

DO YOU LIKE  
LIVER?

# Enzimi di Fase II

1

## Enzimi di Fase II

Lipofilo  $\longrightarrow$  Idrofilo

- Diminuzione dell'attività biologica
- Aumentata escrezione



- Variazione di polarità
- Variazione di funzionalità

- Variazione di dimensioni
- Variazione di carica
- Variazione di solubilità

2

## Enzimi di fase II

- Catalizzano reazioni di:
  - Coniugazione con
    - Acido glucuronico
    - Glutazione
    - Solfato
    - Acetile
    - Aminoacidi
  - Metilazione
- **Metallotioneine**

gs © 2001-2019 ver 3.9

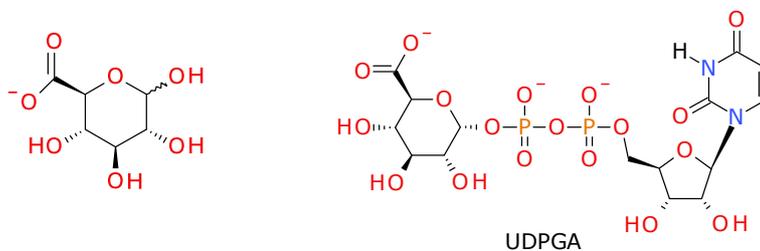
Enzimi di Fase II

- 3 -

3

## Coniugazione con Acido Glucuronico

- Glucuronazione:
  - Coniugazione di xenobiotici con un atomo di idrogeno labile con acido glucuronico da acido uridindifosfoglicerico (UDPGA)



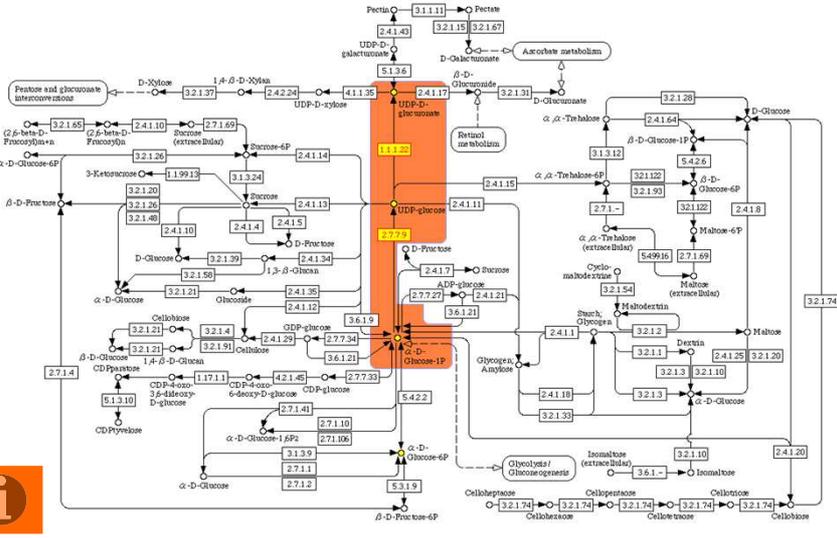
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 4 -

4

# Formazione di UDPGA



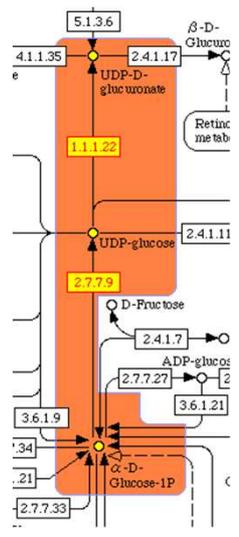
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 5 -

5

# Formazione di UDPGA



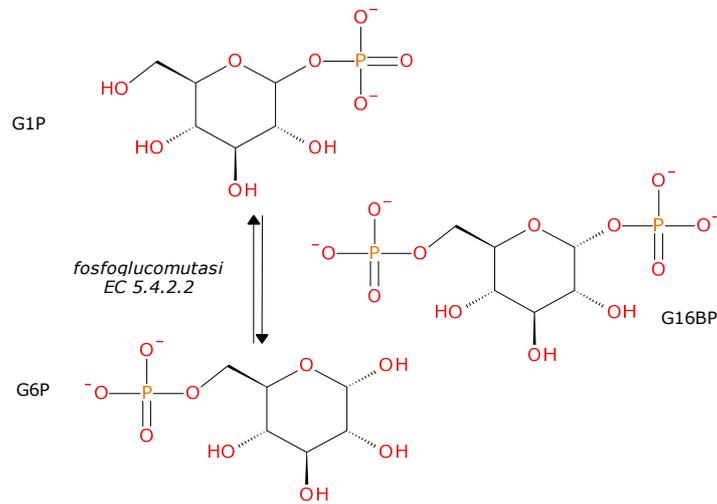
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 6 -

6

## Glucosio-1-fosfato



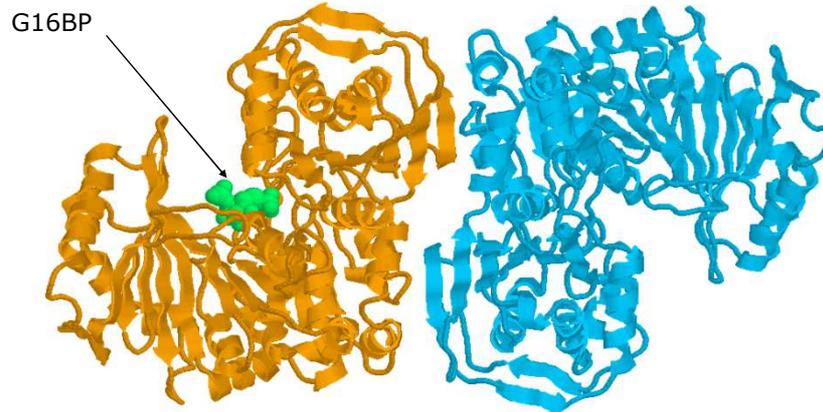
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 7 -

7

## Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2 (1C47)



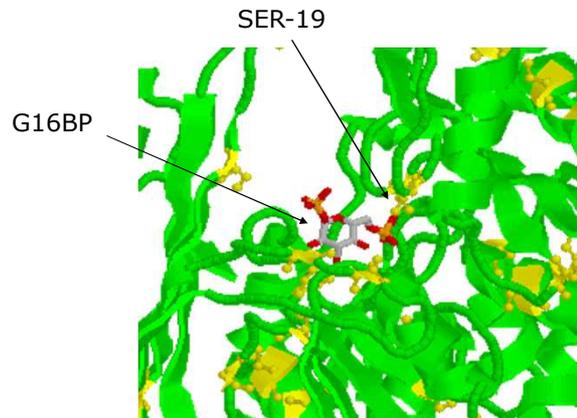
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 8 -

8

## Fosfoglucomutasi EC 5.4.2.2 (1C47)



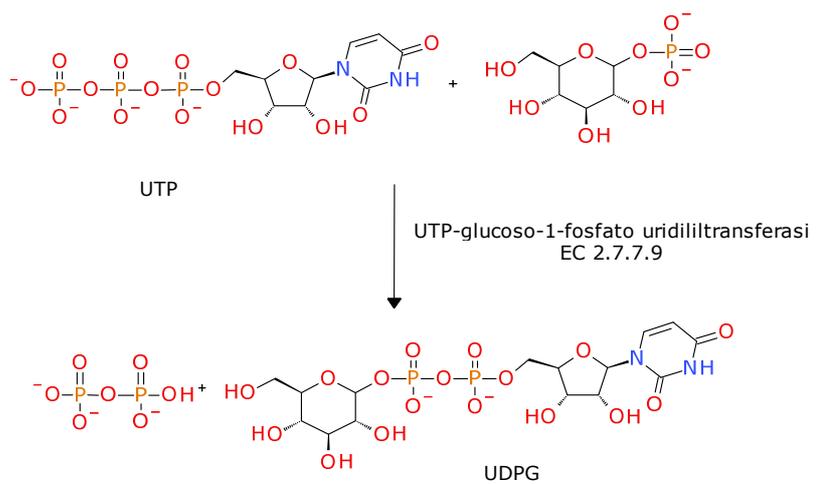
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 9 -

