

Prof. Giorgio Sartor

Enzimi di fase I: Citocromo P450

Copyright © 2001-2018 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

F05 - Versione 4.0.5 - May-18

Citocromo P450 (CYP)

- Enzima microsomiale, il più versatile tra gli enzimi di fase I.
- Inducibile.
- Anche conosciuto come ossidasi a funzioni miste (MFO).
- Proteina che contiene un gruppo eme
 - Il complesso formato dal Fe^{2+} e CO ha uno spettro di assorbimento con massimo centrato a 450 nm (447-452) nm.

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 2 -

CYP

- Ossida gli xenobiotici usando il NADPH come cofattore e O₂
- La reazione procede come ciclo catalitico:
RH+O₂+H⁺+NADPH → ROH+H₂O+NADP⁺
- Non è attivo contro tutti i contaminanti (specialmente gli alogeni)
- In alcuni casi genera prodotti tossici (epossidi)
- L'induzione delle MFO è un sistema di biomarker

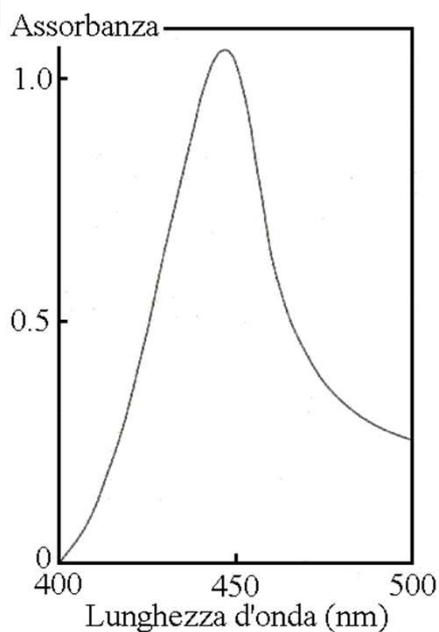
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 3 -

Assorbimento del gruppo eme

- Tipo I: ferro ad alto spin (385-394 nm)
- Tipo II: ferro a basso spin, legame diretto al ferro (416-420 nm), shiftato spesso a lunghezze d'onda maggiori (CO: 450 nm)

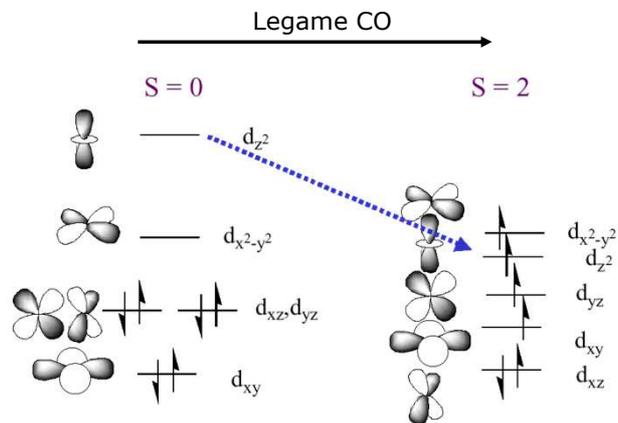


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 4 -

Configurazione elettronica del Fe(II)

