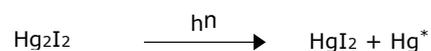
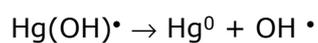
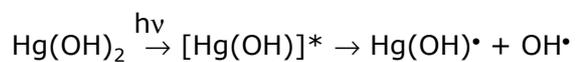
- Con acidi umici e fulvici
 $\text{Mg} < \text{Ca} < \text{Cd} = \text{Mn} < \text{Co} < \text{Zn} = \text{Ni} < \text{Cu} < \text{Hg}$
- Scarsa mobilità
- Con lo ione S^{2-} aumenta la stabilità e quindi diminuisce la mobilità

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

10

Fotochimica



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

11

Metilazione e demetilazione di Hg

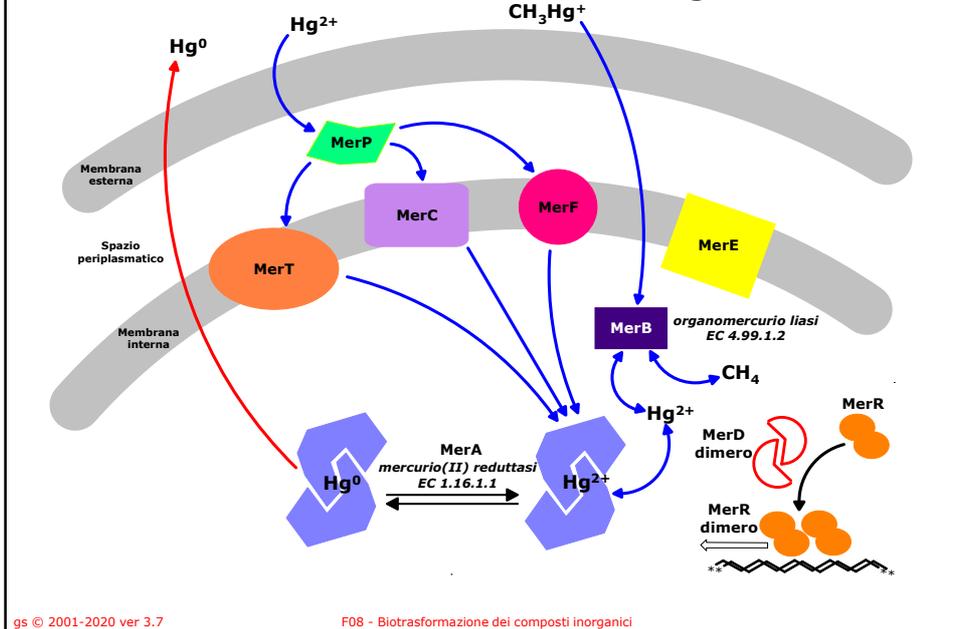
Specie capaci di metilare HgCl ₂	Specie capaci di demetilare CH ₃ Hg ⁺
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Microbacter phlei</i>	<i>Providencia sp.</i>
<i>Bacillus megaterium</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Lactobacilli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Aerobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Bifidobacteria</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Paracolonobacterium coliforme</i>
<i>C. cochlearium</i>	<i>Achromobacter pestifer</i>
<i>Aspergillus niger</i>	<i>Serratia plymuthica</i>
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	<i>Stafhylococcus sp.</i>
Batteri intestinali umani (streptococchi, stafilococchi, <i>E. coli</i> , lievito)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	<i>Bacillus subtilis</i>
	<i>Flavobacterium marino typicum</i>
	<i>Citrobacter intermedius</i>
	<i>Pseudomonas fragi</i>
	<i>Desulfovibrio desulfuricans</i> (anaerobico)