9

## Formazione di UDPG



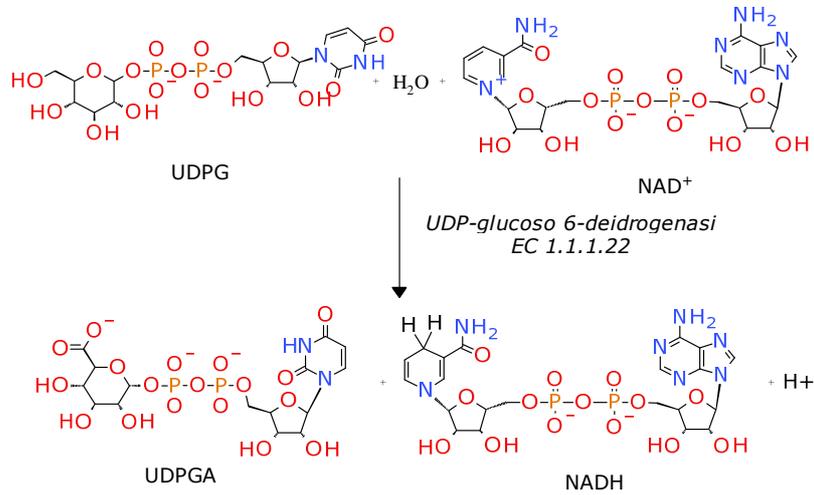
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 10 -

10

## Formazione di UDPGA



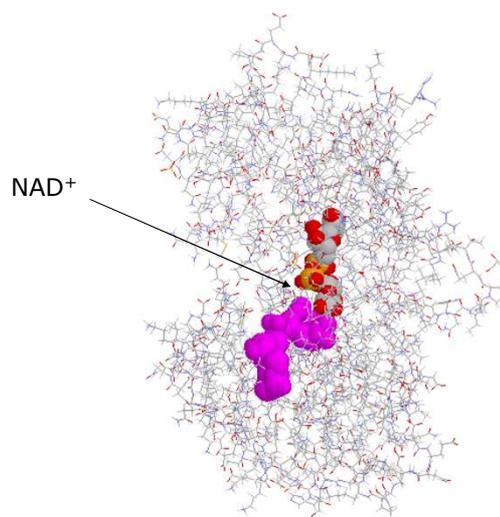
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 11 -

11

## UDP-glucoso-6-deidrogenasi



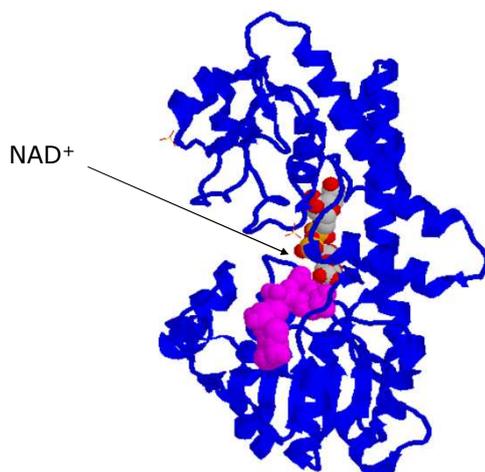
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 12 -

12

## UDP-glucoso-6-deidrogenasi



gs © 2001-2019 ver 3.9

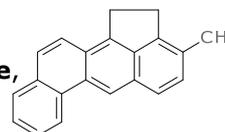
Enzimi di Fase II

- 13 -

13

## $\beta$ -UDP-glucuroniltransferasi

- L'enzima  $\beta$ -UDP-glucuroniltransferasi forma *O*-, *N*-, *S*-, *C*- glucuronati;
  - Sei forme nel fegato umano
  - Il cofattore è UDP-glucuronato
  - Induttori: fenobarbital, indoli, **3-metilcolantrene**, (fumo di sigarette).
  - Substrati: destrofano, metadone, morfina, *p*-nitrofenolo, acido valproico, **ormoni steroidei**, **bilirubina**.



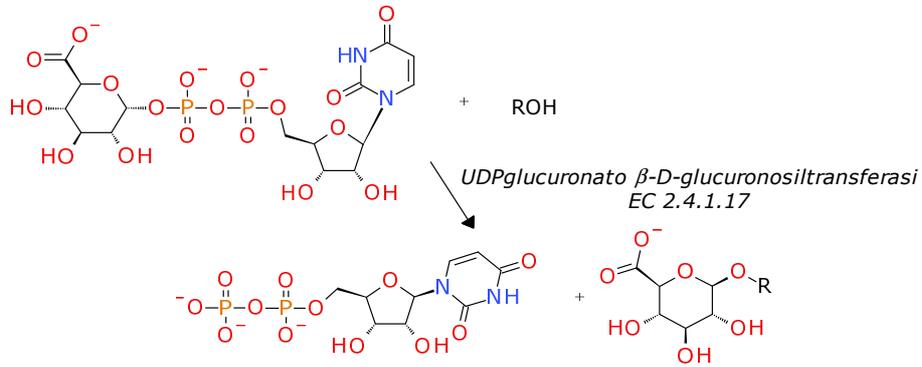
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 14 -

14

## Coniugazione con acido glucuronico



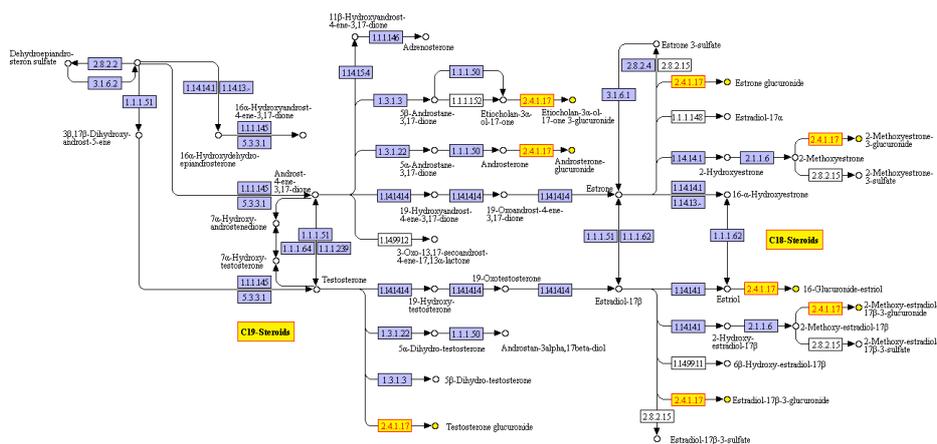
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 15 -

15

## Metabolismo degli androgeni ed estrogeni



[http://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?ko00140+K00699](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?ko00140+K00699)

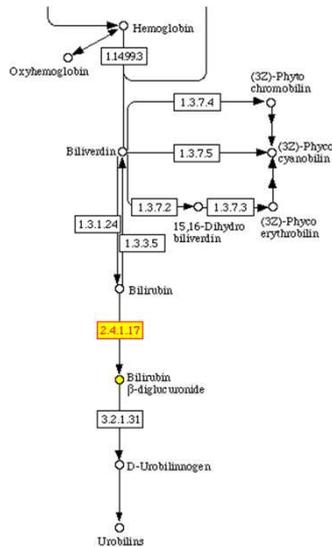
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 16 -

16

## Metabolismo delle porfirine



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 17 -

17

## Patologie e polimorfismo genetico

- Sindrome di Crigler-Nijar (grave): enzima inattivato; grave iperbilirubinemia; gli induttori non hanno effetto.
- Sindrome di Gilbert (lieve): ridotta attività enzimatica; lieve iperbilirubinemia; il fenobarbital porta la glucuronazione della bilirubina alla normalità
- I pazienti possono glucuronidare *p*-nitrofenolo, morfina, cloroamfenicolo.

gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 18 -

18

## Glucuronazione e glucuronidasi

- I coniugati vengono escreti con la bile o con le urine.
- La glucuronidasi della microflora intestinale taglia il legame con l'acido glucuronico.
- La parte agliconica può essere riassorbita ed andare incontro ad un riciclo enteroepatico.

## Glucuronazione e glucuronidasi

- Attivazione metabolica di 2,6-dinitrotoluene da parte della glucuronidasi.
  - La glucuronidasi rimuove l'acido glucuronico da *N*-glucuronide;
  - Il nitro gruppo viene ridotto da *N*-reduttasi microbiche;
  - Il risultante metabolita epatocarcinogeno è riassorbito.