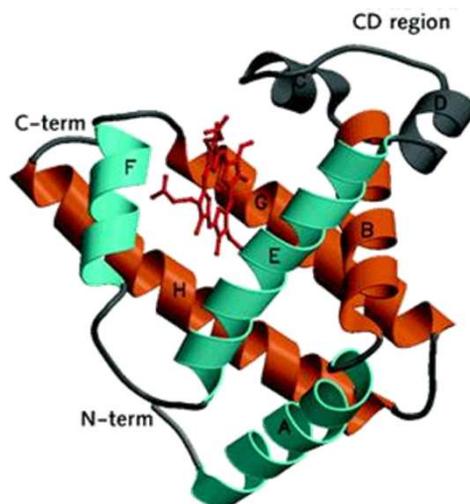


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 5 -

Struttura

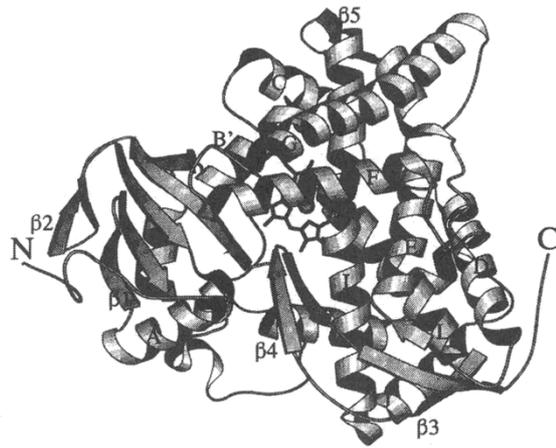


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 6 -

Struttura

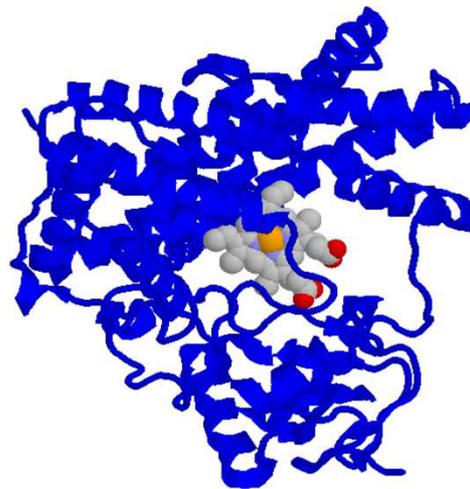


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 7 -

Struttura



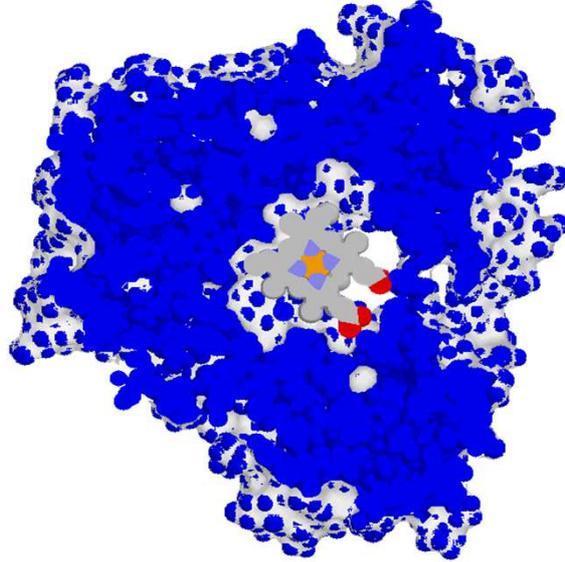
1PO5

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 8 -

Struttura



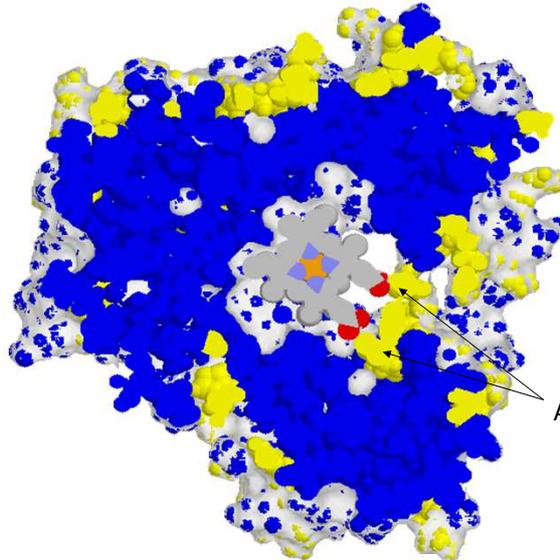
1PO5

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 9 -

Struttura



AA basici

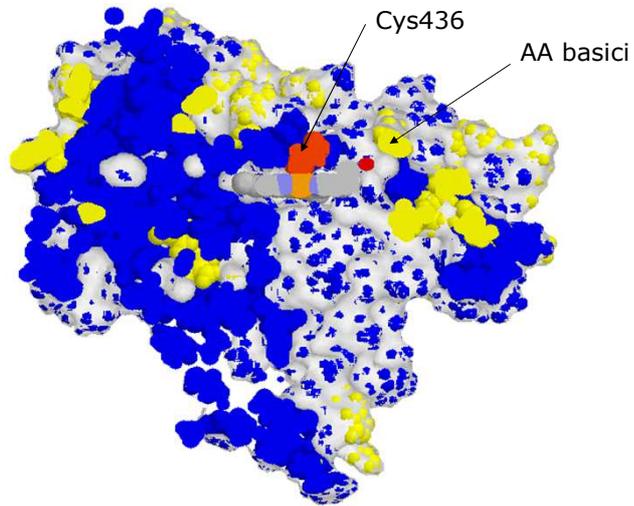
1PO5

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 10 -

Struttura

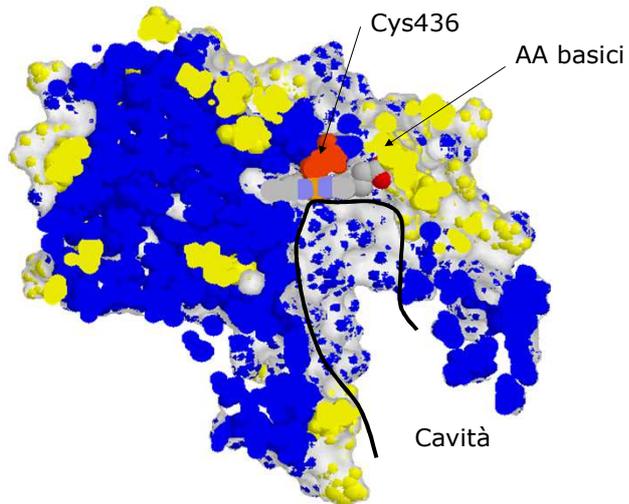


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 11 -

Struttura

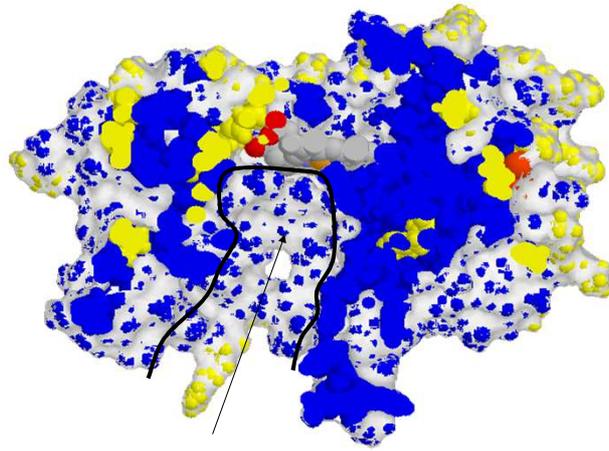


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 12 -

Struttura



1PO5

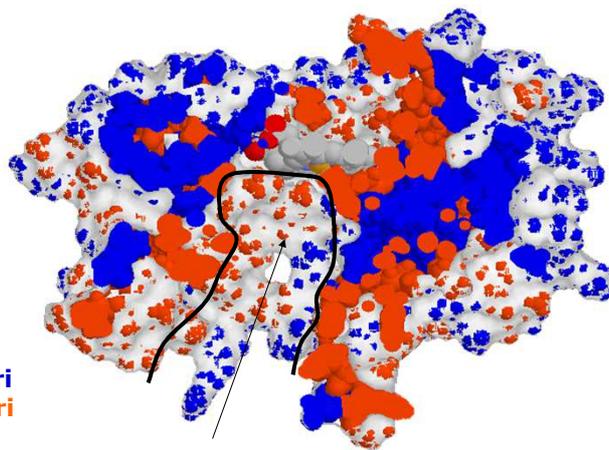
Cavità

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 13 -

Struttura



AA polari
AA neutri

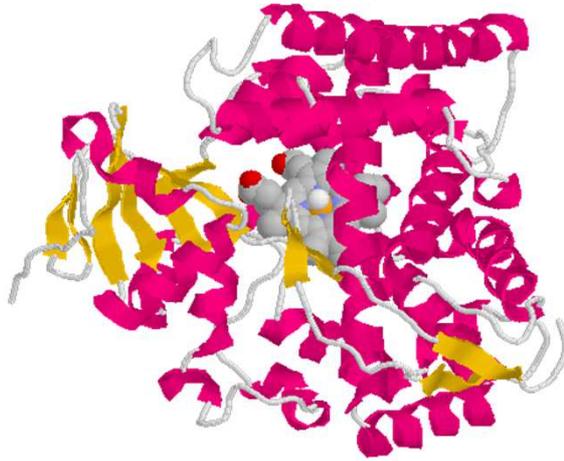
Cavità

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 14 -

Struttura

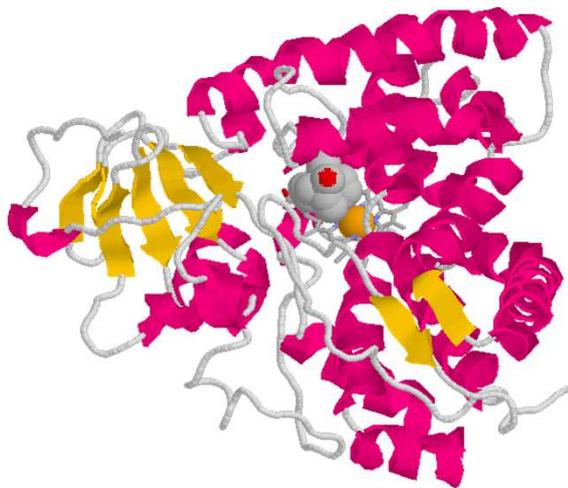


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 15 -

Struttura

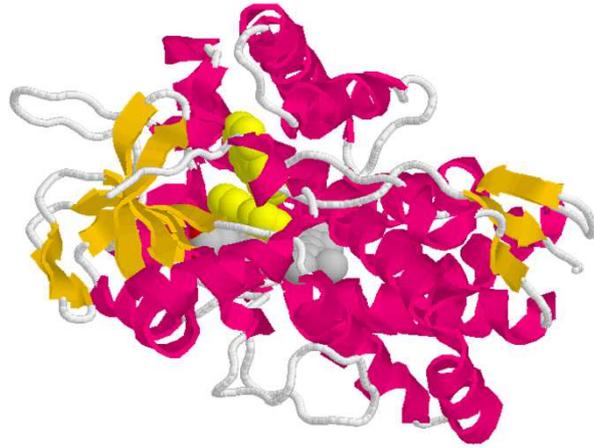


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 16 -

Struttura del CYP

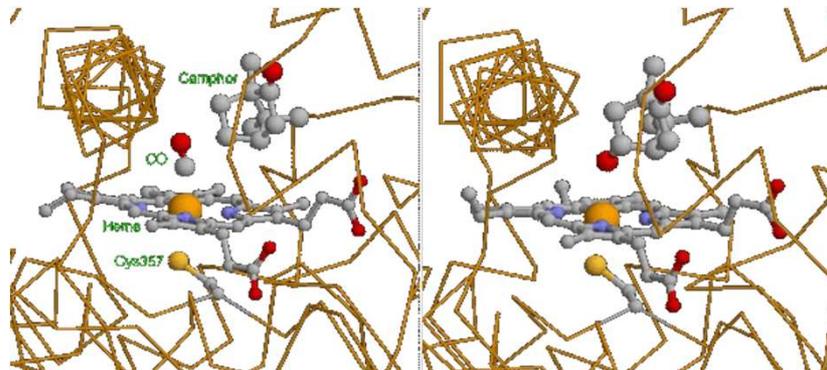


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 17 -

Sito di legame



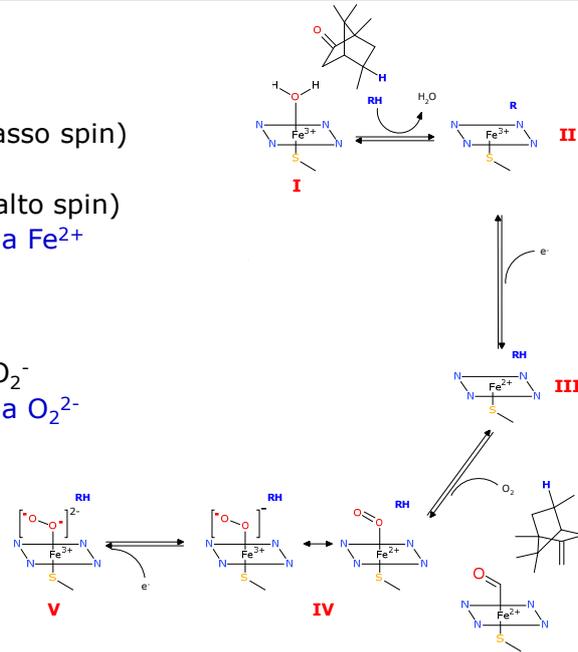
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 18 -

Meccanismo ciclico del CYP

- I. P450 acquo Fe^{3+} (basso spin)
Lega RH
- II. P450 canfora Fe^{3+} (alto spin)
entra $1e^-$, riduzione a Fe^{2+}
- III. P450 canfora Fe^{2+}
Lega O_2
- IV. P450 con O_2 legato,
equivalente a $\text{Fe}^{3+}-\text{O}_2^-$
entra $1e^-$, riduzione a O_2^{2-}
- V. P450 perossido



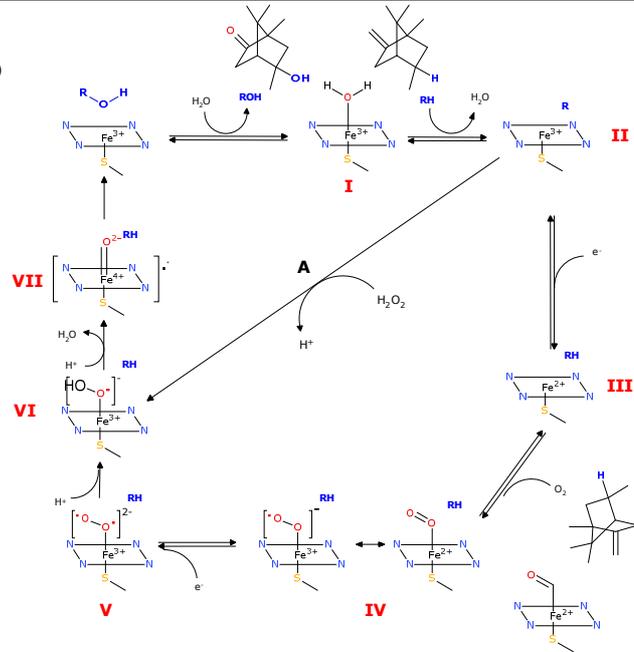
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 21 -

Meccanismo ciclico del CYP

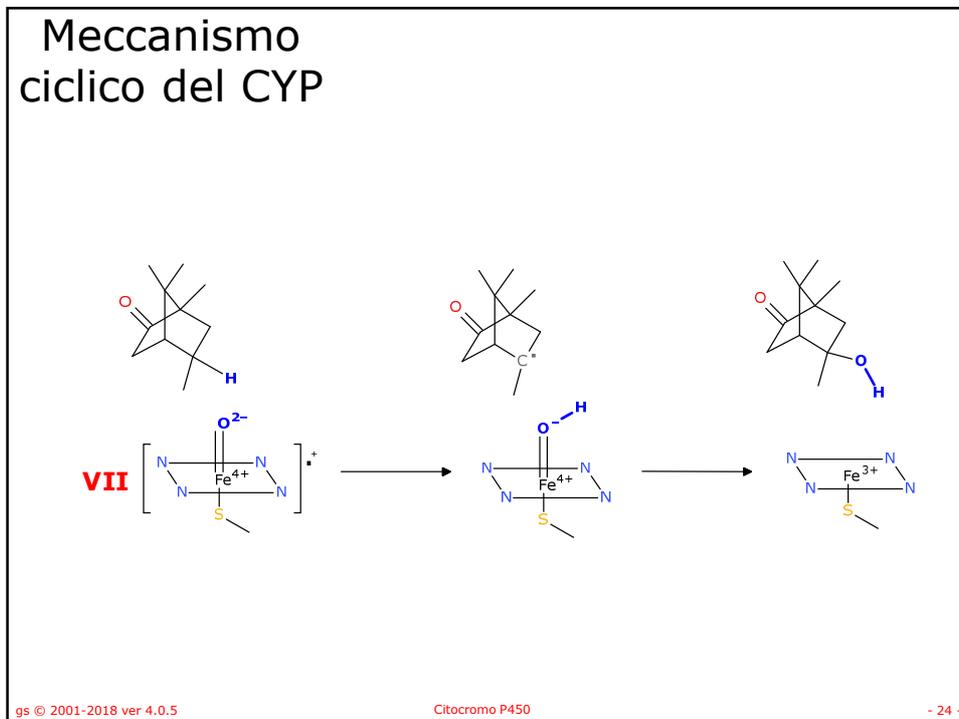
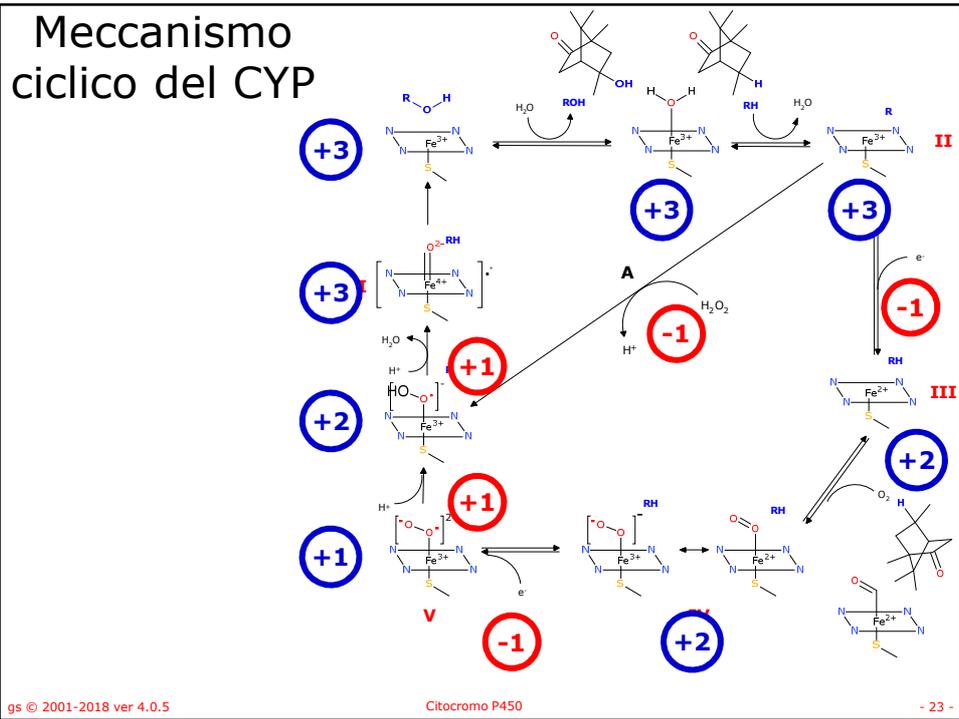
- VI. P450 idroperossido
Entra 1H^+ esce H_2O
- VII. P450 $\text{Fe}^{4+} \text{O}_2^-$
catione radicale sulla proteina
si forma ROH
- A. L'idroperossido VI
si può formare per reazione di II
con H_2O_2



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 22 -



Meccanismo

- L'ossigeno è legato non ad angolo 180° .
- Il legame dell'ossigeno allontana il ligando (RH) solo dopo che i due atomi di ossigeno si sono ridotti il ligando si riavvicina. Ciò previene la formazione di ROS.
- Gli elettroni per la riduzione dell'ossigeno sono forniti da una proteina Fe-S (P450 batterica o mitocondriale) o da una NADPH-citocromo P450 ossidoreduttasi FAD/FMN dipendente (microsomi).

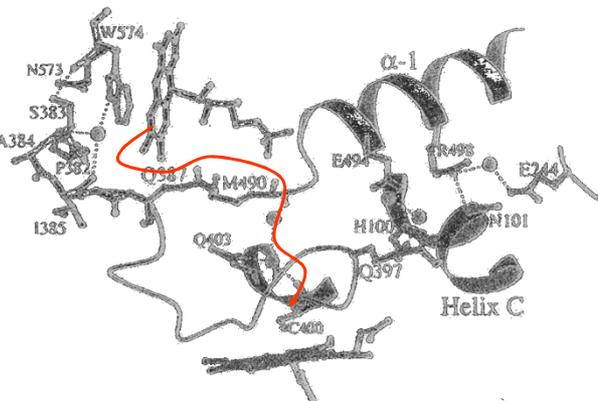
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 25 -

Meccanismo

- Nel complesso con la NADPH-citocromo P450 ossidoreduttasi l'elettrone si muove attraverso lo scheletro della proteina

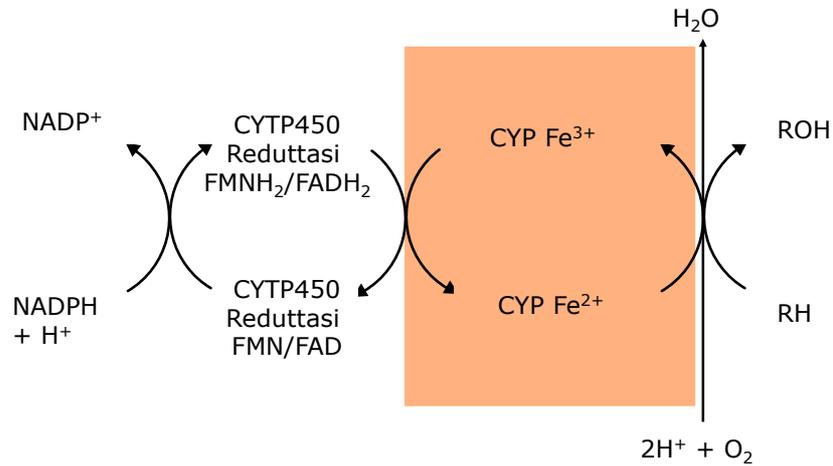


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 26 -

Meccanismo generale del CYP

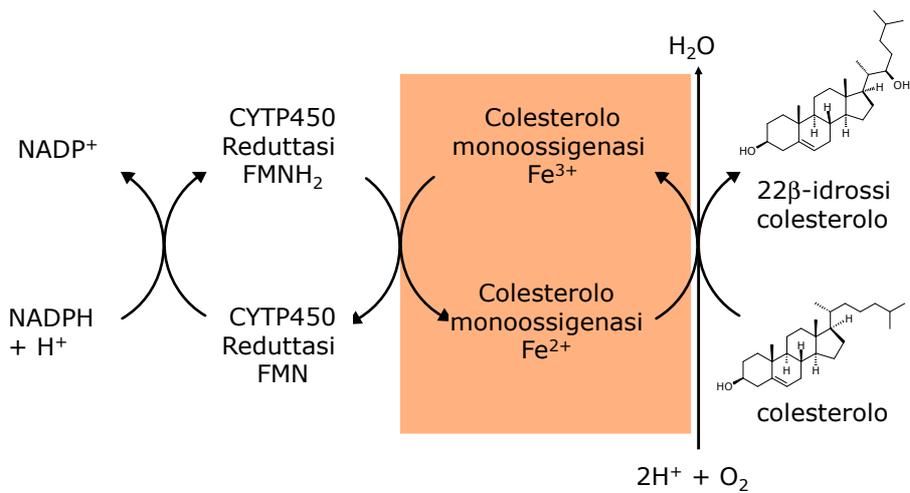


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 27 -

Colesterolo monoossigenasi (CYTP450scc - EC 1.14.15.6 - CYP11A)