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

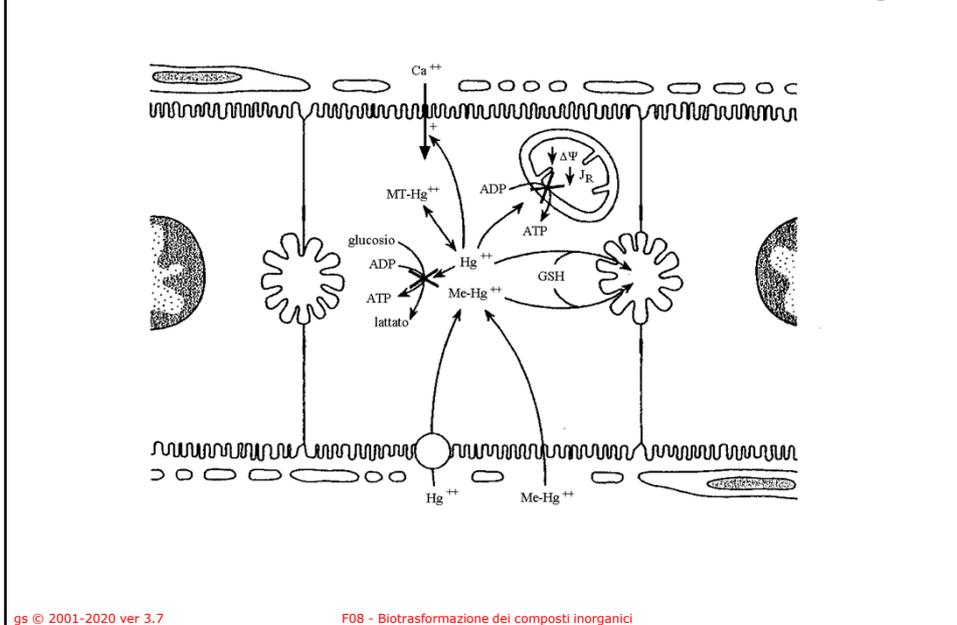
12

Meccanismi di resistenza al Hg in batteri



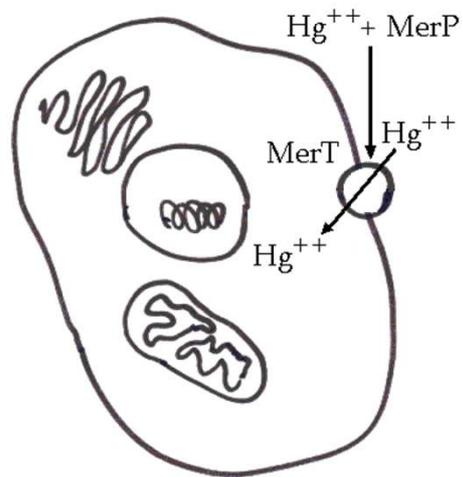
13

Assorbimento ed internalizzazione di Hg⁺⁺



14

Assorbimento ed internalizzazione di Hg^{++}



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

15

MerP

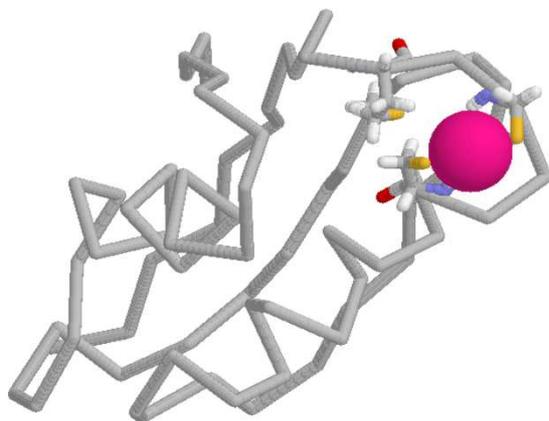


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

16

MerP

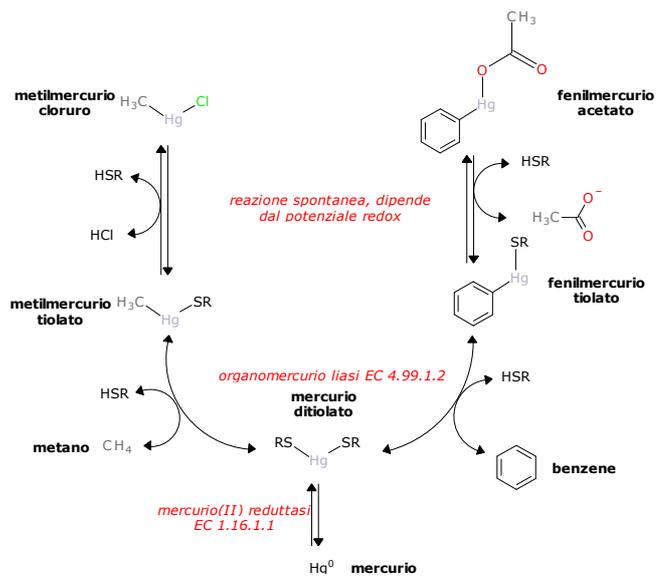


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

17

Biotrasformazione del mercurio

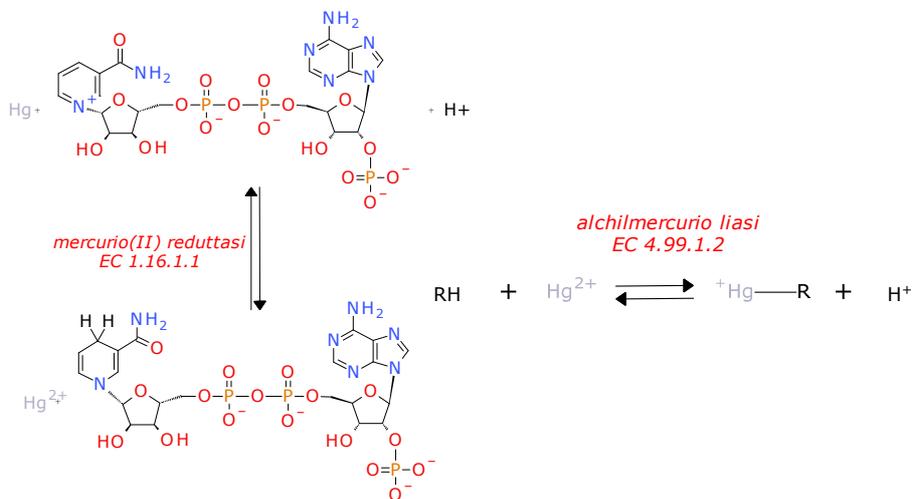


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

18

Mercurio

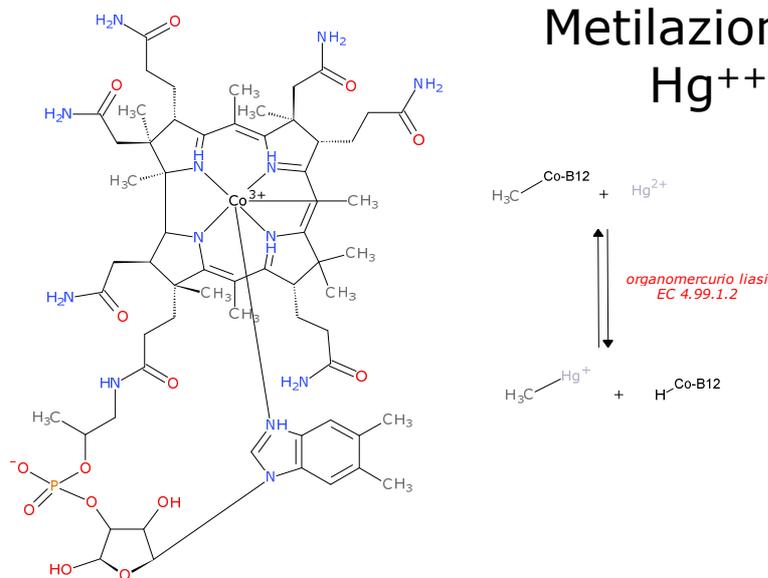


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

19

Metilazione di Hg^{++}



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

20

Resistenza batterica al Mercurio

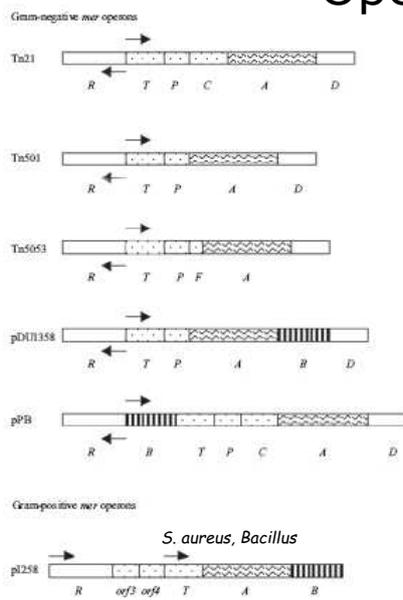
- È il meccanismo studiato per primo e meglio caratterizzato, è il meccanismo di resistenza a ioni tossici più diffuso.
- I geni coinvolti nella resistenza al Mercurio possono essere:
 - Plasmidici: presenti in plasmidi coniugativi o trasposoni, spesso associati a geni per la resistenza ad antibiotici [es: Un operone mer si trova nel trasposone Tn21 (8kb), all'interno del plasmide R100 (94 kb), il primo multidrug resistance plasmid isolato]
 - Cromosomici: geni per la resistenza a composti organici contenenti mercurio sono stati isolati in ceppi di *Bacillus*.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

21

Operoni Mer



- MerR
 - regolatore trascrizionale
- MerD
 - corepressore
- MerT, MerP
 - proteine strutturali coinvolte nel trasporto dello ione Hg^{2+}
- MerC, MerF
 - proteine strutturali alternative
- MerA
 - reductasi del mercurio
- MerB I
 - liasi organomercurica presente in alcuni operoni Mer
- MerG, MerE
 - trovati in operoni Mer ad ampio spettro

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

22

Trasporto di Hg all'interno della cellula batterica

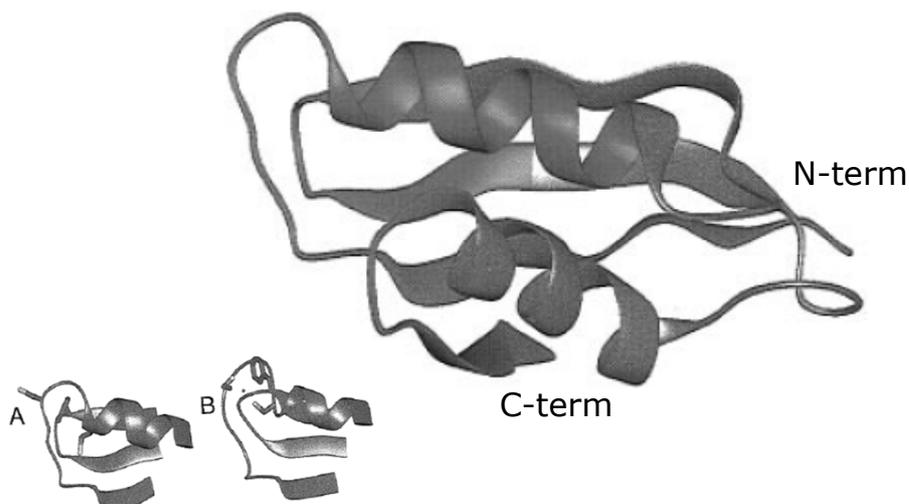
- Non sono state identificate proteine per il trasporto di Hg attraverso la membrana esterna.
- **merP** nel periplasma lega Hg col motivo Cys14-X-X-Cys17 presente in un loop all'interno della struttura $\beta\alpha\beta\alpha\beta$.
- **merP** trasferisce rapidamente Hg a 2 Cys di merT nella membrana interna
- **merT** è una proteina con 3 eliche transmembrana che trasporta Hg nel citoplasma senza consumo di energia, probabilmente attraverso una coppia di Cys sulla prima elica TM e una citoplasmatica.
- Hg viene trasferito alla coppia C14-C11 nel dominio di legame N-terminale di **merA**, poi alla coppia C557-C558 e poi alla coppia C135-C140 nel sito attivo
- **Il trasporto di Hg è mediato dal trasferimento di Hg tra coppie di Cys**