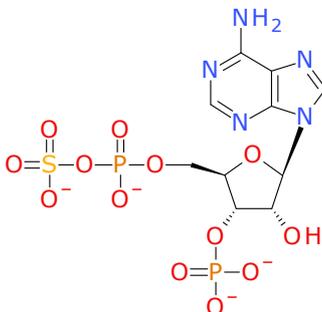
## Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
  - Acido glucuronico
  - Solfato
  - Glutazione
  - Acetile
  - Aminoacidi
- Metilazione
- Metallotioneine

21

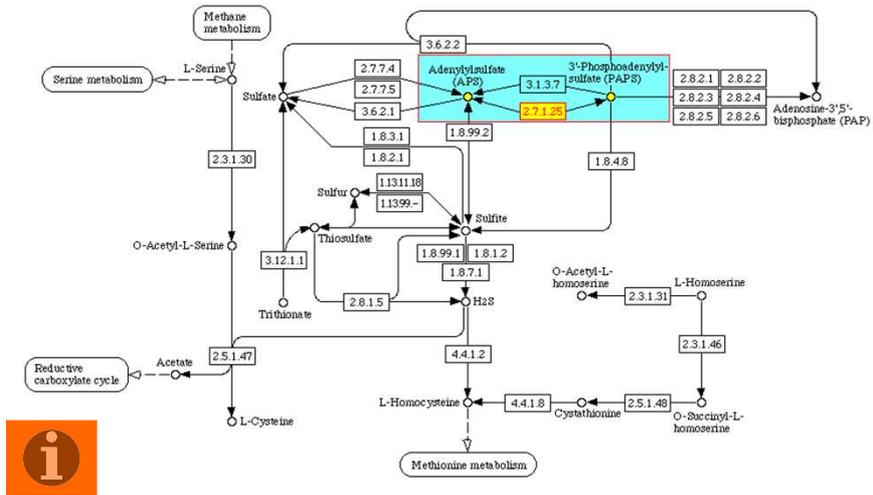
## Coniugazione con il gruppo solfato

- Coniugazione di:
  - xenobiotici con un OH libero con solfato da fosfoadeninafosfosolfonato (PAPS)



22

## Formazione di PAPS



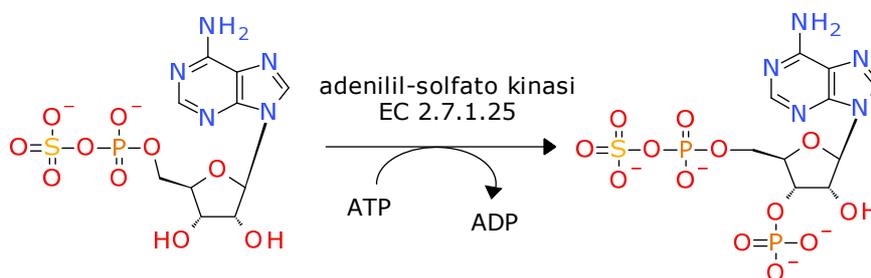
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 23 -

23

## Formazione di PAPS



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 24 -

24

## Formazione di solfati

- Le solfotransferasi sono enzimi ubiquitari
- Cofattore è 3'-fosfoadenosina-5'-fosfosolfato (PAPS)
- Produce esteri solfati altamente idrosolubili
- Eliminati con urine e bile
- Xenobiotici e composti endogeni sono solfonati (fenoli, catecoli, amine, idrossilamine)

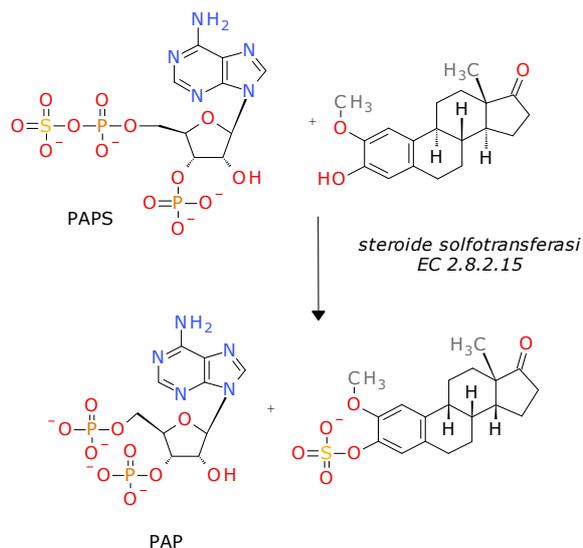
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 25 -

25

## Meccanismo della formazione di solfati



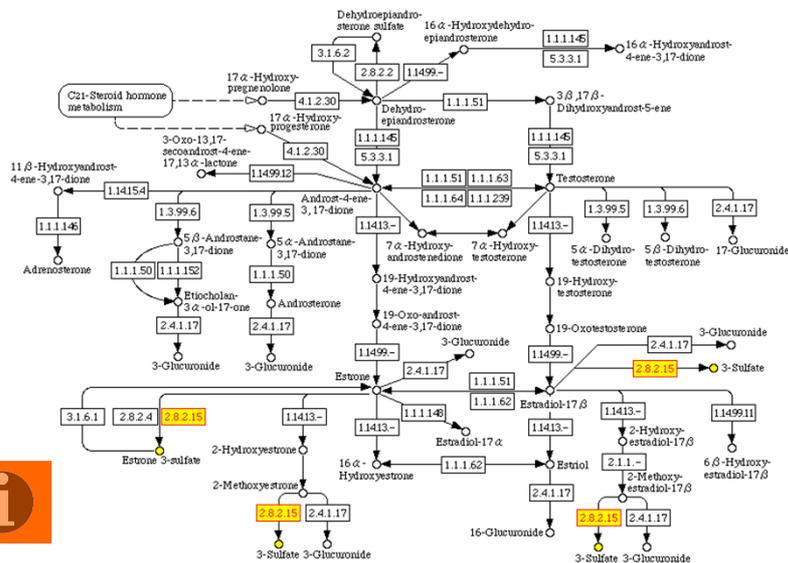
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 26 -

26

## Metabolismo degli androgeni ed estrogeni



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 27 -

27

## Formazione di solfati

- La formazione di solfati è una via metabolica ad alta affinità e bassa capacità.
  - La glucuronazione ha bassa affinità ed alta capacità.
  - La capacità è limitata dai bassi livelli di PAPS.
  - A bassi dosaggi prevale la formazione di solfati.
  - Ad alti dosaggi prevale la glucuronazione.

gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 28 -

28

## Formazione di solfati

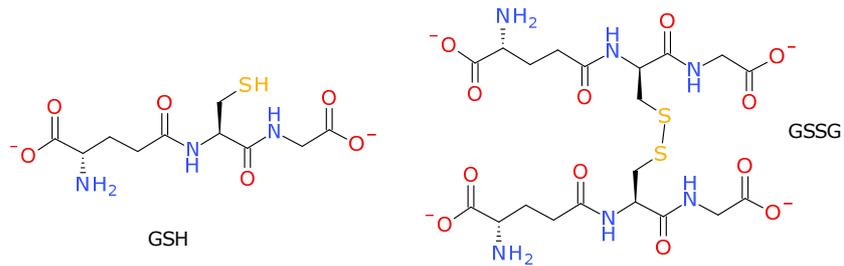
- Esistono quattro solfotransferasi nel citosol degli epatociti umani
- Le arilsolfatasi nella flora intestinale rimuovono il solfato promuovendo il riciclo enteroepatico
- Possono attivare xenobiotici a carcinogenici se il composto coniugato è chimicamente instabile
  - I solfonati delle idrossilammine sono instabili.

## Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
  - Acido glucuronico
  - Solfato
  - Glutazione
  - Acetile
  - Aminoacidi
- Metilazione
- Metallotioneine

## Coniugazione con glutatione

- Coniugazione di xenobiotici (numerosissimi substrati) con una regione elettrofila (eossido) con glutatione ridotto (GSH)
  - glutatione-S-transferasi



gs © 2001-2019 ver 3.9

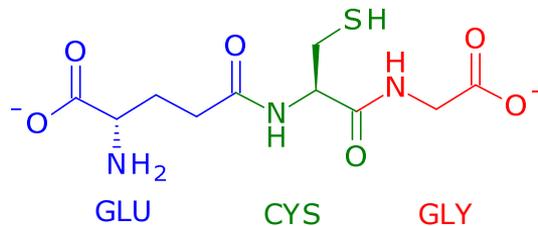
Enzimi di Fase II

- 31 -

31

## GSH

- Il glutatione è un tripeptide formato da glicina, cisteina, acido glutamico
  - Formato da  $\gamma$ -glutamilcisteina sintetasi (EC 6.3.2.3)



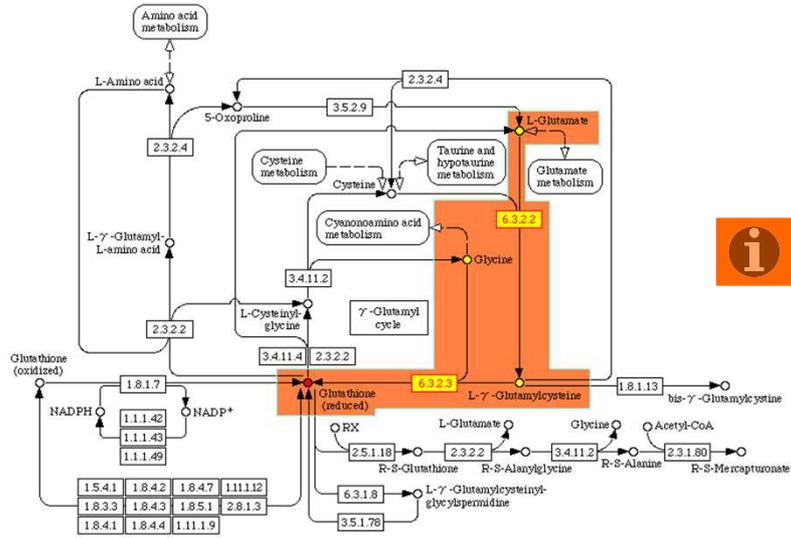
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 32 -

32

# Sintesi del GSH



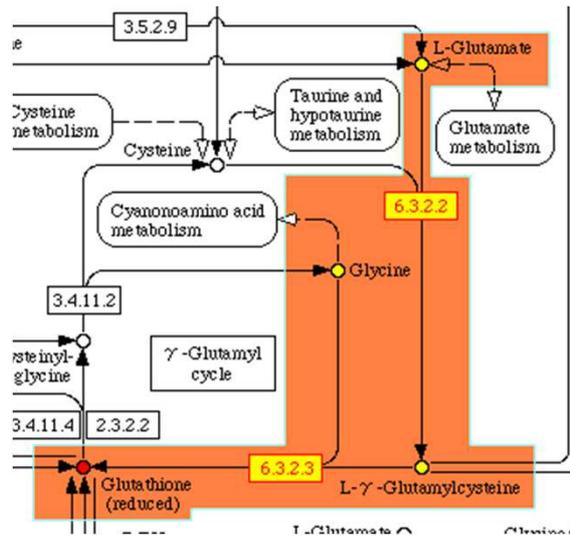
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 33 -

33

# Sintesi del GSH



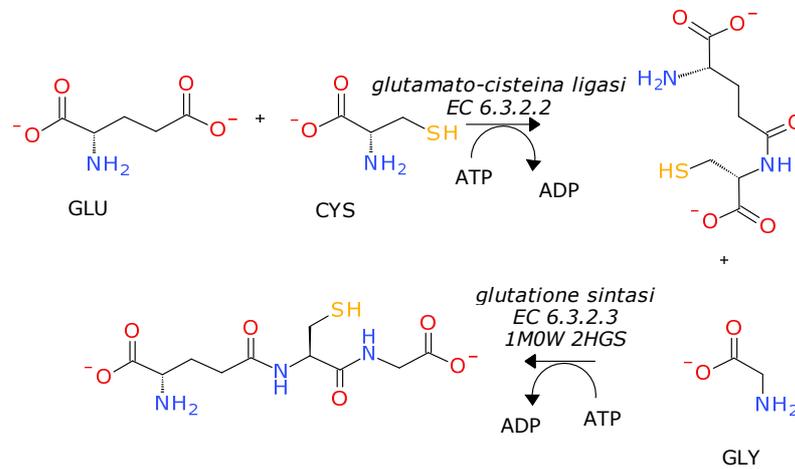
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 34 -

34

## Sintesi del GSH



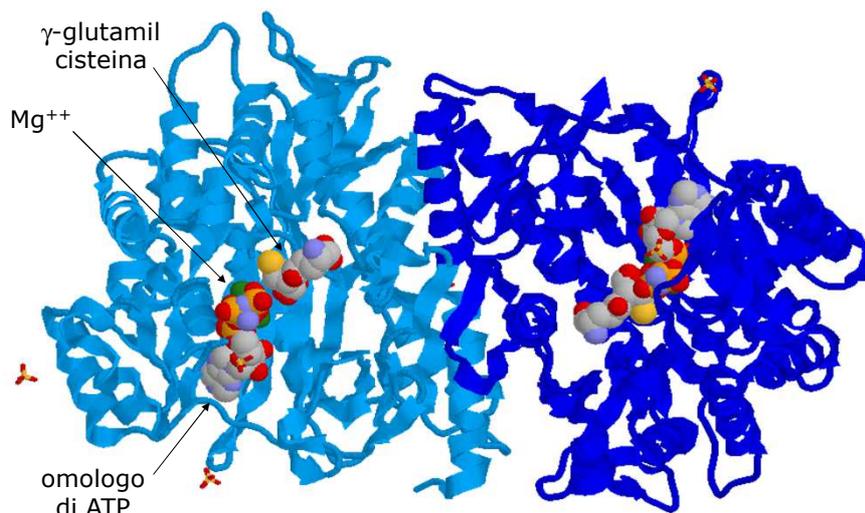
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 35 -

35

## Glutatione sintasi (1M0W)



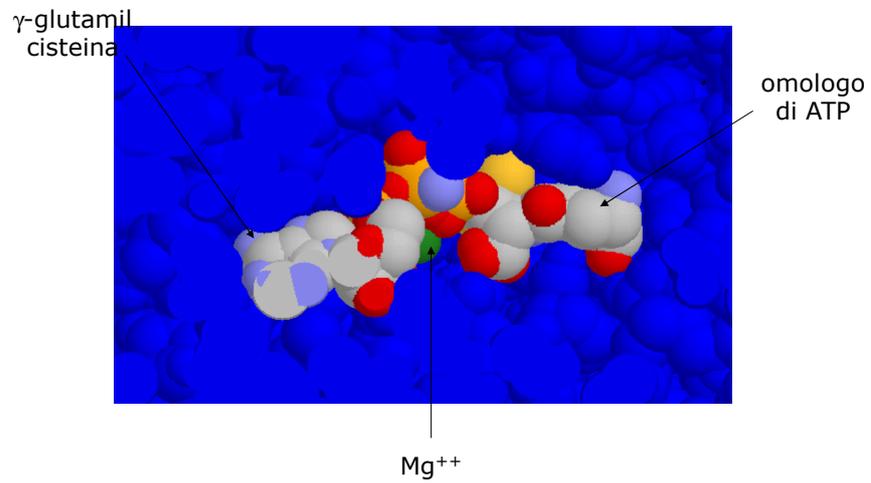
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 36 -

36

## Glutazione sintasi (1M0W)



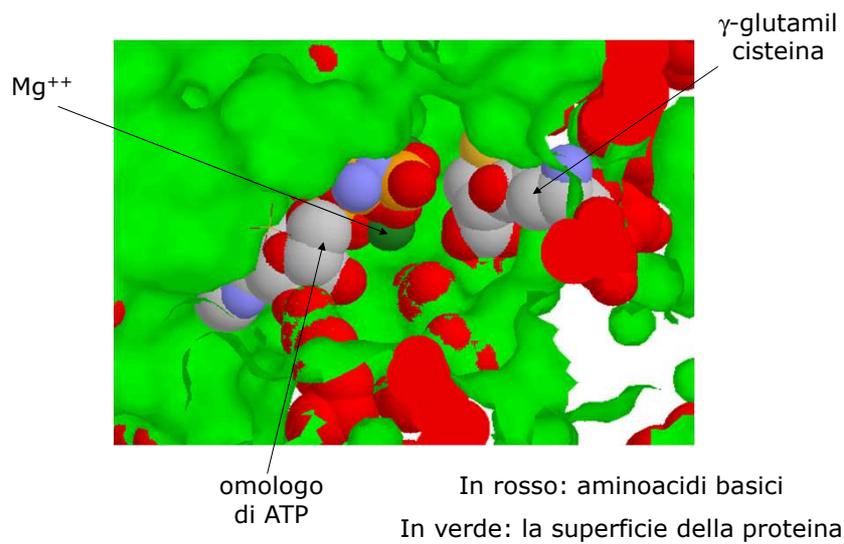
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 37 -