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 28 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Idrossilazione di aromatici
- Epossidazione di aromatici
- Idrossilazione di alifatici
- Epossidazione di alcheni
- N-dealchilazione
- O-dealchilazione
- S-dealchilazione
- N-ossidazione
- N-idrossilazione
- S-ossidazione
- Ossidazione di aldeidi
- Aromatizzazione di androgeni
- Ossidazione dell'alotano
- Riduzione dell'alotano
- Ossidazione dell'arginina
- Taglio della catena laterale del colesterolo
- Deidrogenazione
- Dealogenazione
- Azoriduzione
- Deaminazione
- Desolforazione
- Idrolisi di ammidi
- Idrolisi di esteri
- Perossidazione
- Denitrazione

Più almeno altre 20

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

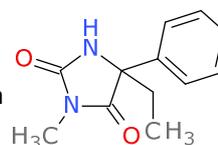
Citocromo P450

- 29 -

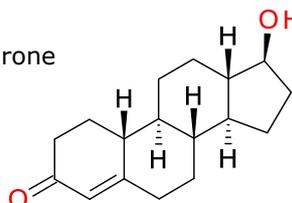
Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Idrossilazione di atomi di carbonio alifatici o aromatici

- Da (S)-mefentoina a 4'-idrossi-(S)-mefentoina (CYP2C19)



- Da testosterone a 6 α -idrossitestosterone (CYP3A4)



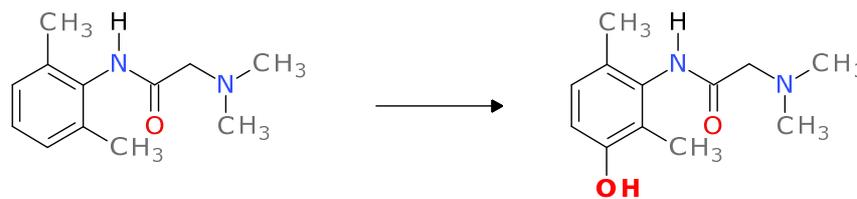
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 30 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Idrossilazione di atomi di carbonio aromatici
 - Idrossilazione della linocaina



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 31 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Idrossilazione di atomi di carbonio alifatici
 - Idrossilazione del pentobarbitone



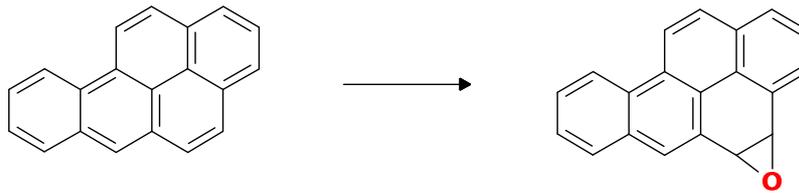
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 32 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Epossidazione
 - Formazione di benzo[α]pirene-4,5,epossido



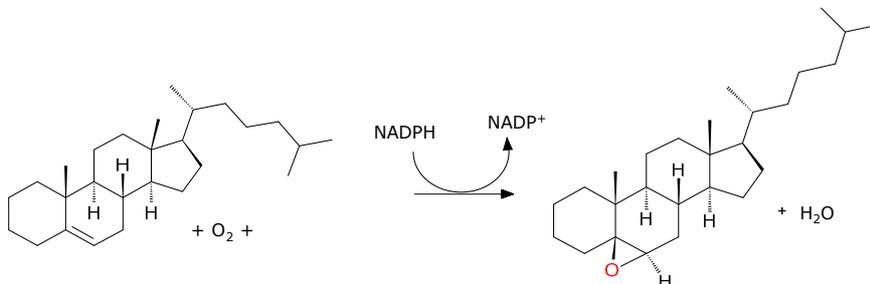
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 33 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Epossidazione
 - Da 5-colestene a 5,6 β -epossi-5 β -colestano



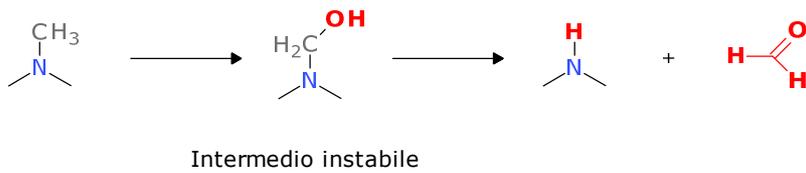
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 34 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Dealchilazione
 - Meccanismo della dealchilazione



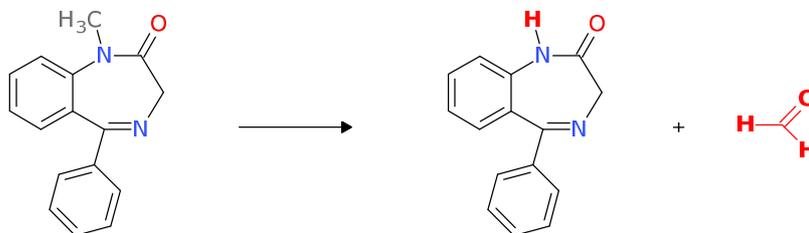
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 35 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Dealchilazione
- N-demetilazione del diazepam



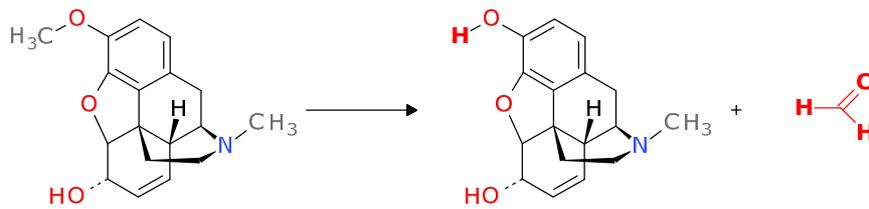
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 36 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Dealchilazione
 - O-demetilazione della codeina



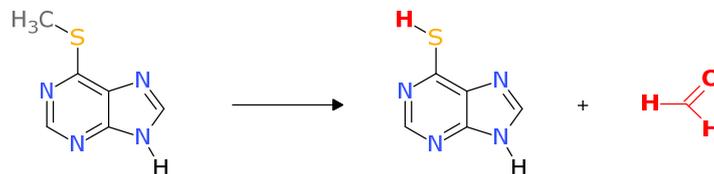
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 37 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Dealchilazione
 - S-demetilazione della S-metiltiopurina



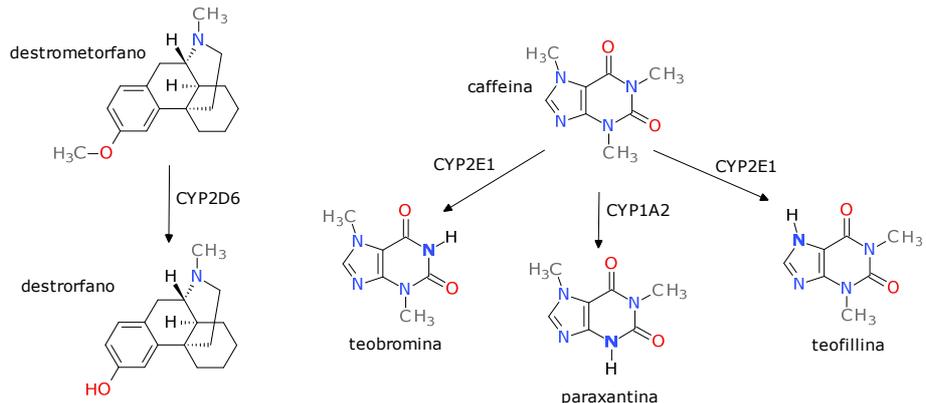
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 38 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Dealchilazione di eteroatomi
 - *O*-dealchilazione (da destrometorfano a destrorfano)
 - *N*-demetilazione della caffeina



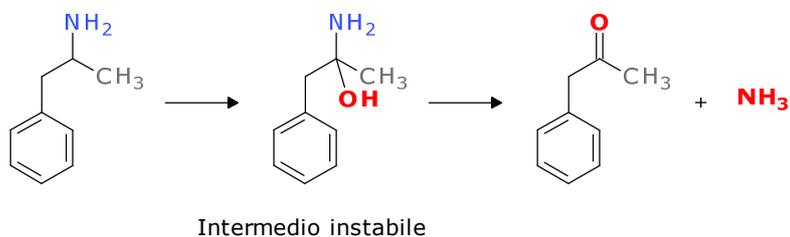
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 39 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Deaminazione ossidativa
 - Meccanismo di deaminazione dell'anfetamina



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 40 -

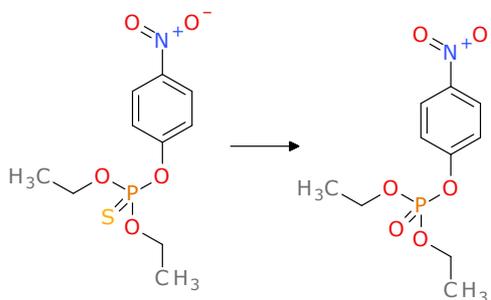
Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Trasferimento di gruppo per via ossidativa

- N, S, X

rimpiazzato con O

- Da parathion a paroxon (da S a O)
- Attivazione dell'alotano a trifluoroacetilcloruro



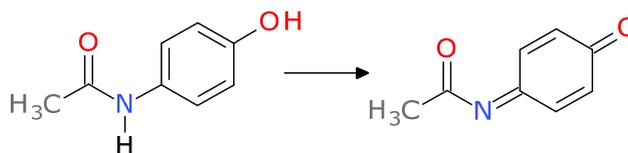
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 41 -

Reazioni catalizzate dal citocromo P450

- Scissione di esteri
 - Scissione del gruppo funzionale con O nel gruppo uscente
 - Da loratadina a lorantadina desacetilata (CYP3A4, 2D6)
- Deidrogenazione
 - Astrazione di due H con formazione di C=C
 - Attivazione di acetaminofene al metabolita epatotossico *N*-acetilbenzochinoneimina



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 42 -

Classificazione (?)

Varietà

- Oltre 4000 isoforme di CYP sono state identificate nella biosfera.
- Il genoma umano contiene circa 60 distinti geni CYP che sono stati raggruppati in base alla similarità di sequenza in
 - 18 famiglie geniche suddivise a loro volta in 42 sottofamiglie

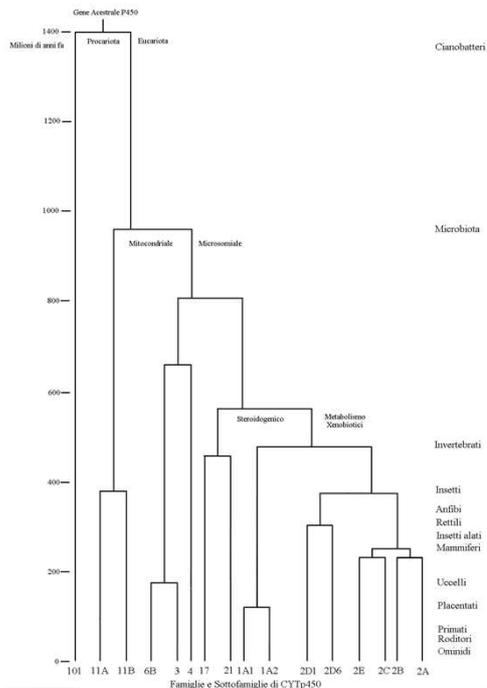
Varietà

- Le famiglie di CYP:
- 1-3: coinvolte nel metabolismo di xenobiotici
 - Delle 22 isoforme delle famiglie 1, 2 e 3 solo 6 isoforme sono interessate al metabolismo di fase I
- Le altre sono coinvolte nel metabolismo di composti endogeni: steroidi, eicosanoidi ecc.
- Spesso la stessa trasformazione è catalizzata da diverse isoforme, nel caso predomina quella con K_m minore.

La famiglia del Citocromo P450

- 450 nel riso,
- 58 nell'uomo,
- 84 nel topo,

- Filogenesi



Nomenclatura e classificazione

- <http://www.ebi.ac.uk/interpro/entry/IPR001128>

Nomenclatura

- Le singole proteine citocromo P450 seguono la seguente nomenclatura:
 - **FAMIGLIA: CYP seguito da un numero;**
 - **SOTTOFAMIGLIA: una lettera ed un numero che identifica la proteina nella sottofamiglia**
- Per es. CYP3A4 è la quarta proteina nella famiglia 3, sottofamiglia A
- In generale, i membri di una stessa famiglia hanno un'identità maggiore del 40% mentre i membri di una sottofamiglia hanno un'identità maggiore del 55%.