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

23

Sito di legame per Hg in MerP: Loop contenente il motivo Cys14-X-X-Cys17

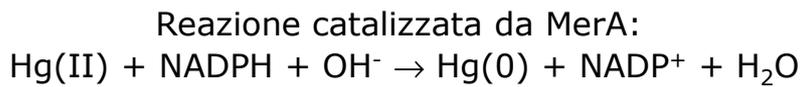


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

24

Meccanismo di reazione di MerA: (flavoproteina contenente FAD)

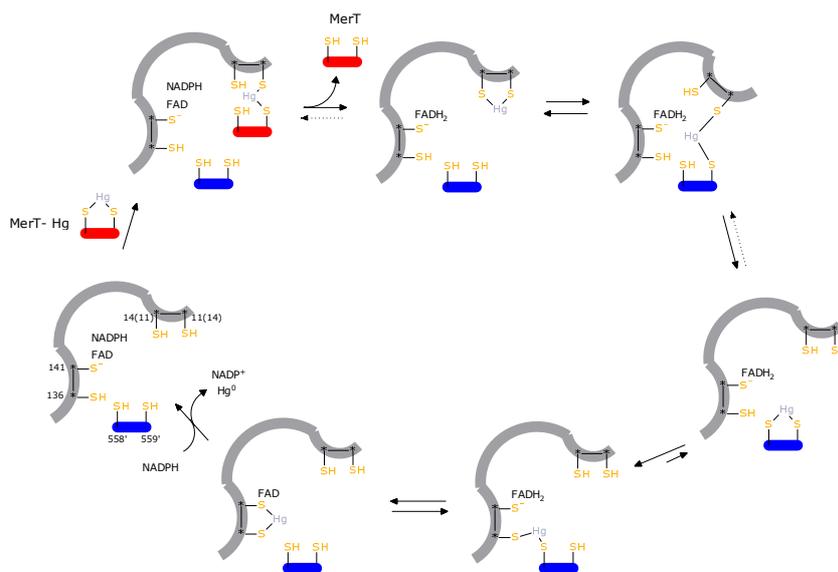


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

25

Trasporto del mercurio e riduzione in MerA

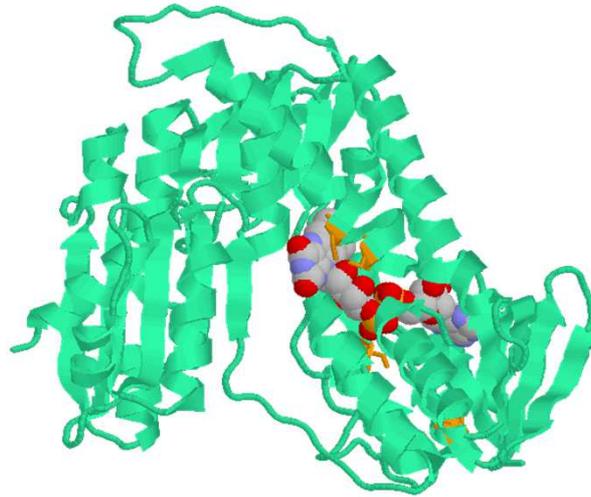


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

26

Struttura di MerA (EC 1.16.1.1)

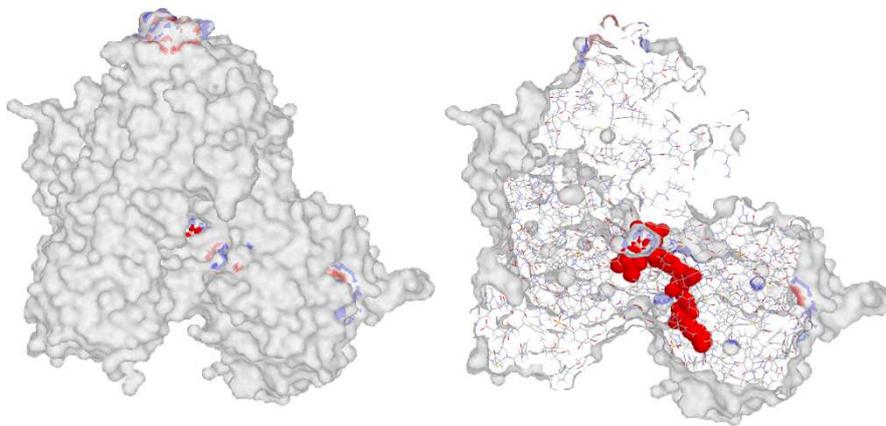


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

27

Struttura di MerA (EC 1.16.1.1)



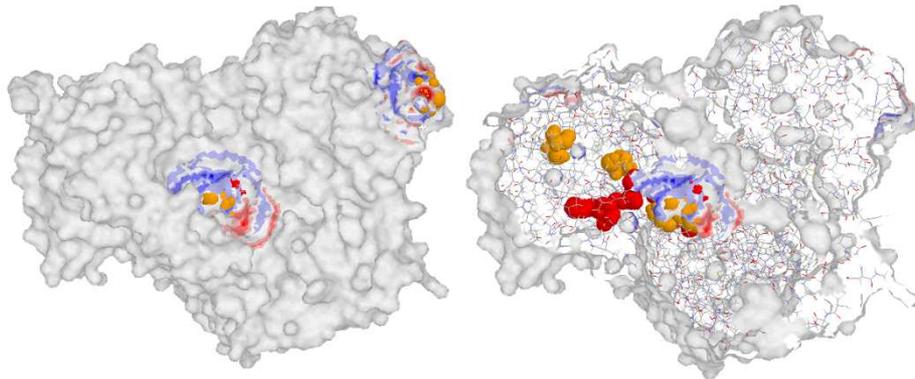
1ZX9 1ZK7

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

28

Struttura di MerA (EC 1.16.1.1)



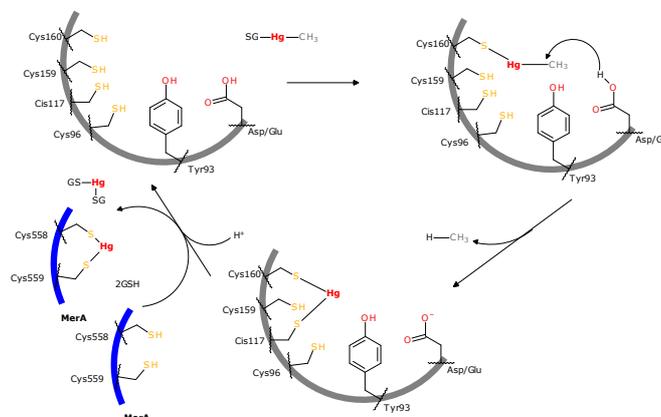
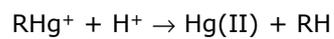
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

29

MerB: liasi organomercurica (EC 4.99.1.2)

- Presente in alcuni plasmidi contenenti l'operone Mer in *E. coli*, nel 50% di *Pseudomonas* e in tutti i plasmidi "penicillinasi" di *S. aureus*.