37

## Glutazione sintasi (1M0W)



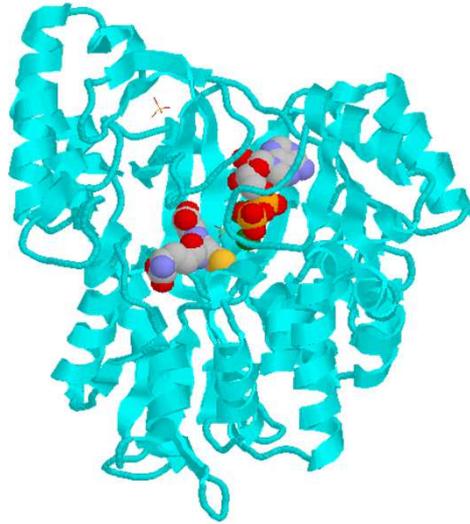
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 38 -

38

## Glutatione sintasi (2HGS)



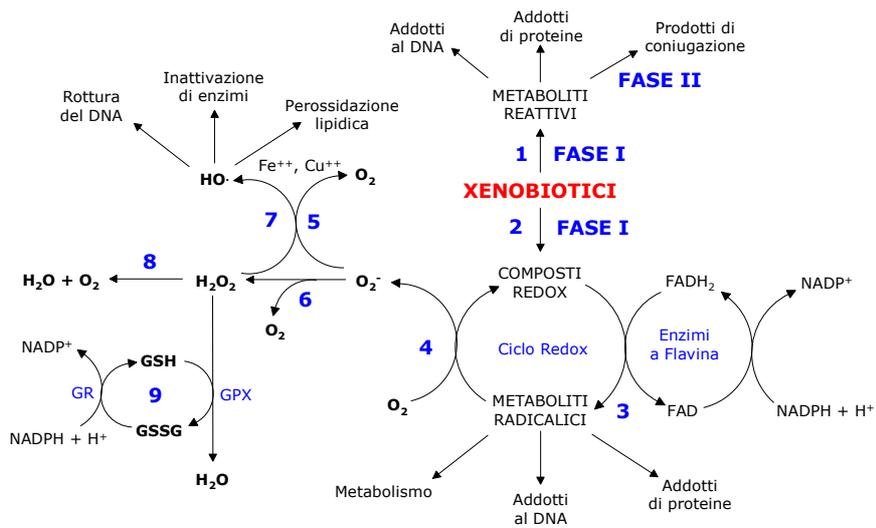
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 39 -

39

## Vie metaboliche e radicali dell'ossigeno



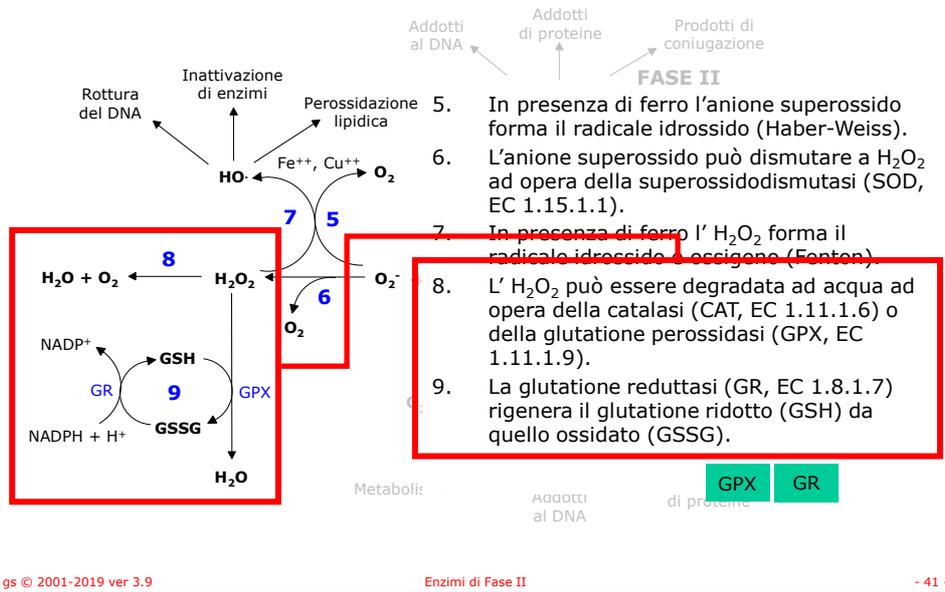
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 40 -

40

## Vie metaboliche e radicali dell'ossigeno



41

## Coniugazione con GSH

- O-demetilazione di organofosfati
- Attivazione della trinitroglicerina
  - I prodotti sono glutatione ossidato (GSSG), dinitroglicerina, NO (vasodilatatore)
- Riduzione di idroperossidi
  - Metabolismo delle prostaglandine

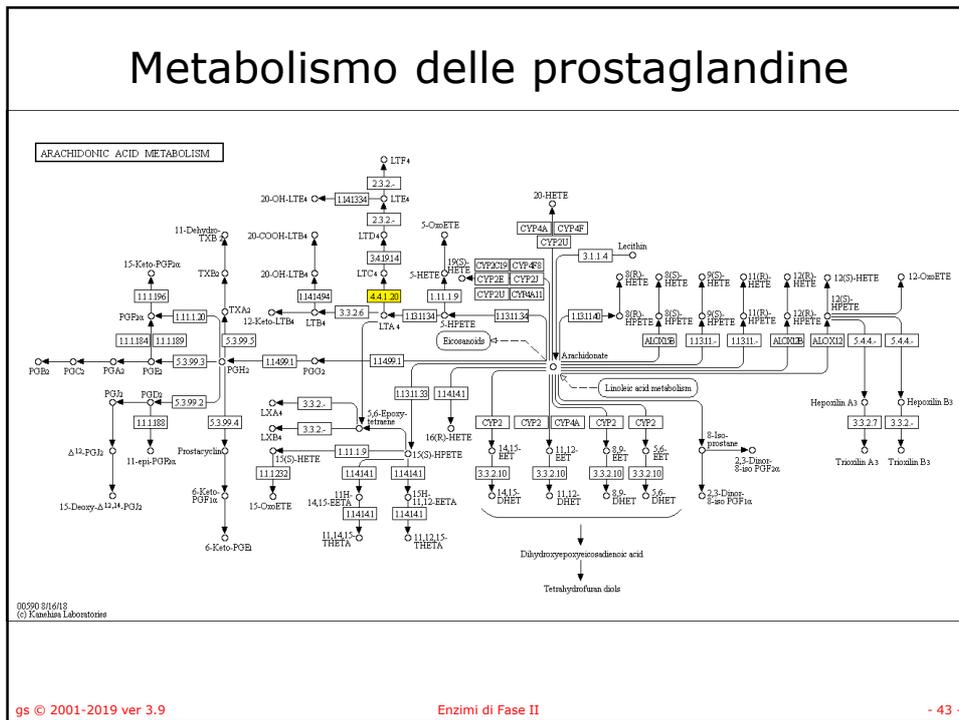
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 42 -