Classificazione

Classificazione tassonomica	
Classe	Caratteristiche
I	In mitocondri di cellule eucariote e batteriche. In cellule batteriche.
II	Nel reticolo endoplasmatico (microsomi) di cellule eucariote. Implicato nel metabolismo di composti esogeni.
Numero di componenti	
Classe	Caratteristiche
B	Tre componenti
E	Due componenti

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 49 -

Classificazione e nomenclatura

- Le diverse classi tendono ad unirsi (e a dividersi):
 - Citocromi P450 di procarioti e mitocondri (e CYP55 dei funghi) tendono ad avere un sistema a tre componenti: *una flavoproteina a FAD (con funzione NAD(P)H-reduttasica), una proteina ferro-zolfo e CytP450* (classe I/classe B) .
 - Citocromi P450 di microsomi di eucarioti tendono ad essere di classe II/classe E (due componenti): *NADPH:P450 reduttasi (FAD e FMN flavoproteina) e Citocromo P450*.
 - Gli enzimi di classe E possono essere suddivisi in cinque gruppi (I-V) ognuno dei quali può contenere più di una famiglia di Citocromi P450 (CYP1 e CYP2 sono del gruppo I).
 - La divergenza della superfamiglia dei Citocromi P450 nelle classi B ed E e la ulteriore separazione della classe E in gruppi I-V sembra essere ancestrale e precedente all'apparizione degli eucarioti.

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 50 -

Classificazione e nomenclatura

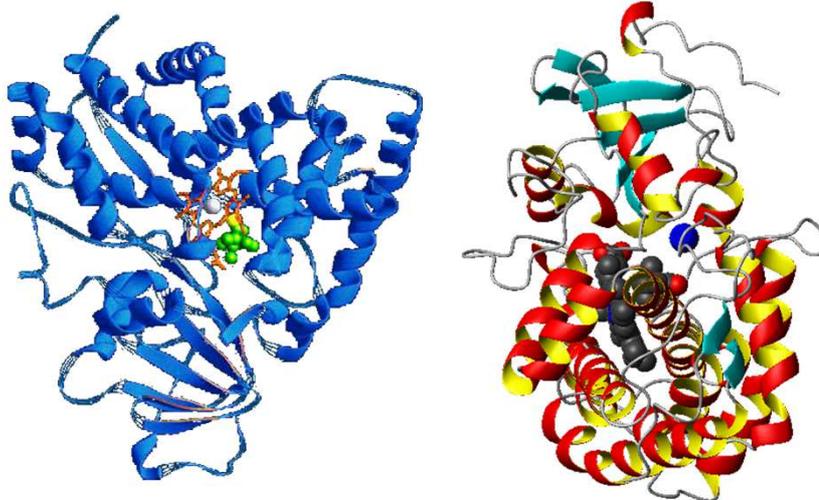
- **Il sistema del P450 microsomiale** nel quale gli elettroni sono trasferiti dal NADPH attraverso varie citocromo P45a reduttasi (CPR, POR, o CYPOR). Anche una classe di citocromi diversi (non P450) ma Citocromo b5 può contribuire come riducente a questo sistema dopo essere stato ridotto da citocromo b5 reduttasi (CYB5R).
- **Il sistema del P450 mitocondriale e batterico:** usano la ferredossina reduttasi e la ferredossina per trasferire elettroni al citocromo P450.
- **Il sistema CYB5R/cyb5/P450** nel quale gli elettroni provengono SOLO dal citocromo b5.
- **I sistemi FMN/Fd/P450** trovati originariamente in *Rhodococcus sp.* nel quale il dominio reduttasico che contiene FMN è fuso con il citocromo P450.
- **I sistemi che usano il solo P450** che non richiedono potere riducente dall'esterno. I più importanti sono: la trombassano sintasi (CYP5), la prostaciclina sintasi (CYP8) e la allene ossido sintasi (CYP74A).

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 51 -

Citocromo P450 classe I

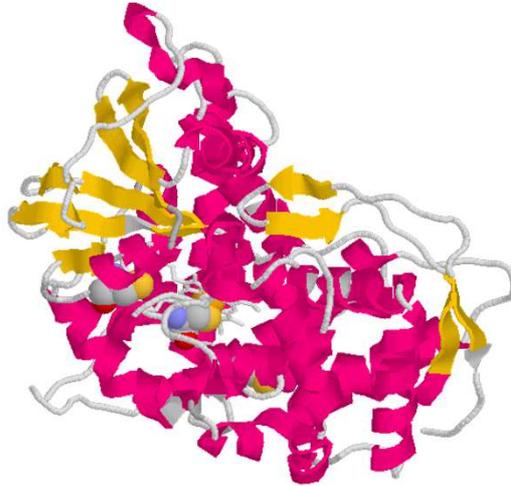


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 52 -

Citocromo P450 classe I

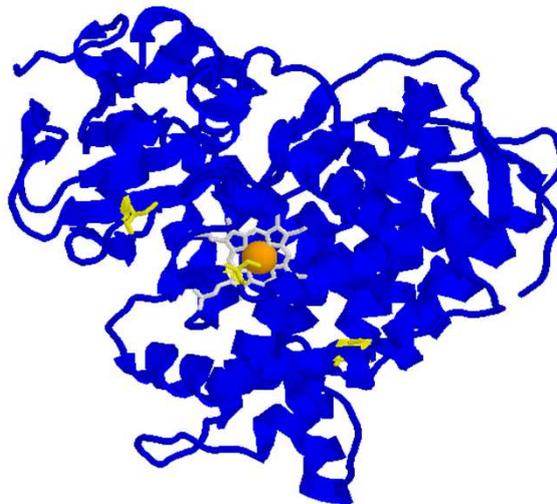


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 53 -

Citocromo P450 classe I

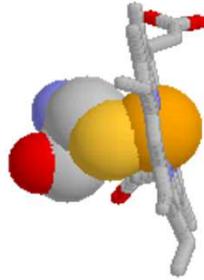


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 54 -

Citocromo P450 classe I

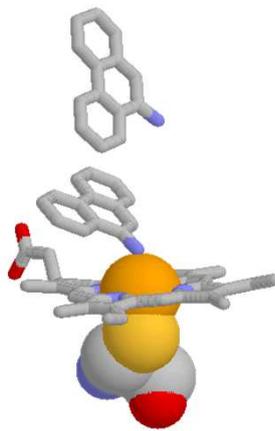


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 55 -

Citocromo P450 classe I

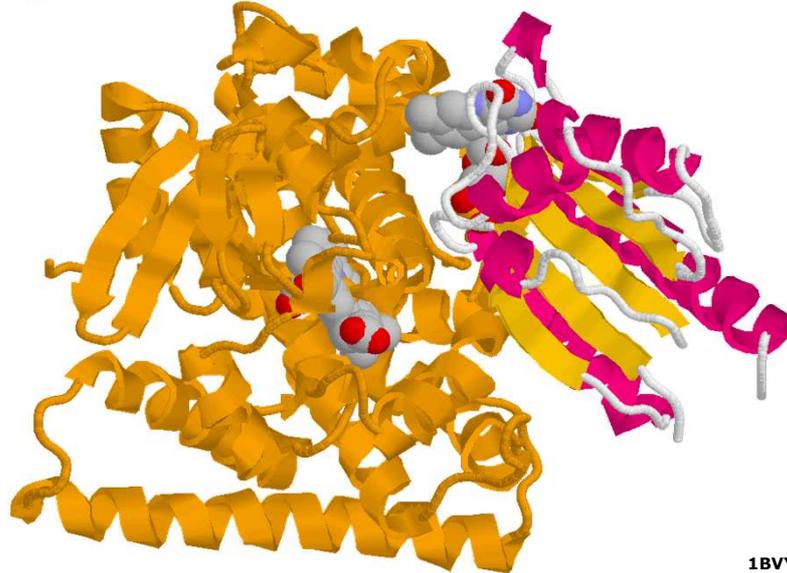


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 56 -

Citocromo P450 classe II e dominio legante FMN della NADPH reduttasi



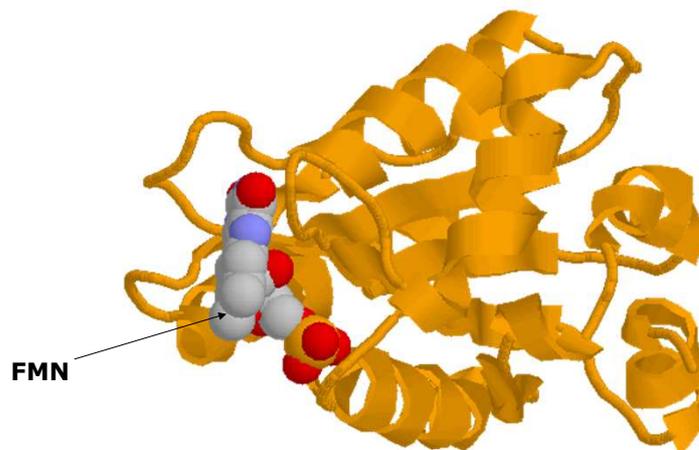
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

1BVY

- 57 -

Citocromo P450 Reduttasi (EC:1.6.2.4)



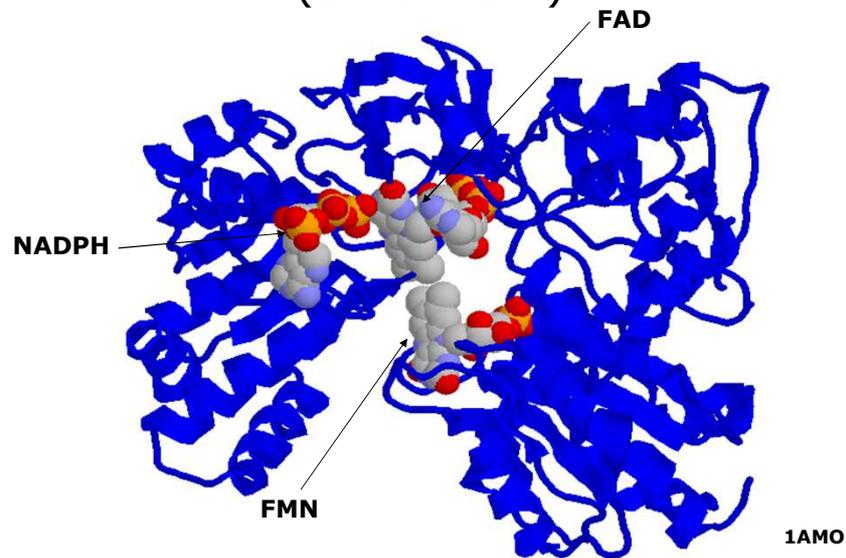
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

1B1C

- 58 -

NADPH-Citocromo P450 Reduttasi (EC:1.6.2.4)



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 59 -

Funzione e nomenclatura

- A. **Degradano xenobiotici:** CYP1, CYP2A..2E, CYP3
- B. **Coinvolti nel metabolismo degli steroidi:** CYP2G1, CYP7, CYP8B1, CYP11, CYP17, CYP19, CYP21, CYP27A1, CYP46, CYP51
- C. **Metabolismo degli acidi grassi** (specialmente arachidonato e suoi metaboliti): CYP2J2, CYP4, CYP5, CYP8A1
- D. **Altri substrati:** CYP2R1 (?), CYP2S1 (?), CYP24 (Vitamina D), CYP26 (acido retinoico), CYP27B1 (Vitamina D), CYP39 (?)

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

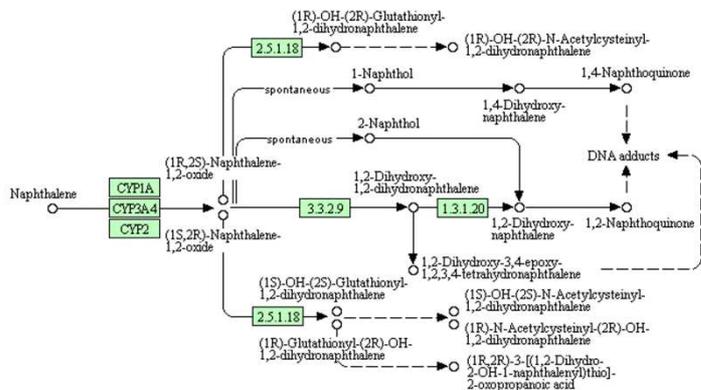
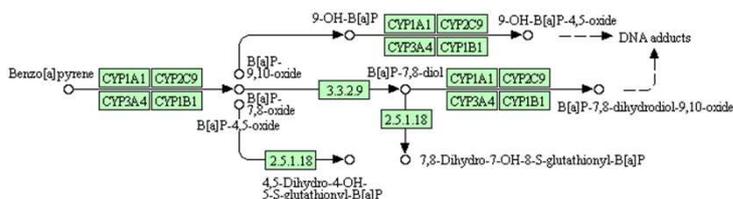
Citocromo P450