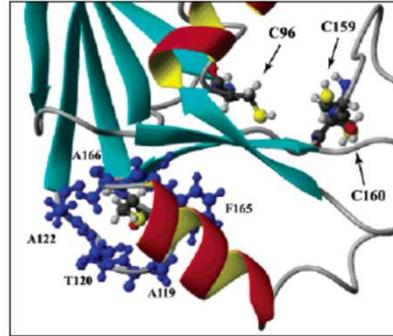
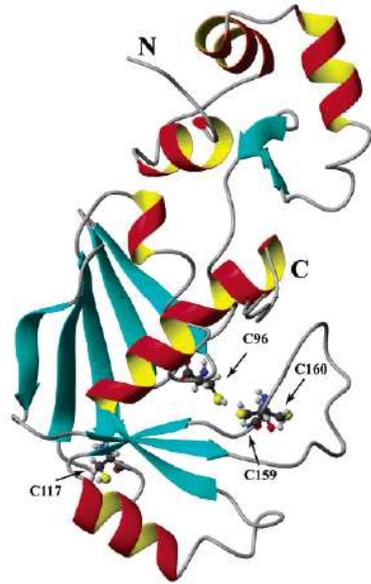


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

30

Struttura di MerB



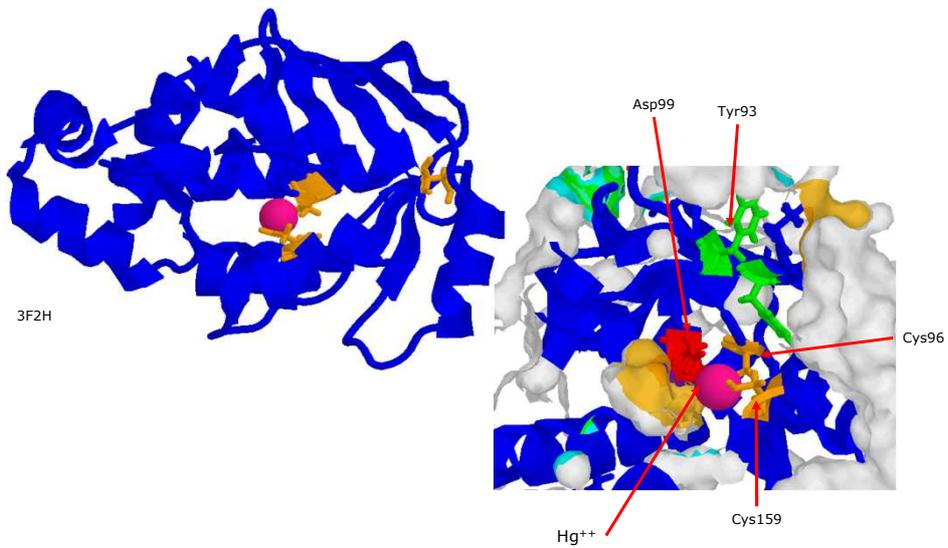
Particolare delle Cys coinvolte nel meccanismo

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

31

MerB (EC 4.99.1.2)

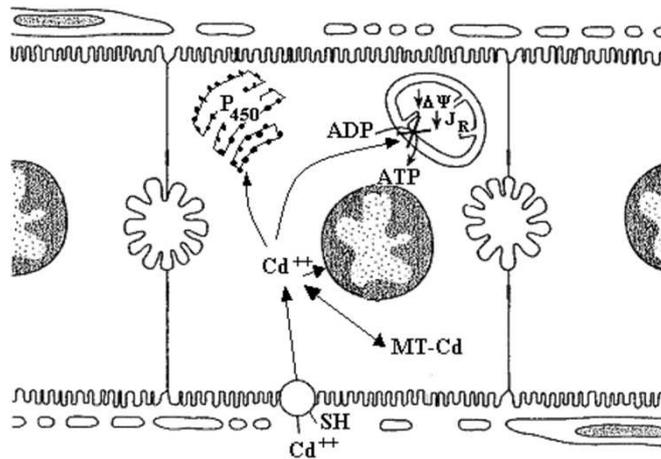


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

32

Assorbimento ed internalizzazione di Cd⁺⁺



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

33

ATPasi Trasportatrice di Cadmio (EC 3.6.3.46)

- ABC-type (ATP-binding cassette-type)
- Caratterizzata dalla presenza di due domini di legame dell'ATP.
- Non viene fosforilata durante il trasporto.
- È stata isolata in lievito, dove viene utilizzata per ESPORTARE metalli pesanti (specialmente Cd²⁺, legato al glutatione, dal citosol in vacuoli).

Li, Z.S., Szczycka, M., Lu, Y.P., Thiele, D.J. and Rea, P.A.
The yeast cadmium factor protein (YCF1) is a vacuolar glutathione S-conjugate pump.
J. Biol. Chem. 271 (1996) 6509-6517.
Saier, M.H., Jr.
Molecular phylogeny as a basis for the classification of transport proteins from bacteria, archaea and eukarya.
Adv. Microb. Physiol. 40 (1998) 81-136.

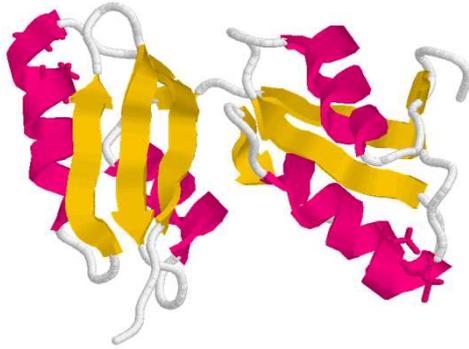
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

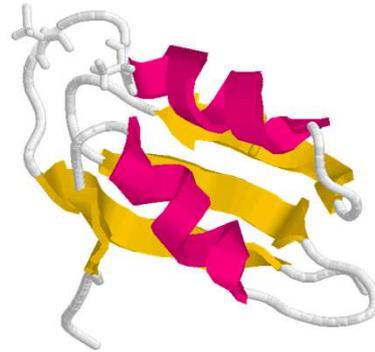
34

EC 3.6.3.-

- Enzima che agisce su anidridi, catalizza il trasporto transmembrana di sostanze.
- Dominio di legame del rame



2RML



2GCF

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

35

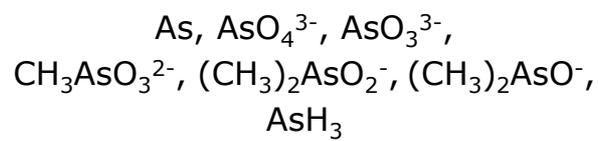


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

36

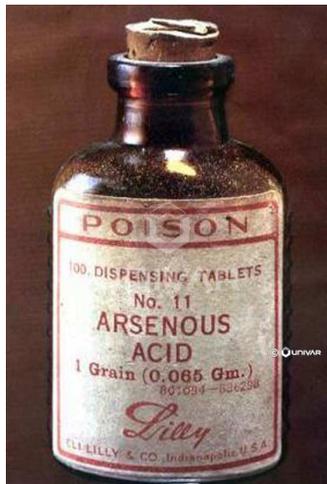
Arsenico



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

37



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

38

Effetti

- L'arsenico ed i suoi composti sono potenti veleni
 - Distrugge la sintesi di ATP attraverso vari meccanismi:
 - Nella glicolisi agisce come inibitore delle chinasi
 - A livello del Ciclo di Krebs inibisce la piruvato deidrogenasi
 - Agisce come disaccoppiante nella fosforilazione ossidativa a causa della sua similitudine col fosfato quindi inibendo la respirazione cellulare
 - Favorisce la formazione di specie reattive dell'ossigeno e stress ossidativo.
 - Ha effetti carcinogenici.