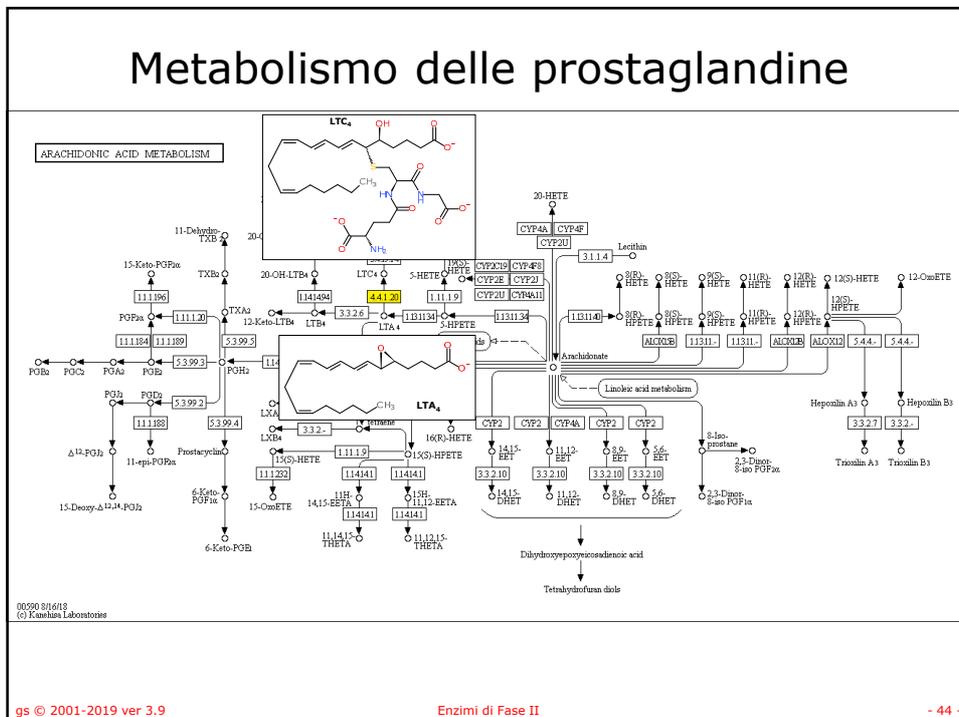
42

# Metabolismo delle prostaglandine



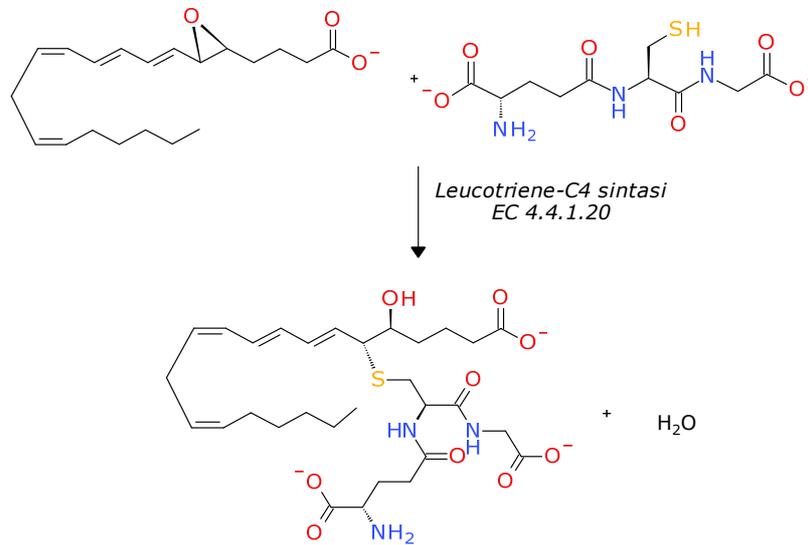
43

# Metabolismo delle prostaglandine



44

## Metabolismo delle prostaglandine



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 45 -

45

## Coniugazione con il GSH

- Due tipi di reazione con il GSH
  - Spiazzamento di alogeni, solfati, solfonati, fosfati, nitrogruppi
  - Il glutathione viene addizionato a doppi legami attivati (epossidi) come nella sintesi delle prostaglandine.
- Substrati:
  - Idrofobici che contengono un elettrofilo
  - Possono reagire non enzimaticamente

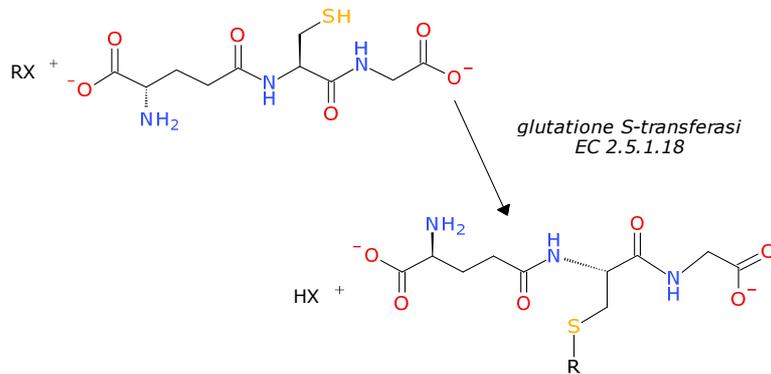
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 46 -

46

## Coniugazione



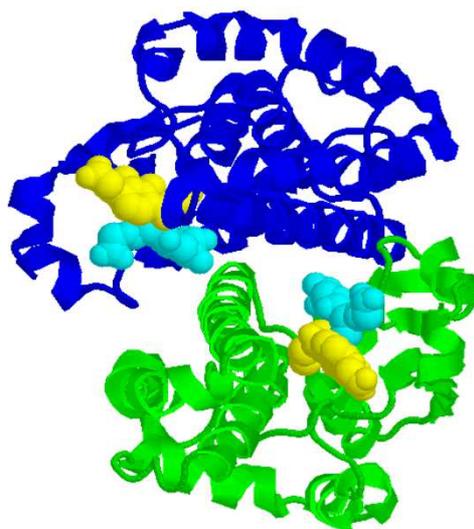
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 47 -

47

## Glutathione S-transferasi – EC 2.5.1.18



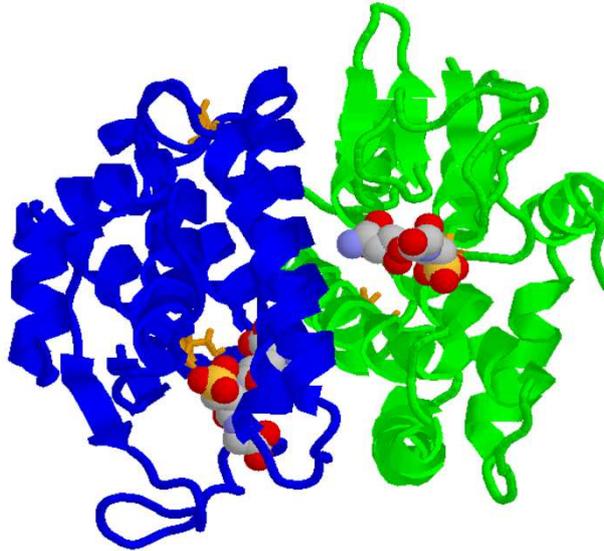
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 48 -

48

## Glutazione S-transferasi EC 2.5.1.18 (1A0F)



gs © 2001-2019 ver 3.9

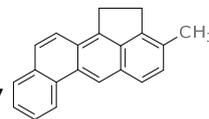
Enzimi di Fase II

- 49 -

49

## Glutazione S-transferasi

- Glutazione-S-transferasi microsomiale e citosolica
- Almeno quattro classi di glutazione-S-transferasi ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ), diversi isoenzimi inducibili.
  - Induttori (**3-metilcolantrene**, fenobarbital, corticosteroidi, anti-ossidanti)
  - La sovraespressione porta a resistenza (insetti DDT resistenti, piante resistenti all'atrazina, cellule tumorali resistenti alla chemioterapia)



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 50 -

50

## Eliminazione dei composti coniugati con il GSH

- Escrezione dei glutatione-coniugati:
  - Intatti nella bile
  - Convertiti in acido mercapturico nei reni ed escreti nelle urine
    - $\gamma$ -glutamilttransferasi, aminopeptidasi M