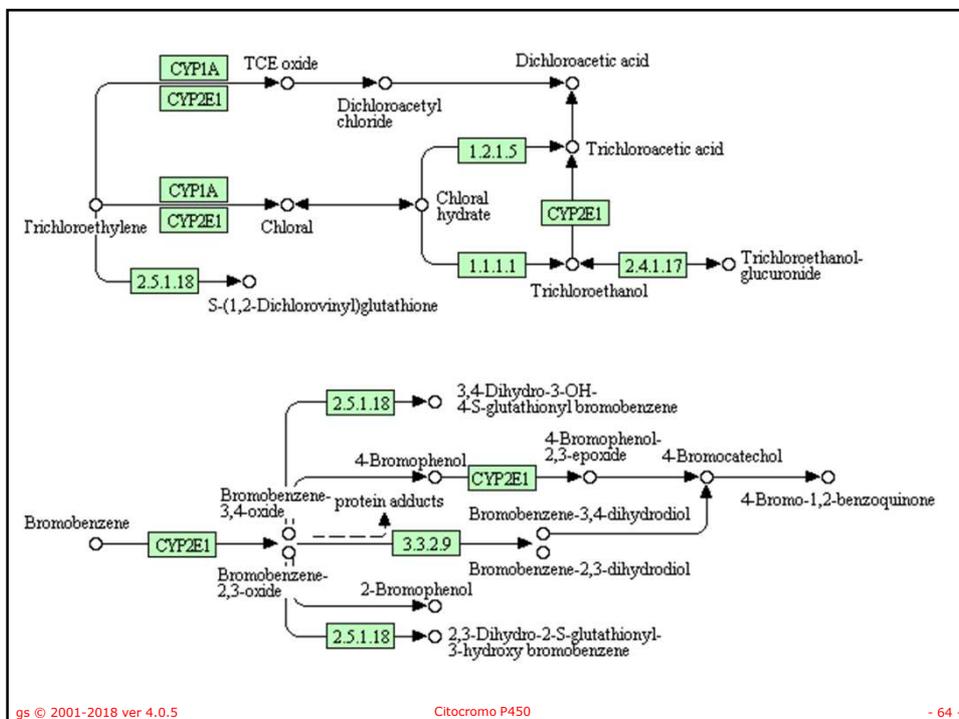
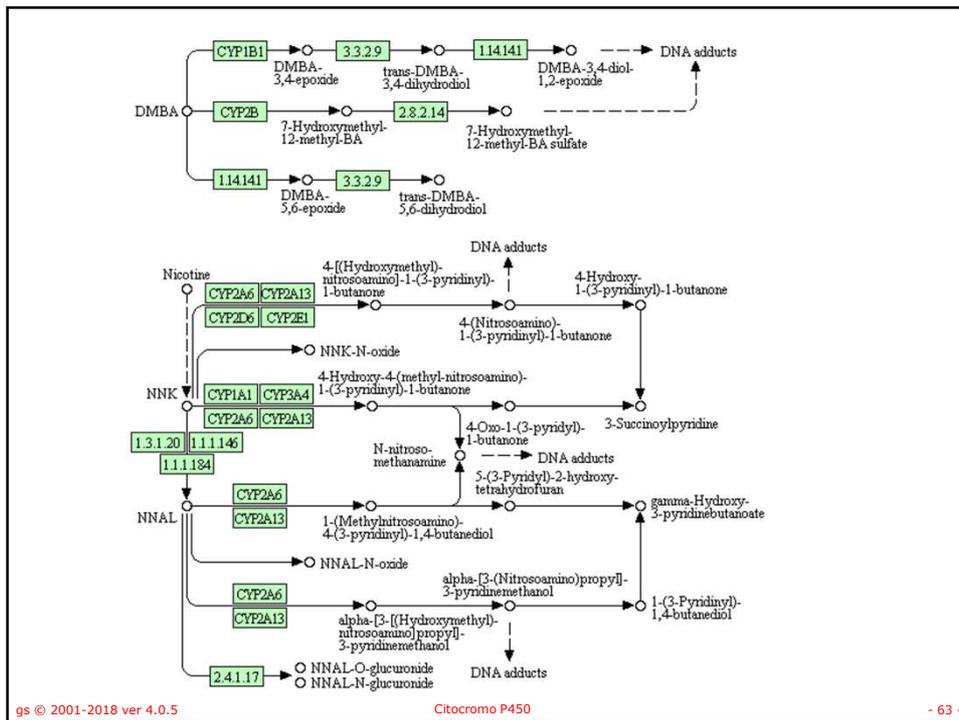
- 60 -

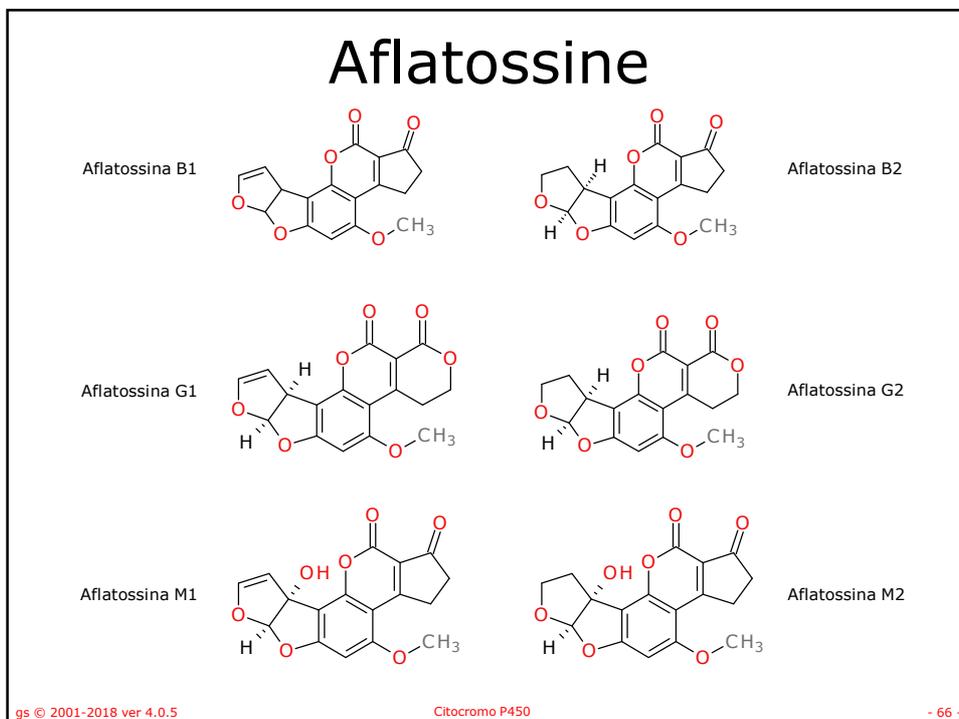
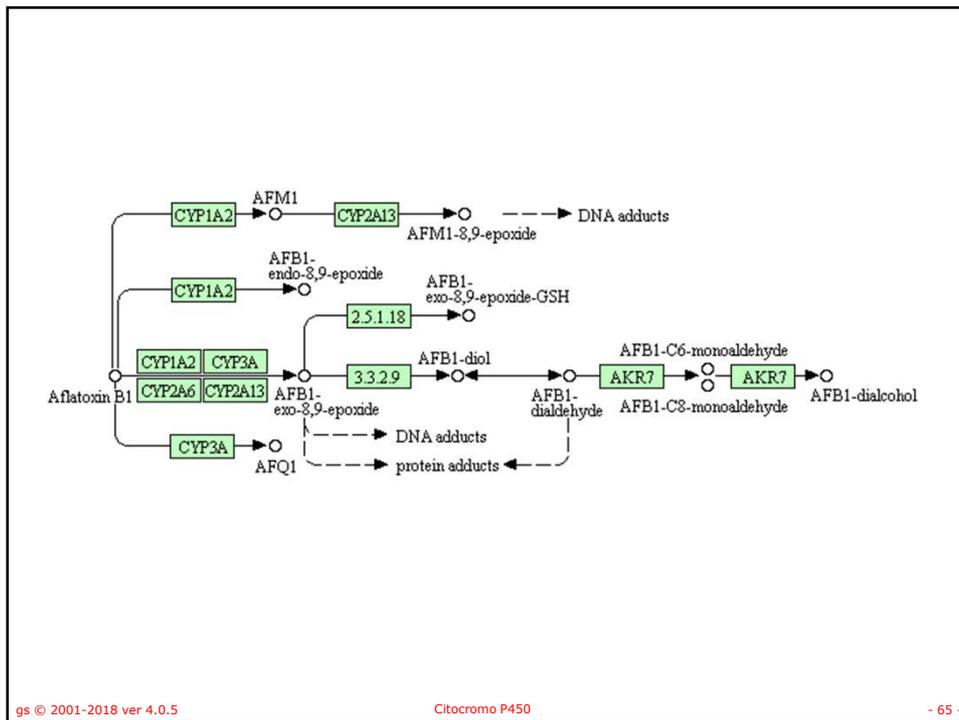
Famiglie nell'uomo

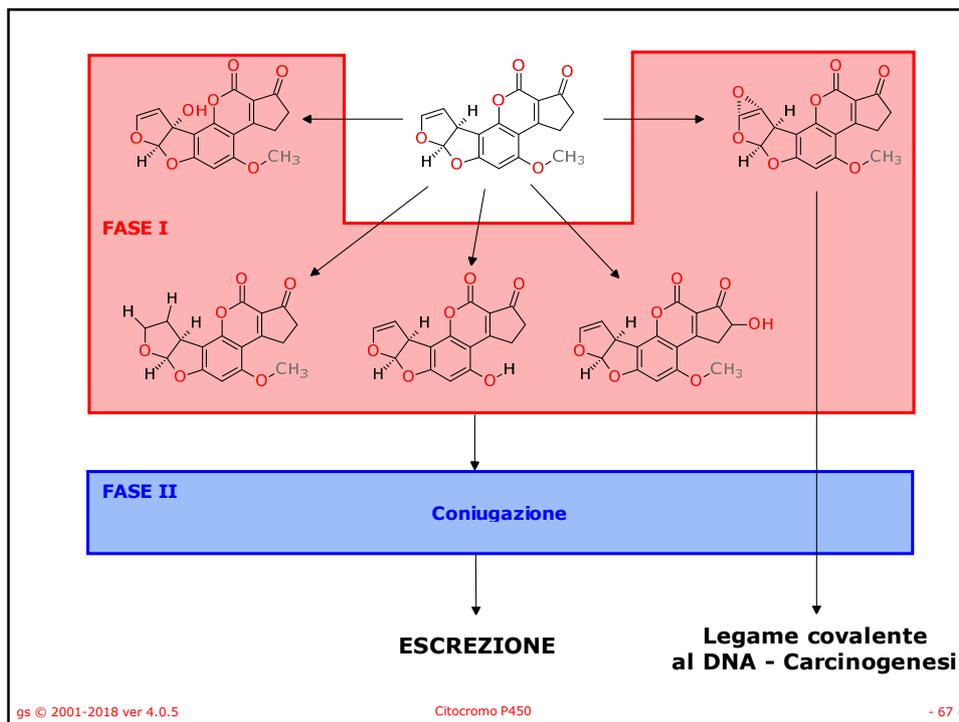
- 18 famiglie geniche suddivise a loro volta in
 - CYP1, CYP2, CYP3, CYP4, CYP5, CYP7, CYP8, CYP11, CYP17, CYP19, CYP21, CYP24, CYP26, CYP27, CYP39, CYP46 e CYP51
 - 42 sottofamiglie

- http://www.ebi.ac.uk/interpro/potm/2006_10/Table.htm
- <http://pdb.org/pdb/101/motm.do?momID=82>
- http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?org_name=hsa&mapno=00980&mapscale=&show_description=s how









Alcuni componenti nell'uomo

Denominazione	Espresso in	Substrati	Induttori	Inibitori	Polimorfismo genetico
CYP1A1/2	Fegato Polmoni Pelle Placenta	Caffeina Teofillina	Fumo di sigarette Carne alle braci	Furafilline α -naftoflavone (reversibile)	
CYP2B6	Fegato	Diazepam Fenantrene	?	Orfenandrina	
CYP2C19		Fenitoina Piroxicam Tolbutamide Warfarin	Rifampin	Sulfafenazolo	Si

Alcuni componenti nell'uomo

Denominazione	Espresso in	Substrati	Induttori	Inibitori	Polimorfismo genetico
CYP2D6		Propafenone Desipramine Propranololo Codeine Destrometorfano	Nessuno conosciuto	Fluoxetine Quinidine	Si
CYP2E1	Fegato Polmoni Rene Linfociti	Etanolo Caffeine Teofilline Benzene	Etanolo Isoniazide	Disulfiram	

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 69 -

Alcuni componenti nell'uomo

Denominazione	Substrati	Induttori	Inibitori
CYP3A4	Acetaminofene, Carbamazepina Ciclosporina, Dapsone, Digitossina, Diltiazem, Diazepam, Eritromicina, Etoposide, Lidocaina, Loratadina, Midazolam, Lovasatina, Nifedipina, Rapamicina, Taxolo, Verapamil	Rifampin Carbamazepina Fenobarbitale Fenitoina	Fluoxetina Quinidina
CYP4A9/11	Acidi grassi e derivati		

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 70 -

Nomenclatura e EC number

EC	Nome	Famiglia /Gene
1.3.3.9	secologanina sintasi	CYP72A1
1.14.13.11	trans-cinnamato 4-monossigenasi	CYP73
1.14.13.12	benzoato 4-monossigenasi	CYP53
1.14.13.13	calcidiol 1-monossigenasi	CYP27
1.14.13.15	colestanetriolo 26-monossigenasi	CYP27
1.14.13.17	colesterolo 7alfa-monossigenasi	CYP7
1.14.13.21	flavonoide 3'-monossigenasi	CYP75
1.14.13.28	3,9-diidrossipterocarpano 6alfa-monossigenasi	CYP93A1
1.14.13.30	leukotriene-B4 20-monossigenasi	CYP4F
1.14.13.37	metiltetraidroprotoberberina 14-monossigenasi	CYP93A1
1.14.13.41	tirosina N-monossigenasi	CYP79
1.14.13.42	idrossifenilacetone nitrile 2-monossigenasi	-