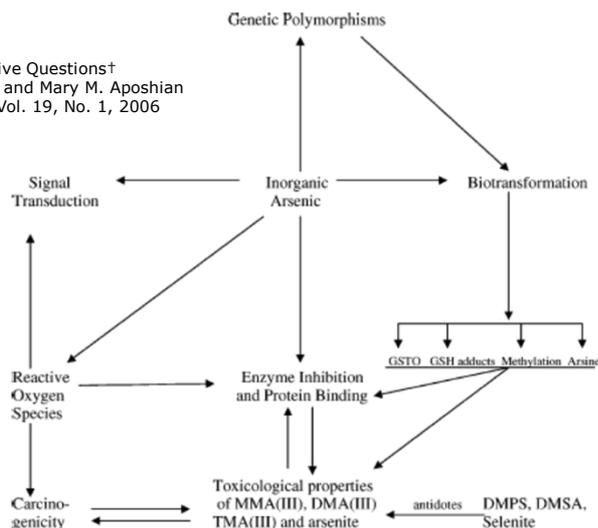
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

39

Effetti

Arsenic Toxicology: Five Questions†
H. Vasken Aposhian* and Mary M. Aposhian
Chem. Res. Toxicol., Vol. 19, No. 1, 2006

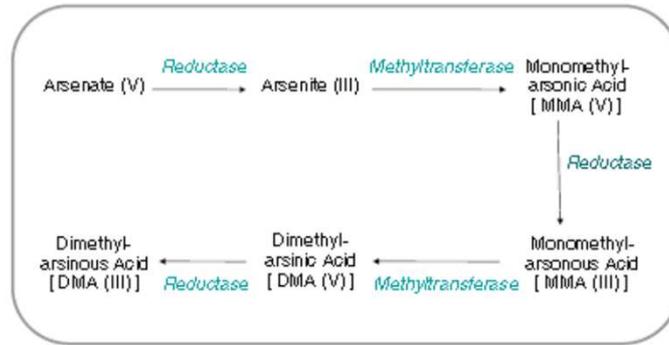


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

40

Biotrasformazione



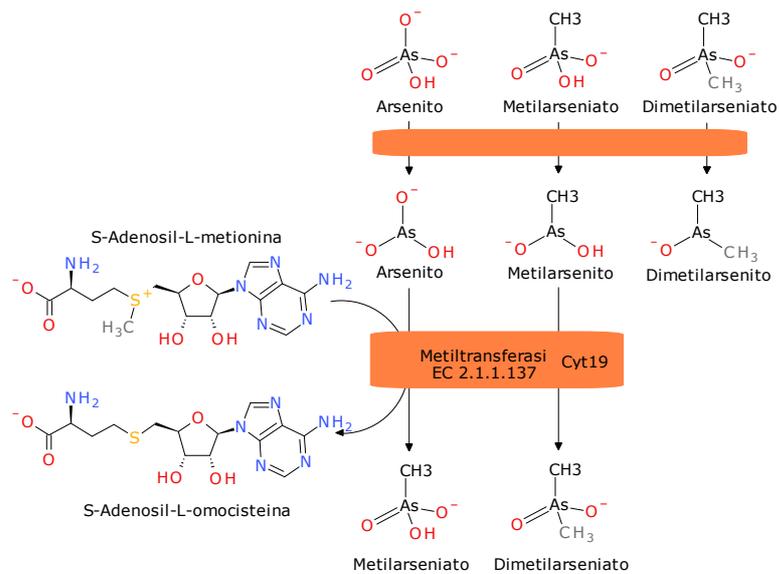
Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms
 Detmar Beyersmann · Andrea Hartwig
 Arch Toxicol (2008) 82:493–512

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

41

Biotrasformazione

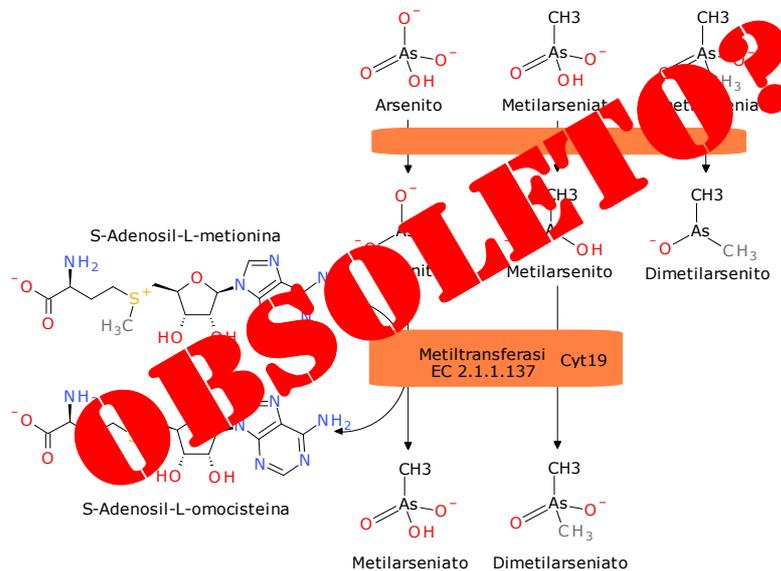


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

42

Biotrasformazione

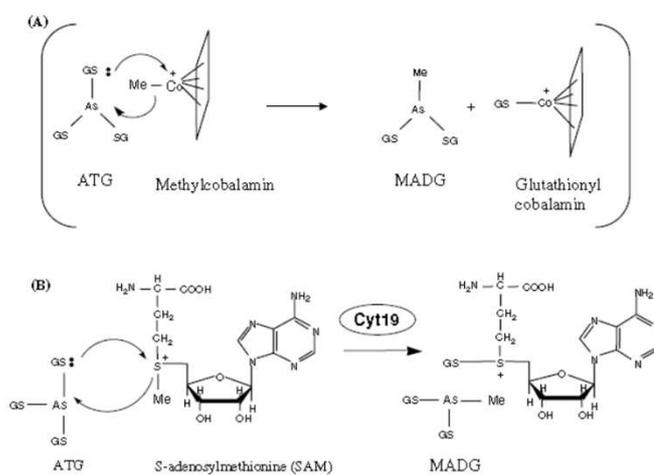


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

43

Fig. 8 A Non-enzymatic mechanism of As methylation by methylcobalamin as proposed by Zakharyan and Aposhian (1999) (ATG arsenic triglutathione, MADG monomethylarsenic diglutathione). B A putative enzymatic mechanism of As methylation by arsenic methyltransferase (Cyt19) and S-adenosyl-L-methionine (SAM) in the present study



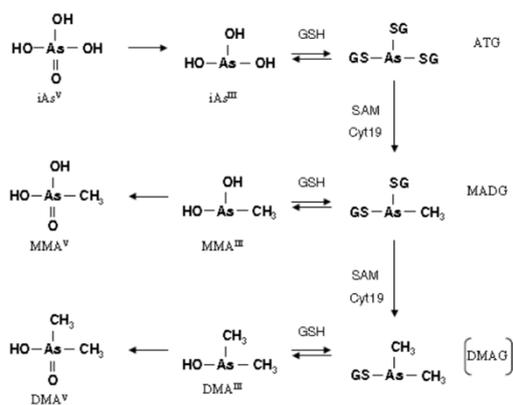
Toru Hayakawa, Yayoi Kobayashi, Xing Cui, Seishiro Hirano
A new metabolic pathway of arsenite: arsenic-glutathione complexes are substrates for human arsenic methyltransferase Cyt19
Arch Toxicol (2005) 79: 183-191