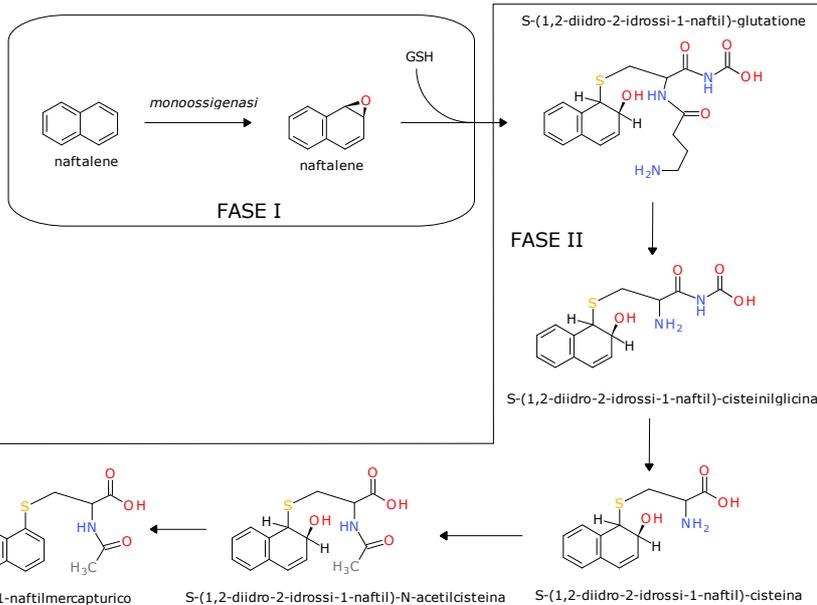
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 51 -

51

## Metabolismo del naftalene



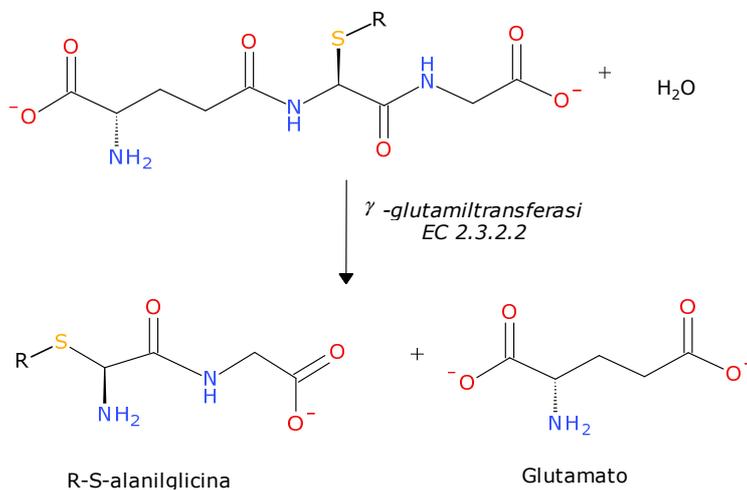
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 52 -

52

## $\gamma$ -glutamyltransferasi



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 53 -

53

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
  - Acido glucuronico
  - Solfato
  - Glutazione
  - Acetile
  - Aminoacidi
- Metilazione
- Metallotioneine

gs © 2001-2019 ver 3.9

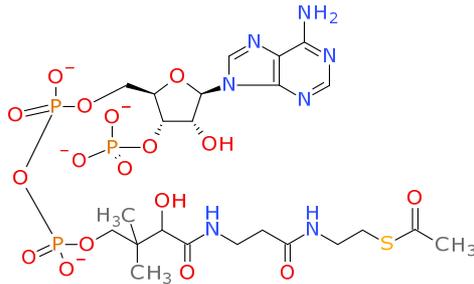
Enzimi di Fase II

- 54 -

54

## Coniugazione con il gruppo acetile

- Coniugazione di:
  - xenobiotici con un OH libero con gruppo acetile da acetil-CoA



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 55 -

55

## Acetilazione

- Maggiore via di biotrasformazione di amine aromatiche e idrazine
- Diminuisce la solubilità
- *N*-acetiltransferasi (NAT)
  - Il cofattore è acetil-CoA

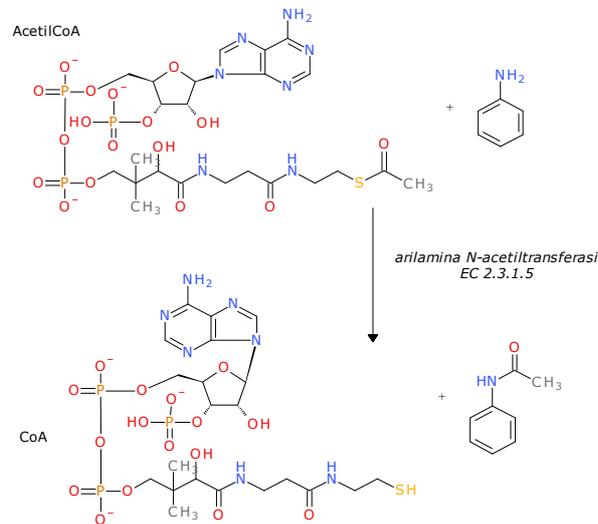
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 56 -

56

## Meccanismo della acetilazione



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 57 -

57

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
  - Acido glucuronico
  - Glutazione
  - Solfato
  - Acetile
  - Aminoacidi
- Metilazione
- Metallotioneine

gs © 2001-2019 ver 3.9

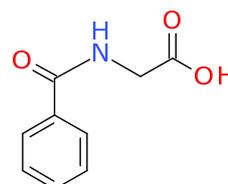
Enzimi di Fase II

- 58 -

58

## Coniugazione con aminoacidi

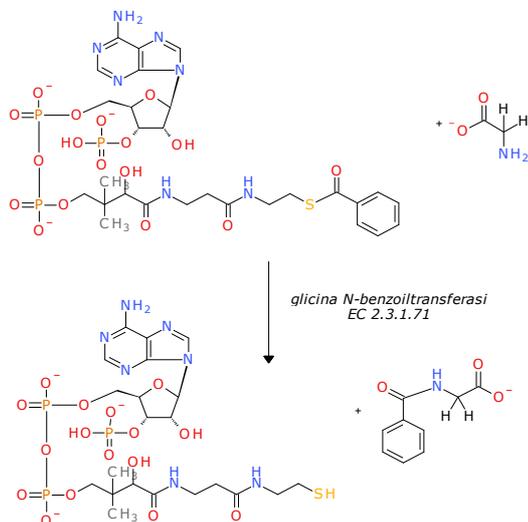
- Alternativa alla glucuronazione
- Due vie principali
  - Gruppo -COOH del substrato coniugato con -NH<sub>2</sub> di glicina, serina, glutamina, richiede attivazione con CoA
    - Coniugazione dell'acido benzoico con glicina per dare l'acido ippurico
  - Gruppi -NH<sub>2</sub> o -NHOH aromatici coniugati con gruppi COOH di serina, prolina, richiedono attivazione con ATP



## Coniugazione con aminoacidi

- Specie specificità nell'aminoacido accettore
  - mammiferi: glicina
  - uccelli: ornitina
  - cani e gatti: taurina
  - primati non umani: glutamina
- Attivazione metabolica
  - Gli N-esteri di serina o prolina delle idrossilamine sono instabili e degradano a specie elettrofile reattive.

## Meccanismo della coniugazione con aminoacidi



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 61 -

61

## Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
  - Acido glucuronico
  - Glutazione
  - Solfato
  - Acetile
  - Aminoacidi
- Metilazione
  - Metallotioneine

gs © 2001-2019 ver 3.9

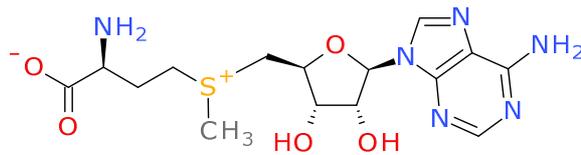
Enzimi di Fase II

- 62 -

62

## Metilazione

- Via metabolica che diminuisce la solubilità
- Metiltransferasi
  - Trasferisce un gruppo  $-CH_3$  a *O, N, S, C*
  - Cofattore: *S*-adenosilmetionina (SAM)



- Substrati sono: fenoli, catecoli, amine, metalli (Hg, As, Se)