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 71 -

Nomenclatura e EC number

EC	Nome	Famiglia Gene
1.14.13.47	(-)-limonene 3-monossigenasi	-
1.14.13.48	(-)-limonene 6-monossigenasi	-
1.14.13.49	(-)-limonene 7-monossigenasi	-
1.14.13.52	isoflavone 3'-idrossilasi	-
1.14.13.53	isoflavone 2'-idrossilasi	-
1.14.13.55	protopine 6-monossigenasi	-
1.14.13.56	diidrosanguinarina 10-monossigenasi	-
1.14.13.57	diidrochelirubina 12-monossigenasi	-
1.14.13.60	27-idrossicolesterolo 7alfa-monossigenasi	-
1.14.13.70	sterolo 14-demetilasi	CYP51
1.14.13.71	N-metilcoclaurina 3'-monossigenasi	CYP80B1
1.14.13.73	tabersonina 16-idrossilasi	CYP71D12

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 72 -

Nomenclatura e EC number

EC	Nome	Famiglia Gene
1.14.13.74	7-deossiloganina 7-idrossilasi	-
1.14.13.75	vinorina idrossilasi	-
1.14.13.76	taxano 10beta-idrossilasi	CYP725A1
1.14.13.77	taxano 13alpha-idrossilasi	CYP725A2
1.14.13.78	ent-kaurene ossidasi	CYP701
1.14.13.79	acido ent-kaurenoico ossidasi	CYP88A
1.14.14.1	monossigenasi aspecifica	multipla
1.14.15.1	canfora 5-monossigenasi	CYP101
1.14.15.3	alcano 1-monossigenasi	CYP4A
1.14.15.4	steroidi 11beta-monossigenasi	CYP11B
1.14.15.5	corticosterone 18-monossigenasi	CYP11B
1.14.15.6	colesterolo monossigenasi (clivaggio della catena laterale)	CYP11A

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 73 -

Nomenclatura e EC number

EC	Nome	Famiglia/ Gene
1.14.21.1	(S)-stilopina sintasi	-
1.14.21.2	(S)-cheilantifolina sintasi	-
1.14.21.3	berbamunina sintasi	CYP80
1.14.21.4	salutaridina sintasi	-
1.14.21.5	(S)-canadina sintasi	-
1.14.99.9	steroidi 17alfa-monossigenasi	CYP17
1.14.99.10	steroidi 21-monossigenasi	CYP21
1.14.99.22	ecdisoni 20-monossigenasi	-
1.14.99.28	linaloolo 8-monossigenasi	CYP111
4.2.1.92	idroperossido deidratasi	CYP74
5.3.99.4	prostaglandina 1-monossigenasi	CYP8
5.3.99.5	trombossano-A sintasi	CYP5

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

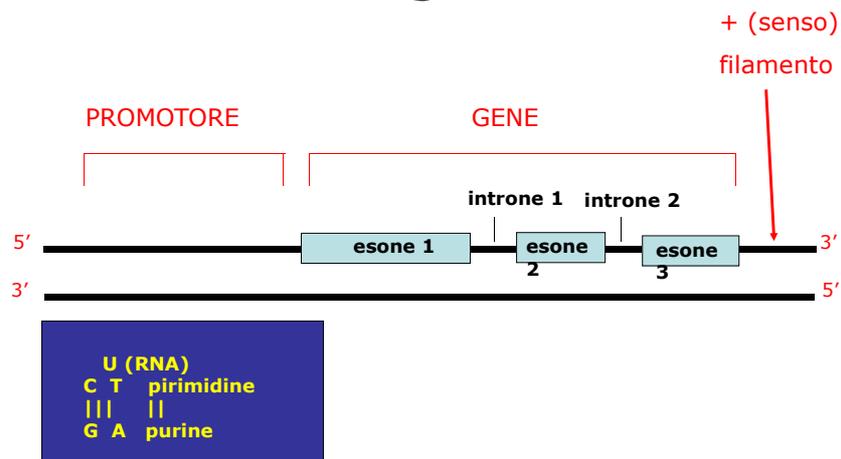
Citocromo P450

- 74 -

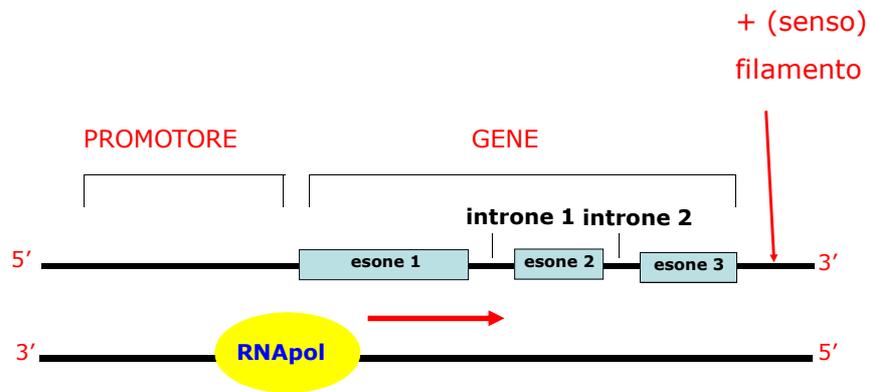
Induzione

- Meccanismo attraverso il quale uno stimolo esterno alla cellula provoca come risposta la produzione di una o più proteine o, comunque, una attivazione della sintesi proteica:
 - HSP
 - Stress
 - CYP

Un gene



Il DNA fa RNA che fa PROTEINA

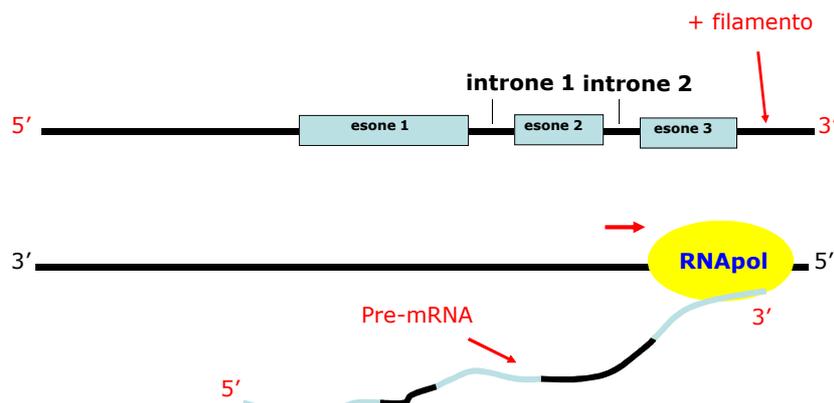


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 77 -

Trascrizione



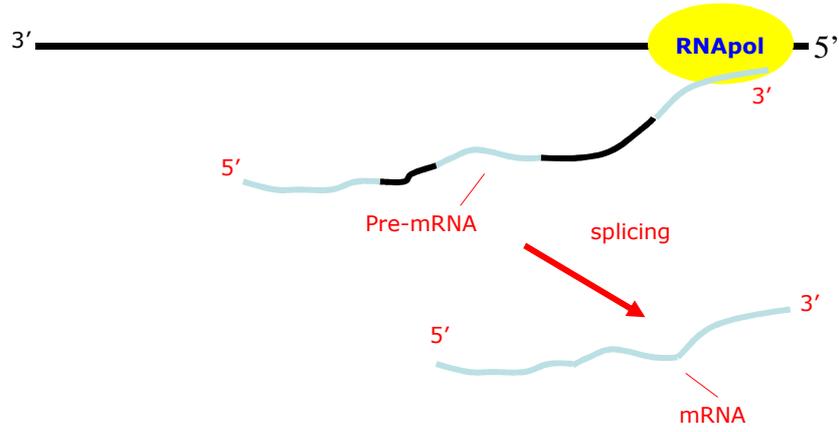
Il filamento complementare dà una COPIA del GENE.

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

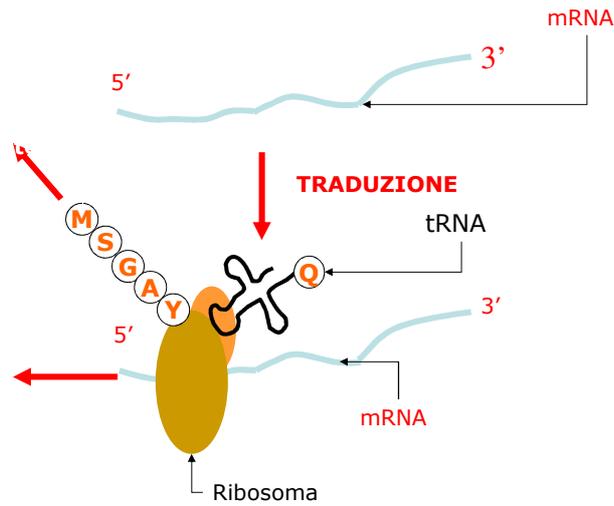
Citocromo P450

- 78 -

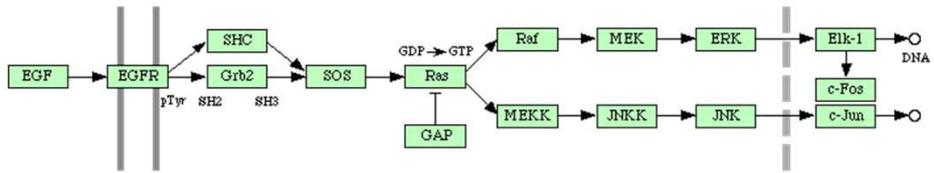
Splicing



Traduzione



MAPK

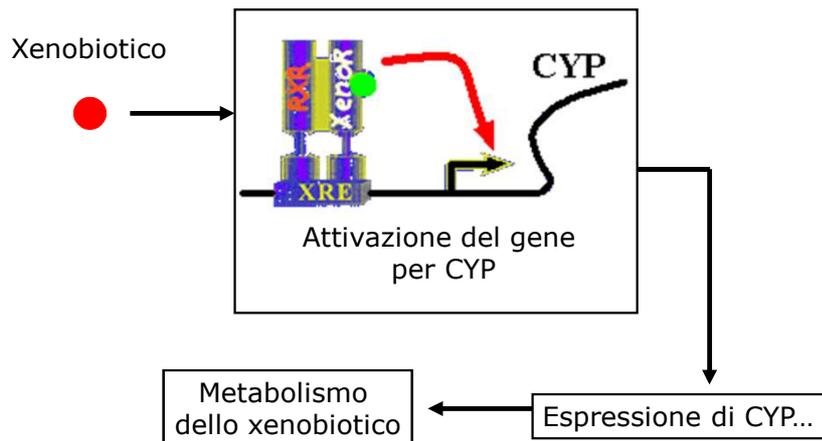


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 81 -

Il paradigma



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 82 -

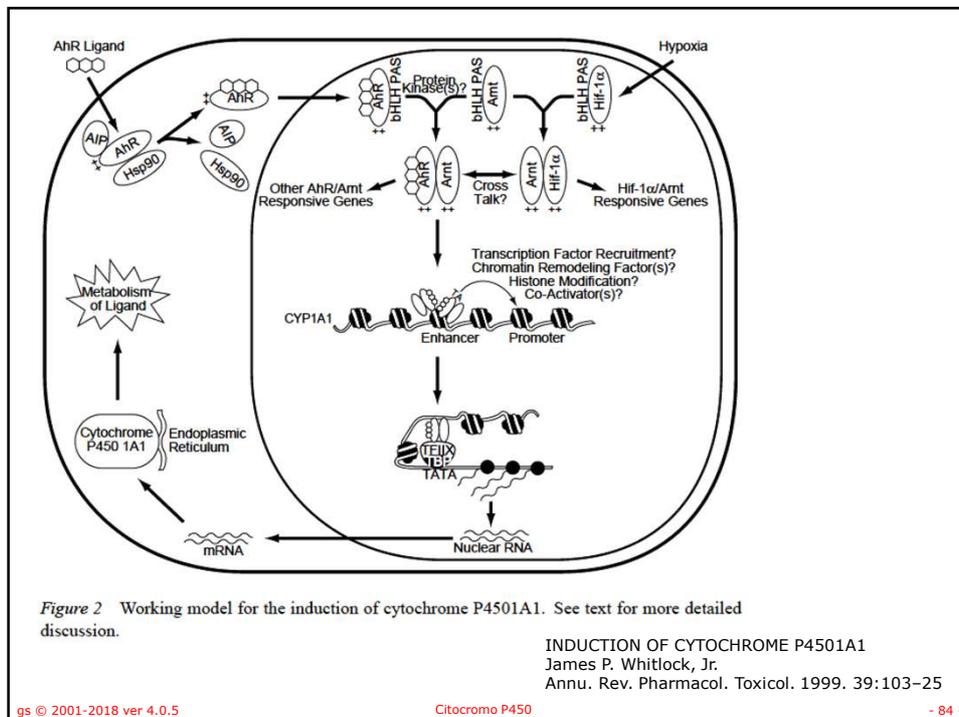
CYP1A1 e recettori per idrocarburi aromatici

- CYP1A1 non è espressa costitutivamente nel fegato di ratto.
- CYP1A1 è indotta da idrocarburi policiclici
 - Benzo(a)pirene, TCDD (diossine).
 - Farmaci (omeprazolo, inibitore delle pompe protoniche).
- Meccanismo – up-regulation trascrizionale.