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

44

Fig. 9 A new metabolic pathway of inorganic arsenic via arsenic-GSH complexes. (*iAs^{III}* arsenite, *iAs^V* arsenate, *GSH* reduced glutathione, *AGT* arsenic triglutathione, *SAM* S-adenosyl-L-methionine, *Cyt19* arsenic methyltransferase, *MADG* monomethylarsenic diglutathione, *MMA^{III}* monomethylarsonous acid, *MMA^V* monomethylarsonic acid, *DMAG* dimethylarsinic glutathione, *DMA^{III}* dimethylarsonous acid, *DMA^V* dimethylarsonic acid)



Toru Hayakawa, Yayoi Kobayashi, Xing Cui, Seishiro Hirano
 A new metabolic pathway of arsenite: arsenic-glutathione complexes are substrates for human arsenic methyltransferase Cyt19
 Arch Toxicol (2005) 79: 183-191

Citato da:
 Arsenic Toxicology: Five Questions
 H. Vasken Aposhian and Mary M. Aposhian
 Chem. Res. Toxicol., Vol. 19, No. 1, 2006

gs © 2001-2020 ver 3.7 F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

45

Trasporto

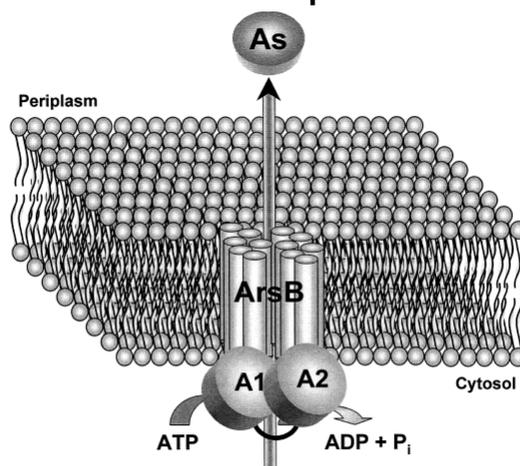


Fig. 1. The ArsAB pump. The complex of ArsA and ArsB forms an anion-translocating ATPase that catalyzes extrusion of arsenite or antimonicite. ArsA has two homologous halves, A1 (N-terminal) and A2 (C-terminal). ArsA is the catalytic subunit, exhibiting As(III)/Sb(III)-stimulated ATPase activity. ArsB is an inner membrane protein in *E. coli* and serves both as the membrane anchor for ArsA and as the anion conducting subunit of this ATP-coupled pump.

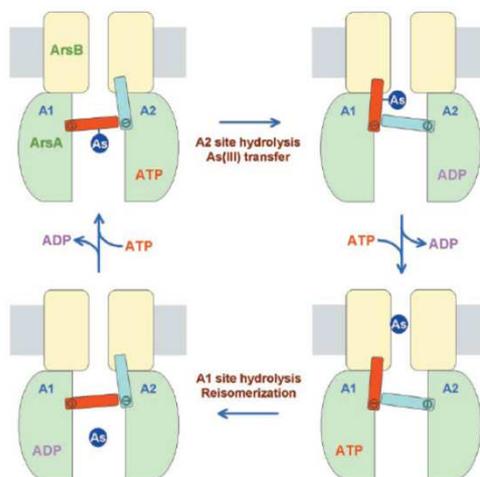
Mechanism of the ArsA ATPase
 Barry P. Rosen, Hiranmoy Bhattacharjee, Tongqing Zhou, Adrian R. Walmsley
 Biochimica et Biophysica Acta 1461 (1999) 207-215

gs © 2001-2020 ver 3.7 F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

46

Trasporto

Fig. 8. **ArsA catalytic cycle.** Helices H9–H10 of A1 (red) and A2 (cyan) are the arms of a gate alternating in the “open” and “closed” positions. An As(III) ion is shown as a blue sphere. For each cycle of ion translocation, one ATP is used at the A2 NBS in the transfer step, and one at the A1 NBS in the re-isomerization step. Although the scheme depicts a hypothetical situation in which only one As(III) ion is translocated per catalytic cycle, the actual stoichiometry of ions translocated per ATP hydrolyzed is not known.



Conformational Changes in Four Regions of the *Escherichia coli* ArsA ATPase Link ATP Hydrolysis to Ion Translocation
Tongqing Zhou, Sergei Radaev, Barry P. Rosen, and Domenico L. Gatti
THE JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY Vol. 276, No. 32, pp. 30414–30422, 2001

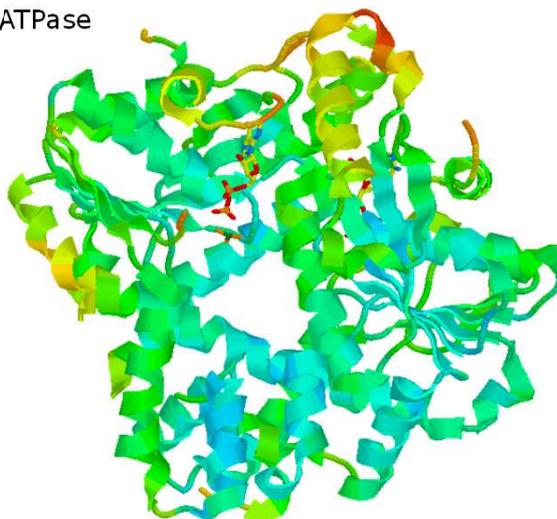
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

47

Trasporto

- Arsenite-transporting ATPase
- EC 3.6.3.16



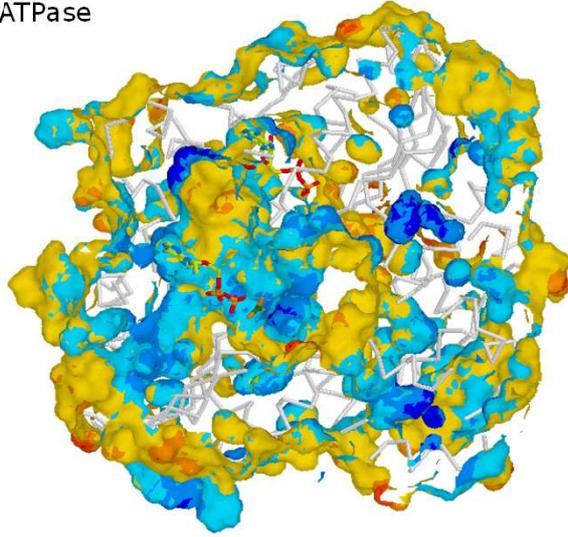
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

48

Trasporto

- Arsenite-transporting ATPase
- EC 3.6.3.16



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

49

Metallotioneine

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

50

Metallotioneine

- Le metallotioneine (MT) sono peptidi e proteine ubiquitarie a basso peso molecolare ad alto contenuto in aminoacidi solforati e metalli.
- Si ipotizza che giochino un ruolo:
 - nella fissazione dei metalli in tracce (Zn^{++} , Cu^{++}),
 - nel controllare la concentrazione di questi ioni,
 - nella regolazione dei flussi degli ioni ai distretti cellulari,
 - nella neutralizzazione dei metalli tossici (Cd^{++} , Hg^{++}) e nella protezione dallo stress indotto dai metalli.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

51

Distribuzione

- Le metallotioneine sono presenti in tutti gli organismi: animali, vegetali e microrganismi.
- Negli animali queste proteine posseggono polimorfismo genetico e sono abbondanti nei tessuti parenchimali (fegato, rene, pancreas e intestino).
- La loro concentrazione dipende da specie, tessuto, età, sesso ed altri fattori non ancora completamente identificati
- Nonostante che le metallotioneine siano proteine citoplasmatiche si sono trovate accumulate nei lisosomi e nel nucleo.

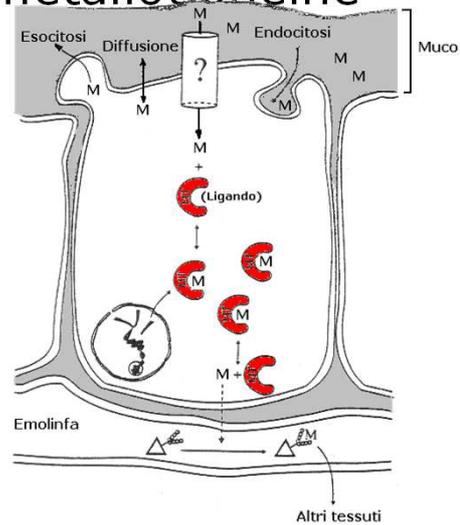
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

52

Trasporto di metallotioneine

- Schema ipotetico del trasporto di metalli pesanti attraverso l'epitelio branchiale di molluschi bivalvi.
 - M: metalli in traccia;
 - MT: metallotioneine.



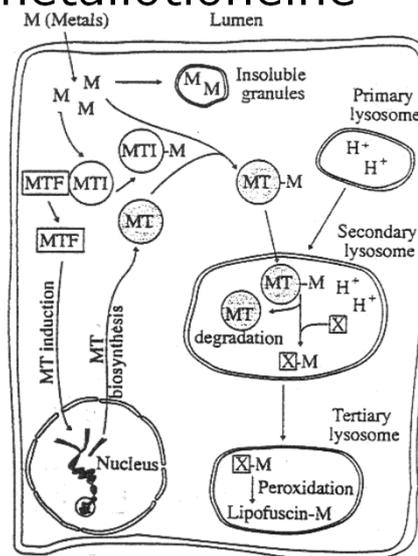
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

53

Turnover delle metallotioneine

- Schema del turnover di MT in cellule di molluschi bivalvi (Isani et al., 2000).
 - M: Metalli;
 - MTF: Fattori di Trascrizione;
 - MTI: Inibitori di Trascrizione.



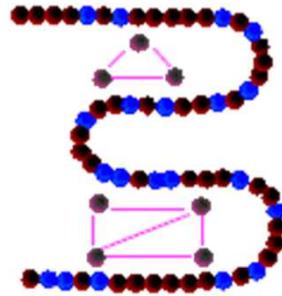
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

54

Classificazione

- Il nome deriva dal fatto che hanno un alto contenuto di zolfo e metalli. Tale contenuto varia a secondo del metallo (fino ad oltre il 20% in peso)
- Nei mammiferi sono caratterizzate da un peso molecolare di 6000-7000 Da, contengono da 60 ad 68 aminoacidi di cui 20 Cys che legano 7 equivalenti di ione metallico bivalente. Mancano di aminoacidi aromatici. Tutte le Cys sono in forma ridotta e sono coordinate con ioni metallici.



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

55

Classificazione – Le metalloioneine

- La superfamiglia delle metalloioneine è definita come quella che comprende i peptidi che assomigliano alla metalloioneina renale equina che ha le seguenti caratteristiche:
 - Basso peso molecolare
 - Composizione:
 - Alto contenuto in Cys, basso contenuto in aromatici.
 - Sequenza caratteristica.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

56

Classificazione – Le famiglie

- Una famiglia di metallotioneine è caratterizzata da una particolare sequenza ed è legata ad una o più specie.
 - I membri di una determinata famiglia appartengono solo a quella e si pensa siano correlati da un punto di vista evoluzionistico
 - Ogni famiglia è identificata da un numero e dalla specie.
 - *Per esempio:* Famiglia 1: vertebrati.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

57

Classificazione

- Le sottofamiglie
 - Si definiscono sottofamiglie di metallotioneine quegli insiemi di proteine che oltre i caratteri propri delle famiglie condividono un insieme di caratteri più stringenti.
 - *Per esempio:* m1, m2...
- I sottogruppi
 - Un sottogruppo rappresenta un insieme di sequenza correlate filogeneticamente. In un albero filogenetico rappresentano un ramo.
 - *Per esempio:* m2U2 = MT-2 di ungulati, sottogruppo della sottofamiglia m2.
- Le isoforme
 - Sono i membri di sottogruppi, sottofamiglie e famiglie.
 - *Per esempio* MT-1E umana.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

58

Classificazione – I clan

- Un clan è un insieme di proteine che dividono delle caratteristiche non già definite:
 - Struttura,
 - Proprietà termodinamiche,
 - Affinità per i metalli
 - Proprietà funzionali
 - ...

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

59

Sequenza	Famiglia	Caratteristiche	Sottofamiglie
K-x(1,2)-C-C-x-C-C-P-x(2)-C	1 vertebrati	Da 60 a 68 AA; 20 Cys (21 in un caso), 19 totalmente conservate; due domini strutturali, contenenti 9 e 11 Cys che legano 3 e 4 ioni bivalenti rispettivamente. Il gene è composto di 3 esoni, 2 introni	m1, m2, m3, m4, m, a, a1, a2, b, ba, t
C-x-C-x(3)-C-T-G-x(3)-C-x-C-x(3)-C-x-C-K	2 molluschi	Da 64 a 75 AA; da 18 a 23 Cys, minimo 13 totalmente conservate; due domini	mo1, mo2, mog, mo
P-[GD]-P-C-C-x(3,4)-C-x-C	3 crostacei	da 58 a 60 AA; esistono varianti con e senza Met N-terminale; 18 Cys totalmente conservate; due domini, ognuno con 9 Cys che legano 3 ioni bivalenti	c1, c2, c
P-D-x-K-C-[V,F]-C-C-x(5)-C-x-C-x(4)-C-C-x(4)-C-C-x(4,6)-C-C	4 echinodermi	Da 64 a 67 AA; 20 Cys ; due domini strutturali, contenenti 9 e 11 Cys che legano 3 e 4 ioni bivalenti rispettivamente	e1, e2
C-G-x(2)-C-x-C-x(2)-Q-x(5)-C-x-C-x(2)D-C-x-C	5 ditteri	Da 40 a 43 AA; 10 Cys conservate	d1, d2
K-C-C-x(3)-C-C	6 nematodi	62 e 74 AAs; 18 Cys, contiene una Tyr	n1, n2
una sequenza	7 ciliati	105 AA, 31 Cys, multiplo pattern CCC, una Tyr	ci
C-G-C-S-x(4)-C-x-C-x(3,4)-C-x-C-S-x-C	8 funghi I	Da 25 a 33 AA; 7 Cys	f1
C-X-K-C-x-C-x(2)-C-K-C	11 funghi IV	Da 55 a 56 AA; 9 Cys; un pattern CCC; contiene His e Phe	f4
K-C-A-C-x(2)-C-L-C	14 procarioti	Da 53 a 56 AAs; 9 Cys; una Tyr, una His; contiene residui non comuni	p
[YFH]-x(5,25)-C-[SKD]-C-[GA]-[SDPAT]-x(0,1)-C-x-[CVF]	15 piante	Da 45 a 84 AAs; due regioni ricche di Cys (dominio 1 e dominio 3) separate da una regione con poche Cys (dominio 2)	p1, p2, p2v, p3, pec, p21

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

60

Struttura

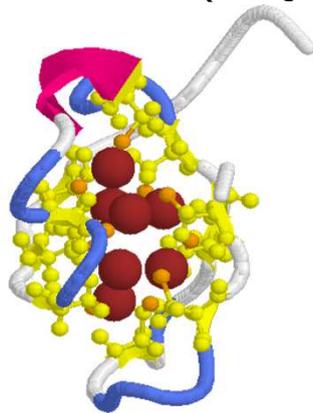
- Nonostante che le sequenze aminoacidiche siano diverse hanno caratteristiche strutturali simili:
 - Forma a manubrio,
 - Due domini,
 - Diverse unità tetraedriche Me(II)-Cys,
 - Tutte le Cys coinvolte nel legame con lo ione metallico
 - Pressoché assente la struttura secondaria.