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

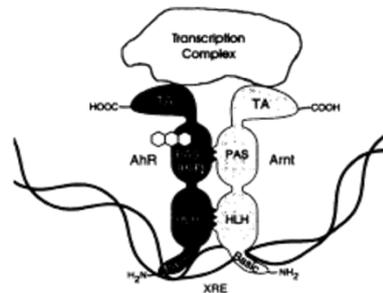
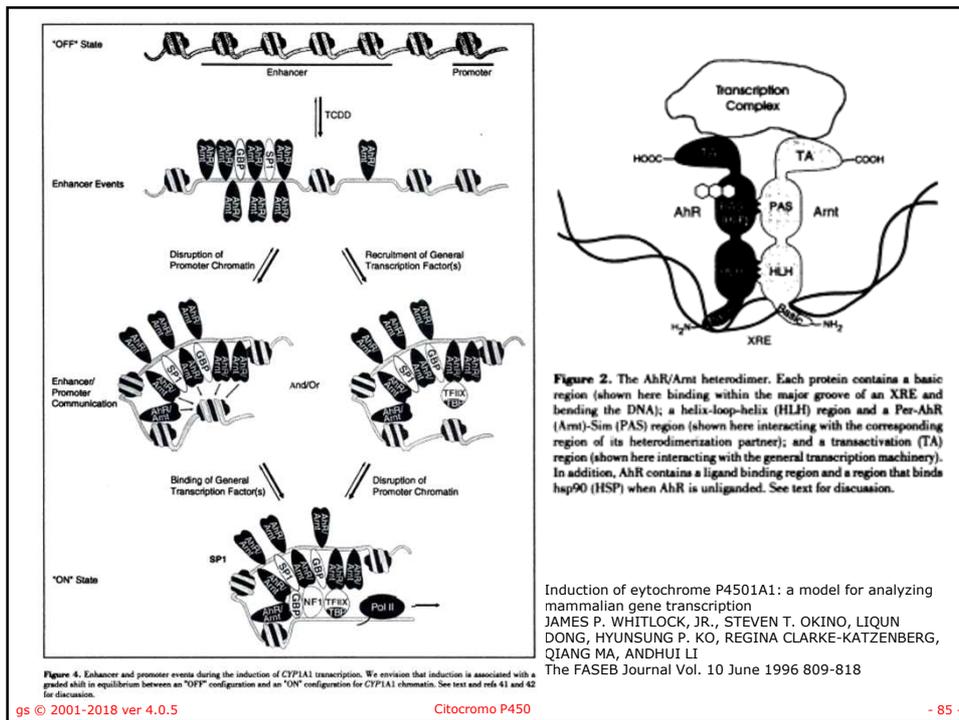
- 83 -



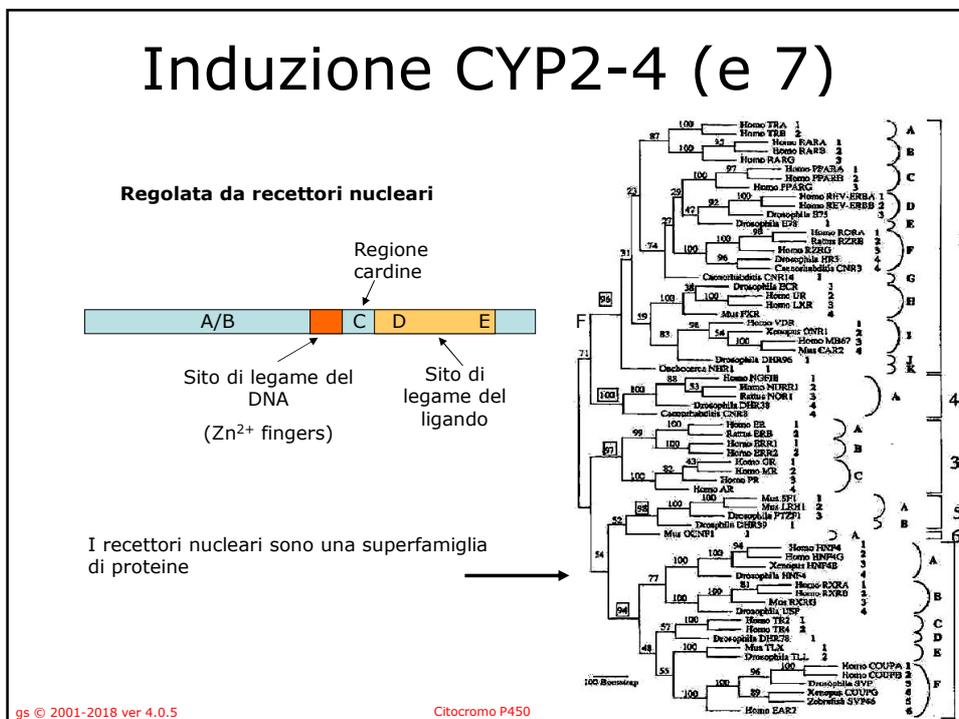
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 84 -

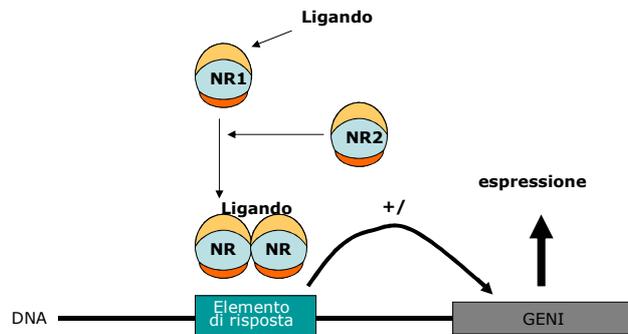


Induction of eytochrome P4501A1: a model for analyzing mammalian gene transcription
 JAMES P. WHITLOCK, JR., STEVEN T. OKINO, LIQUN DONG, HYUNSUNG P. KO, REGINA CLARKE-KATZENBERG, QIANG MA, ANDHUI LI
 The FASEB Journal Vol. 10 June 1996 809-818



Recettori nucleari

I recettori nucleari sono fattori di trascrizione attivati dai ligandi



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 87 -

Recettori nucleari

- Recettori per gli steroidi
 - GR: recettore per i glucocorticoidi
 - MR: recettore per i mineralocorticoidi
 - AR: recettore per gli androgeni
 - ER: recettore per gli estrogeni
- Recettori per altri ligandi
 - RXR: recettore per X retinoide
 - RAR: recettore per acido retinoico
 - TR: recettore per l'ormone tiroideo
 - VDR: recettore per la vitamina D
- ?
 - PXR: recettore per X pregnano
 - CAR: recettore costitutivo attivato

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 88 -

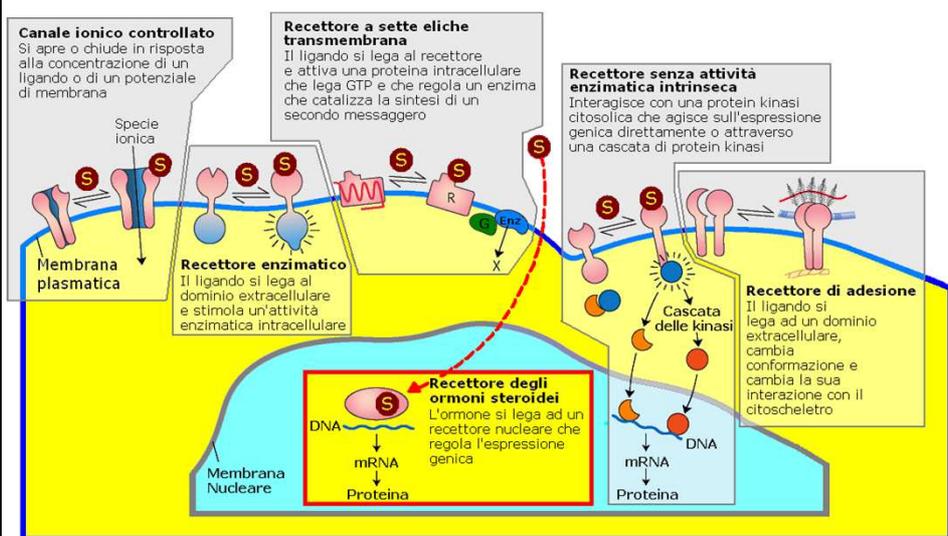
Recettori nucleari

- I recettori nucleari si legano ad uno specifico elemento di risposta
- Generalmente 2 mezzi siti di legame correlati con AGTCA
- Sono i recettori per gli ormoni steroidei (GR, MR ecc...)
- Si lega come omodimero
- Sequenza palindromica imperfetta
- Separati da 3bp

AGGACANNNTGTACC

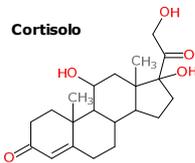
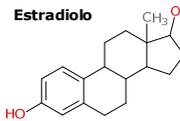
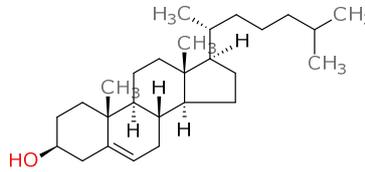
TCCTGTNNNACATGG

Recettori degli ormoni steroidei



Ormoni steroidei

- Precursore comune: Colesterolo
- Secreti da:
 - Organi riproduttivi
 - Corteccia surrenale
- Metaboliti attivi della Vitamina D



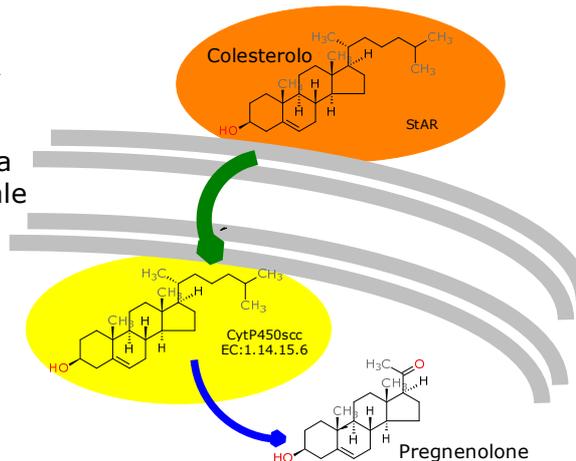
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 91 -

Sintesi del progesterone

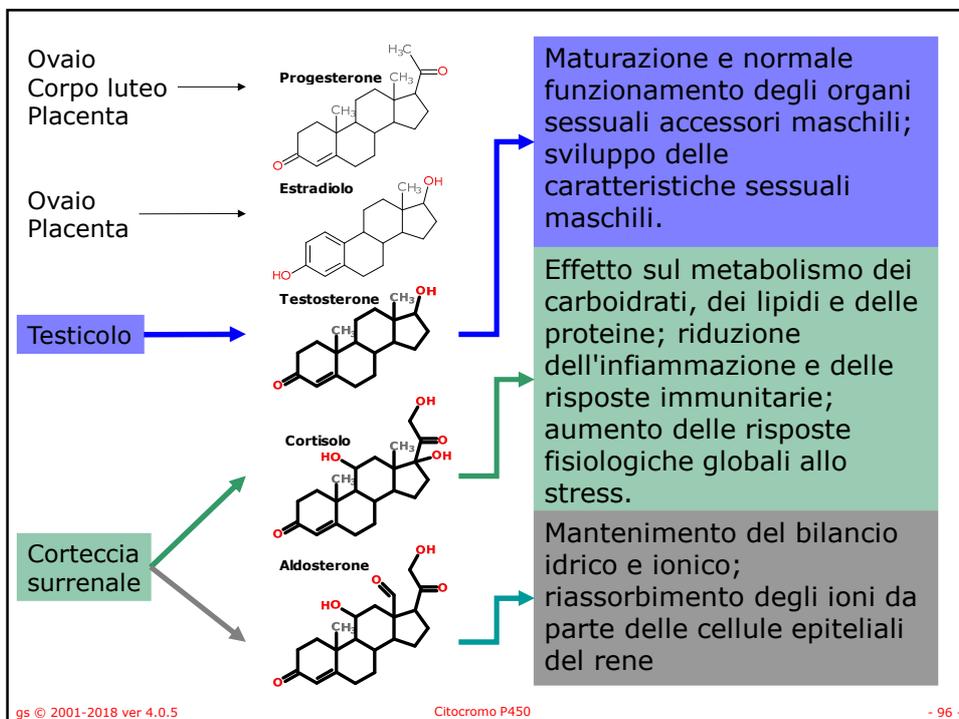
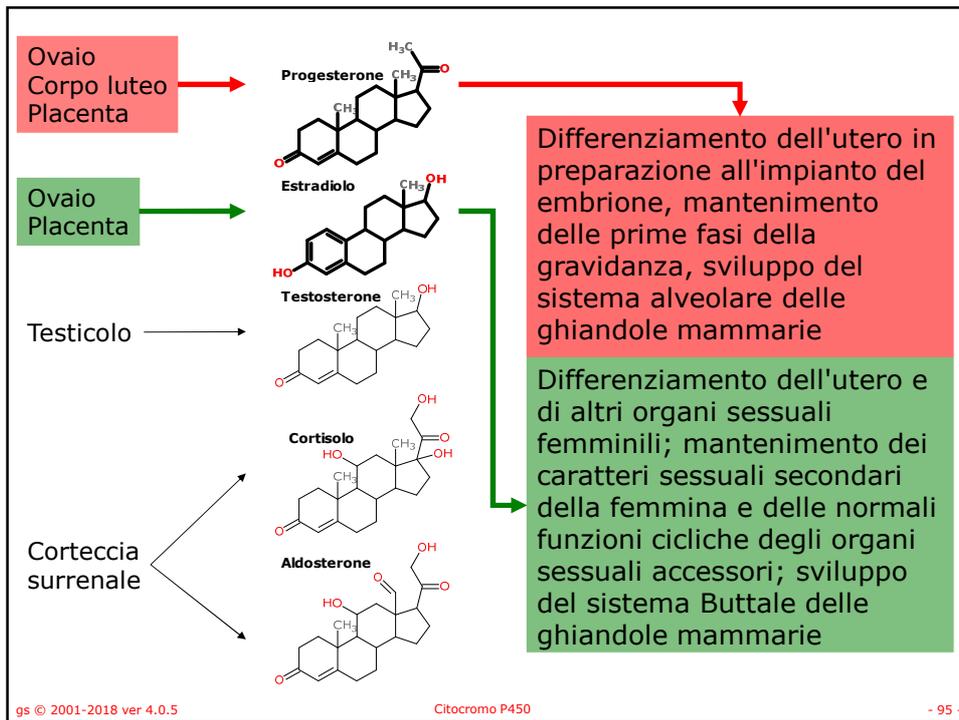
Grazie ad una proteina di trasporto detta StAR (*Steroidogenic Acute Regulatory protein*), il colesterolo raggiunge la membrana mitocondriale interna (rate-limiting step) dove subisce l'azione del Citocromo P450_{scc} (*side chain cleavage*) che causa la rottura della catena laterale del colesterolo.



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

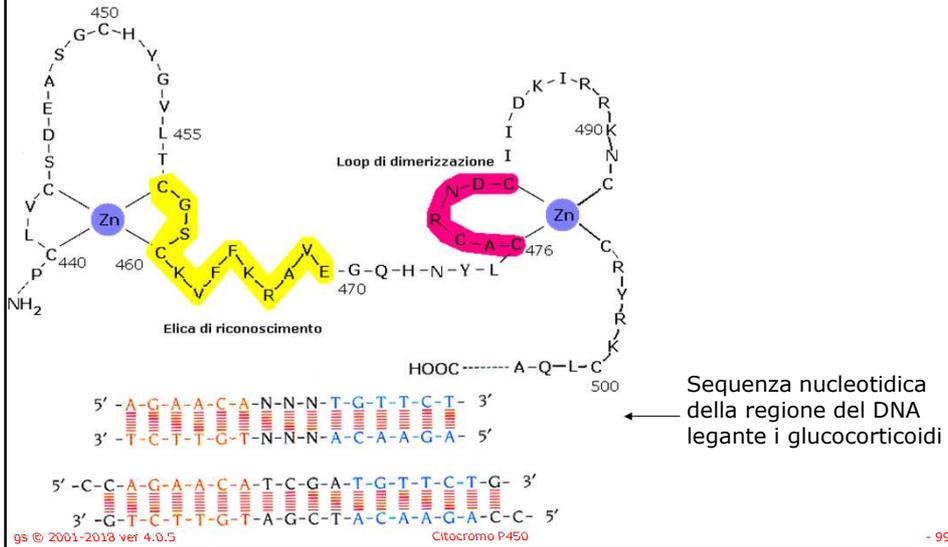
Citocromo P450

- 92 -

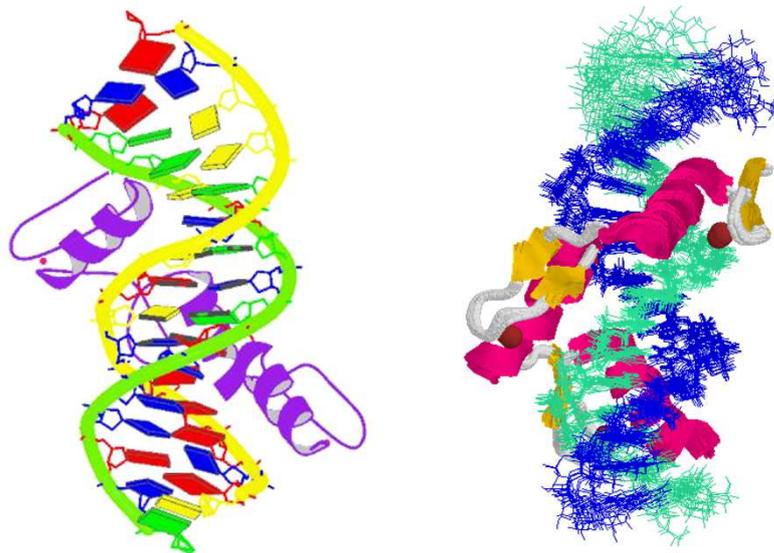


Sequenza AA del dominio di legame del DNA contenente Zn⁺⁺ del recettore dei glucocorticoidi.

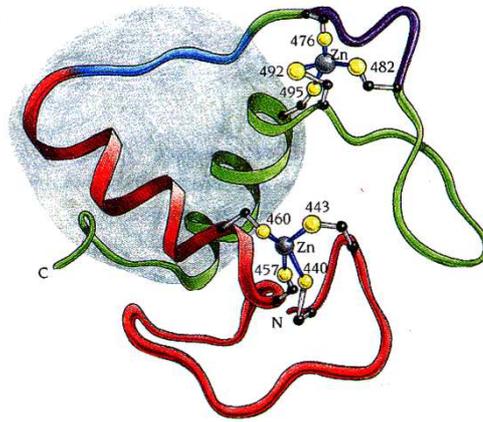
Ogni ione di Zn⁺⁺ è legato a 4 residui di cisteina. Uno di questi stabilizza l'**elica di riconoscimento** che fornisce siti di legame ai DNA sequenza-specifici mentre nella altra regione contenente Zn⁺⁺ è presente un **loop** implicato nella formazione del dimero.



Sequenza AA del dominio di legame del DNA contenente Zn del recettore dei glucocorticoidi.



- Nella struttura i due motivi leganti lo ione Zn^{2+} non sono separati in due unità discrete ma sono intrecciati a formare un dominio globulare in cui sono presenti numerose interazioni tra le due unità digitiformi.
- In ognuno dei due motivi contenenti Zn^{2+} , la seconda coppia delle cisteine leganti lo Zn^{2+} dà inizio a un'α-elica anfipatica.

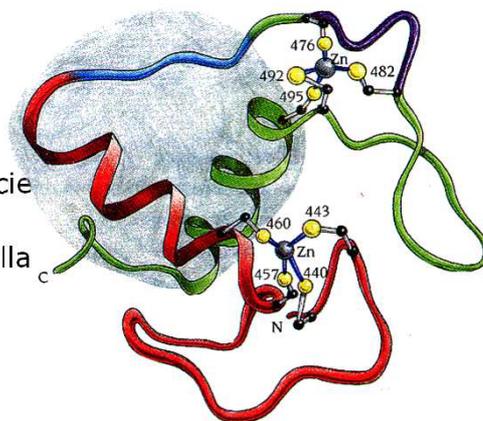


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 101 -

- I lati idrofobi delle due α-eliche si impaccano l'uno contro l'altro formando un *core* con un interno idrofobo.
- Le catene laterali idrofile presenti sull'altro lato della prima α-elica sono esposte al solvente e formano la superficie di interazione con il DNA.
- I due ioni Zn^{2+} e le regioni della proteina tra i ligandi di questi formano protrusioni che si proiettano da questo *core* idrofobico.

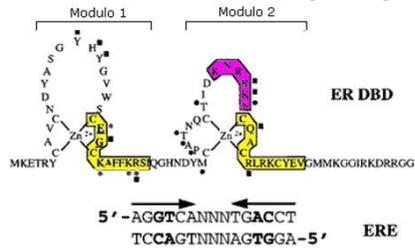


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

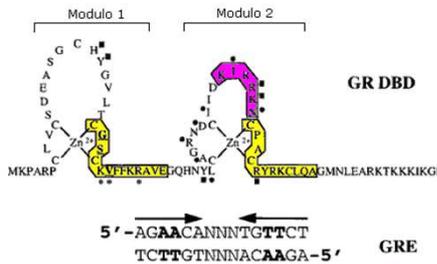
Citocromo P450

- 102 -

Riconoscimento



- Le regioni del DNA che legano il recettore, gli elementi di risposta agli ormoni, comprendono due semisiti palindromici identici (ognuno di sei paia di basi separate da una regione spaziatrice di tre coppie di basi) la cui sequenza è indifferente ma la cui lunghezza è cruciale per il corretto legame del recettore ai due semisiti.



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

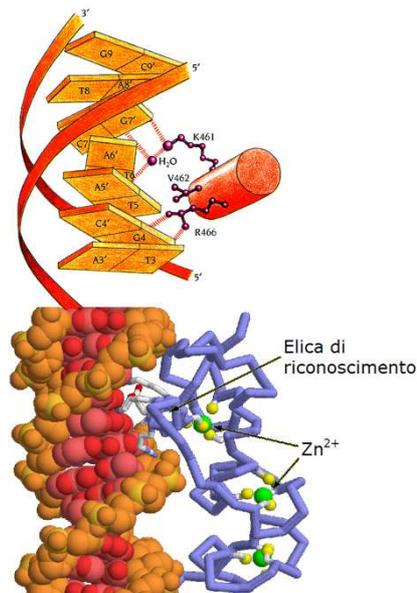
Citocromo P450

- 103 -

Riconoscimento

- I contatti con i margini delle basi presenti nel solco maggiore sono dovuti alle interazioni dei tre residui presenti nella metà N-terminale dell'elica di riconoscimento del GR:

- Lys 461;
- Val 462;
- Arg 466.



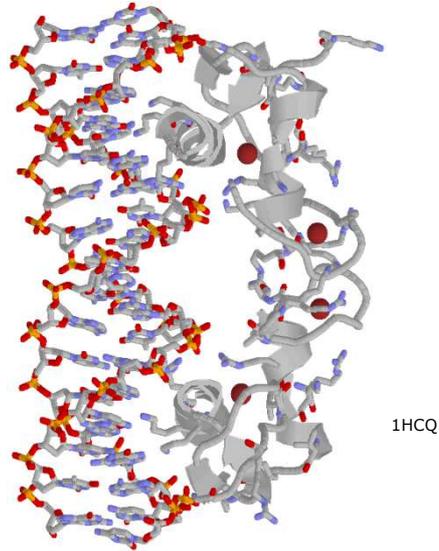
gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 104 -

Riconoscimento

- I contatti con i margini delle basi presenti nel solco maggiore sono dovuti alle interazioni dei tre residui presenti nella metà N-terminale dell'elica di riconoscimento del GR:
 - Lys 461;
 - Val 462;
 - Arg 466.

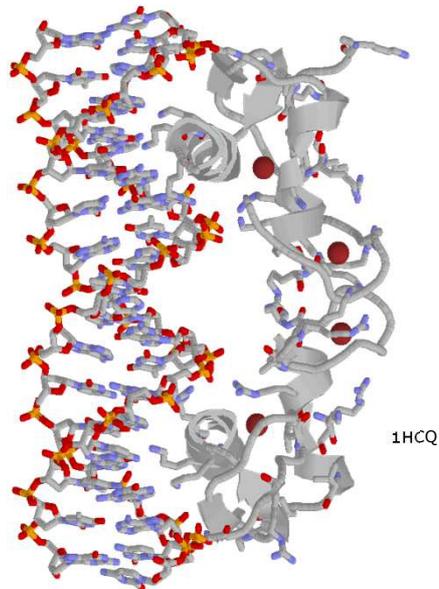
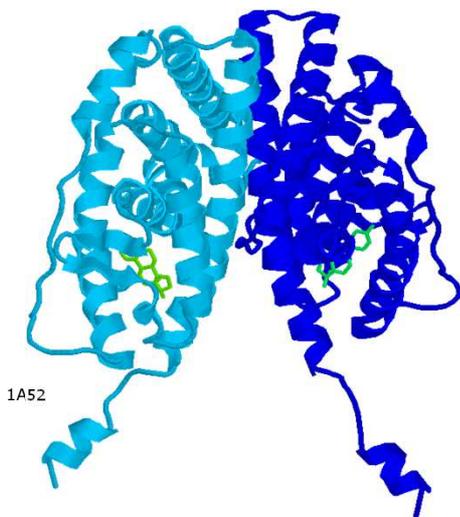


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 105 -

Riconoscimento

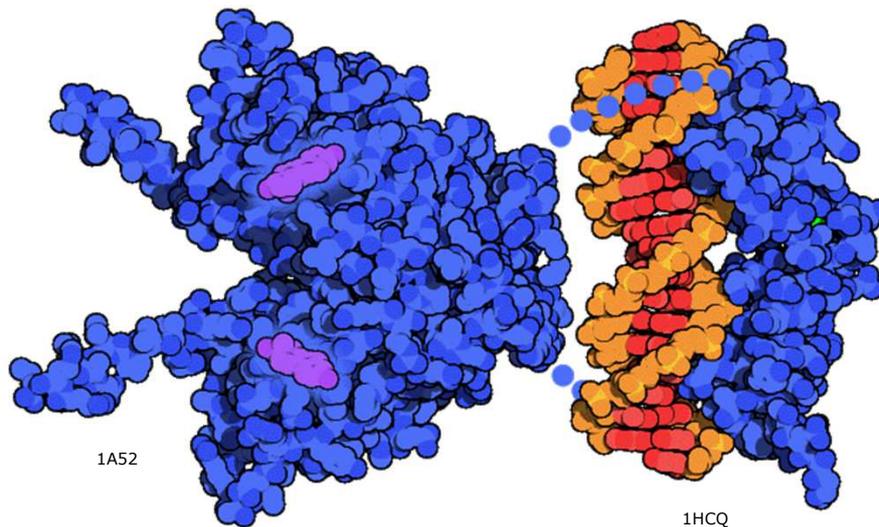


gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 106 -

Complessivo



gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 107 -

Referenze sul WEB

- 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>

gs © 2001-2018 ver 4.0.5

Citocromo P450

- 108 -

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
 - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] - Zanichelli
 - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
 - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
 - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] - Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
 - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>
- Il materiale è stato inoltre rivisto e corretto dalla **Prof. Giancarla Orlandini** dell'Università di Parma alla quale va il mio sentito ringraziamento.

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 11/05/2018 21:10:29