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

61

Cu-Metallotioneina da *Saccharomyces Cerevisiae* (1AQR)

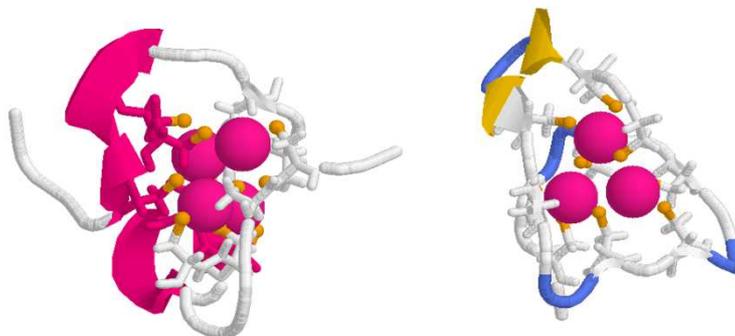


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

62

Cd-Metallotioneina da Riccio di mare



Subunità α
1QJH

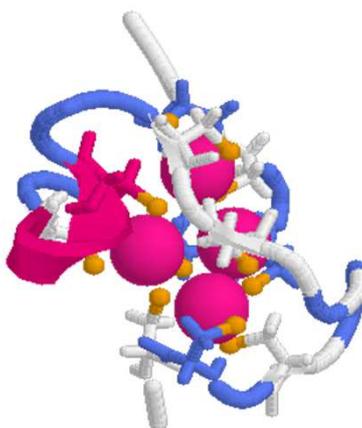
Subunità β
1QJL

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

63

Cd-Metallotioneina umana (1MHU)

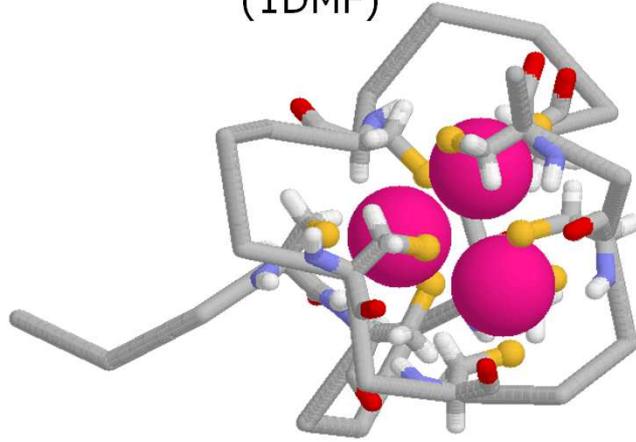


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

64

Cd-Metallotioneina di *Callinectes sapidus* (1DMF)

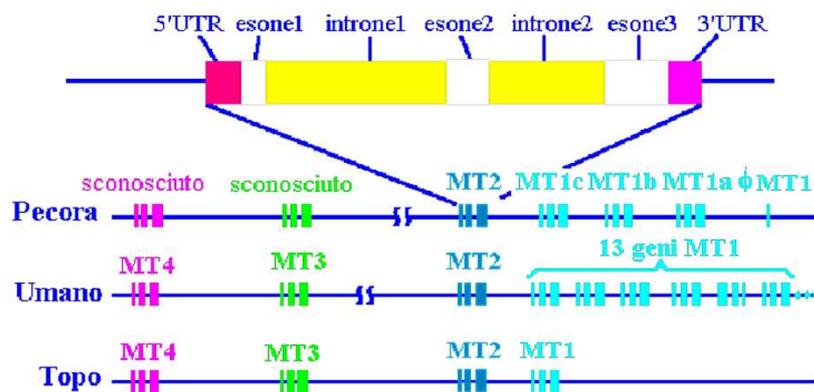


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

65

Struttura genica



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

66

Aspetti funzionali

- La più importante delle funzionalità delle metallotioneine è la loro inducibilità da una serie di agenti e condizioni:
 - Ioni metallici d^{10} (Cu^{++} , Zn^{++} , Cd^{++} , Tl^+ , Pb^{++} ...)
 - Ormoni
 - Citochine
 - Fattori di crescita
 - Promotori tumorali
 - Stress
- È dimostrato il loro aumento fisiologico durante la proliferazione cellulare:
 $MT-Zn^{++} + Apo-Zinc-fingers \rightarrow MT + Zn^{++} - Zinc-fingers$

gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

67

Determinazione

- Le MT sono proteine ricche in cisteina con affinità elevata per i metalli pesanti
- La concentrazione di MT è quantificata valutando il contenuto in Cys
- Reazione di ELLMAN (standard GSH)

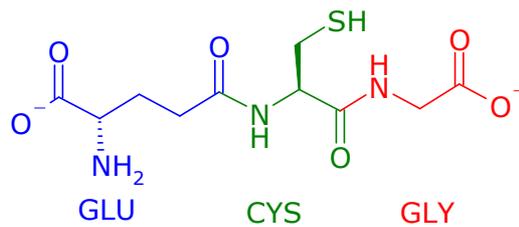
gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

68

GSH

- Il glutatione è un tripeptide formato da glicina, cisteina, acido glutamico.

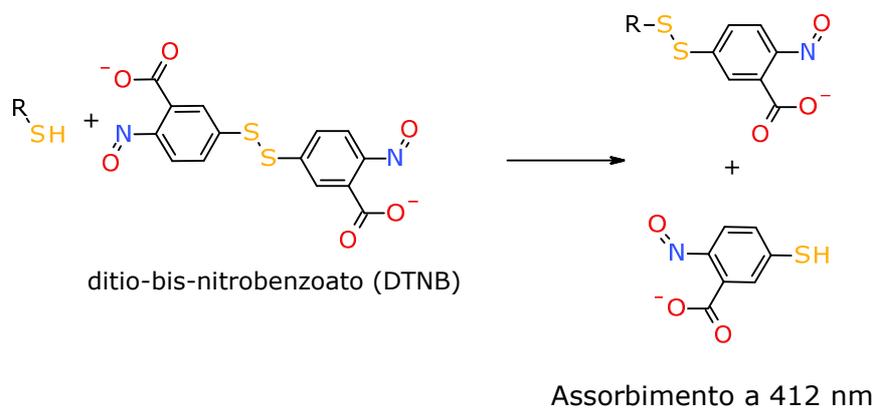


gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

69

Reazione di ELLMAN



gs © 2001-2020 ver 3.7

F08 - Biotrasformazione dei composti inorganici

70

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

Vie metaboliche

KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>

Degradazione degli xenobiotici: <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>

Struttura delle proteine:

Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>

Hexpasy

Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>

Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>

Enzyme (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>

Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>

Enzimi:

Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>

Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>

Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>

Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>

Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>

Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>

Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry <http://www.atsdr.cdc.gov>

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da: <http://www.qsartor.org/pro>

- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor

Università di Bologna

Giorgio Sartor

Ufficiale: giorgio.sartor@unibo.it

Personale: giorgio.sartor@gmail.com

Aggiornato il 21/01/2020 09:21:48