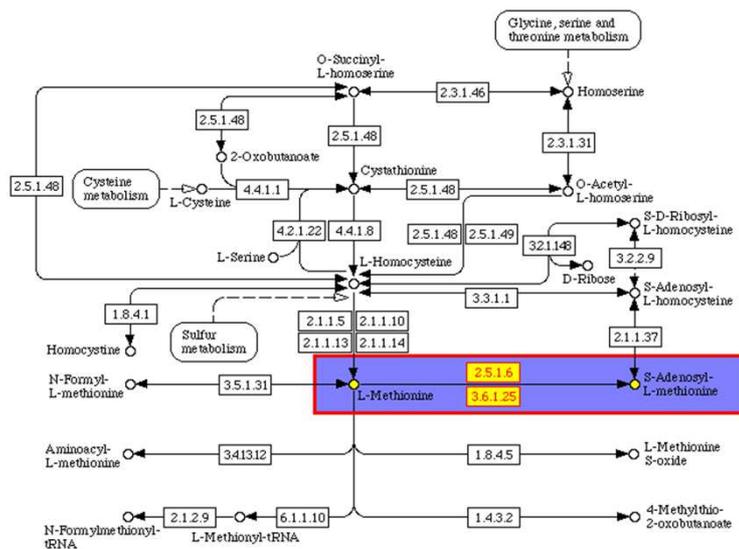
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 63 -

63

## Sintesi di S-adenosilmetionina



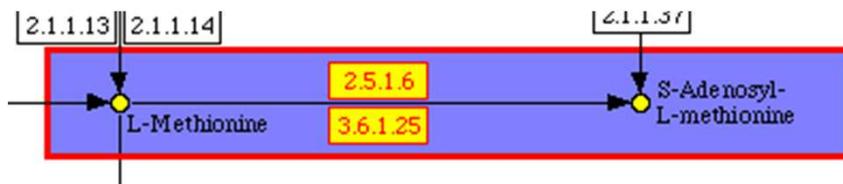
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 64 -

64

## Sintesi di S-adenosilmetionina



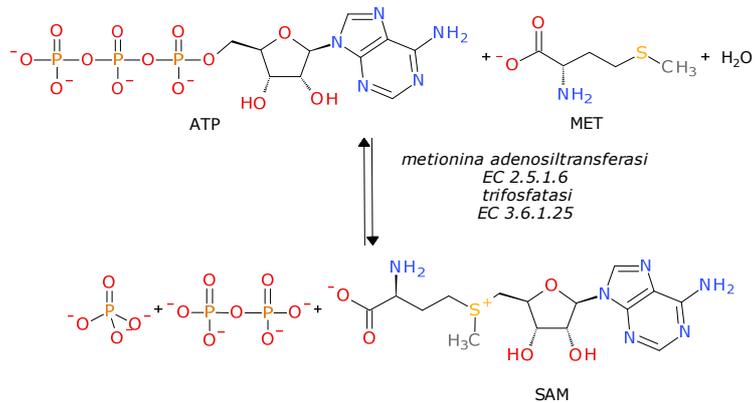
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 65 -

65

## Sintesi S-adenosilmetionina



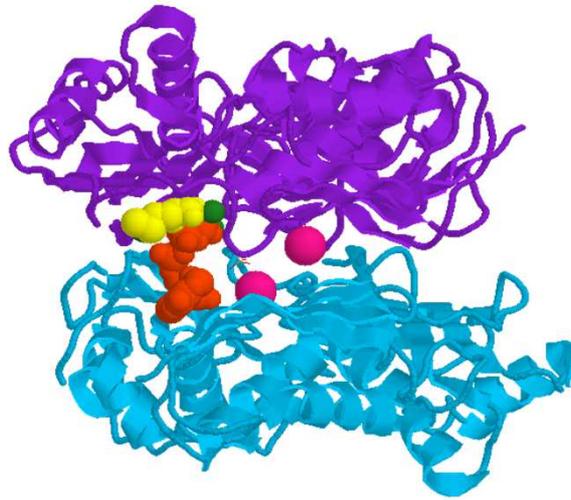
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 66 -

66

## Metionina adenosiltransferasi EC 2.5.1.6 (109T)



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 67 -

67

## Metiltransferasi

- Varie metiltransferasi
  - fenolo *O*-metiltransferasi,
  - catecolo *O*-metiltransferasi,
  - *N*-metiltransferasi,
  - *S*-metiltransferasi

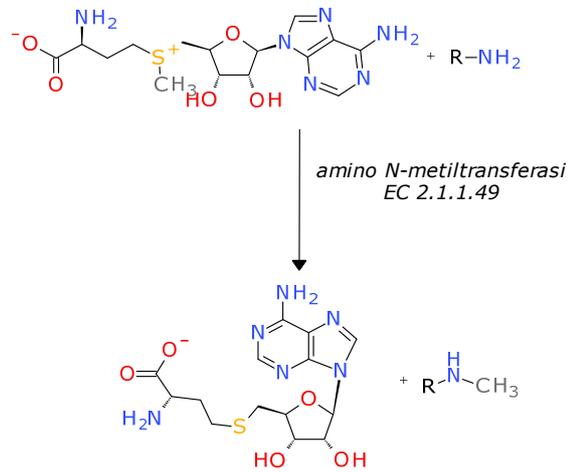
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 68 -

68

## Meccanismo della metilazione



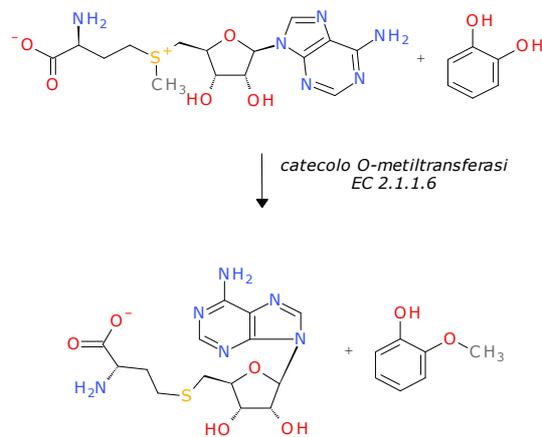
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 69 -

69

## Meccanismo della metilazione



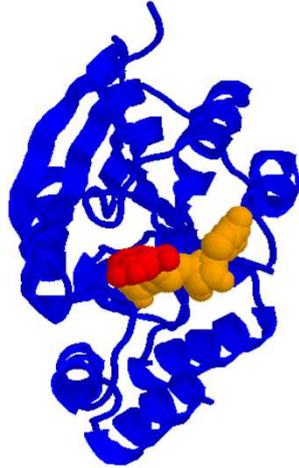
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 70 -

70

Catecolo *O*-metiltransferasi  
EC 2.2.1.6 (*1VID*)



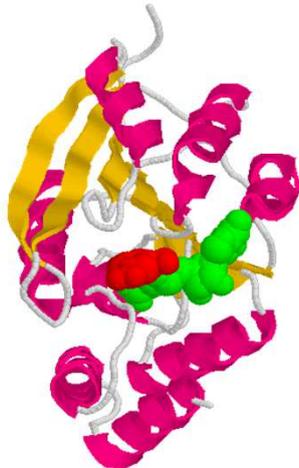
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 71 -

71

Catecolo *O*-metiltransferasi  
EC 2.2.1.6 (*1VID*)



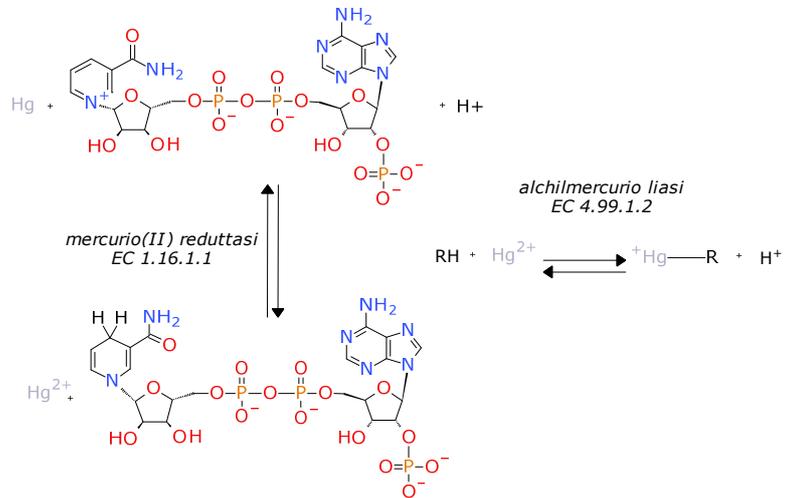
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 72 -

72

## Mercurio



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 73 -

73

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

- Coniugazione con
  - Acido glucuronico
  - Solfato
  - Glutazione
  - Acetile
  - Aminoacidi
- Metilazione
  - **Metallotioneine**

gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 74 -

74

## Metallotioneine

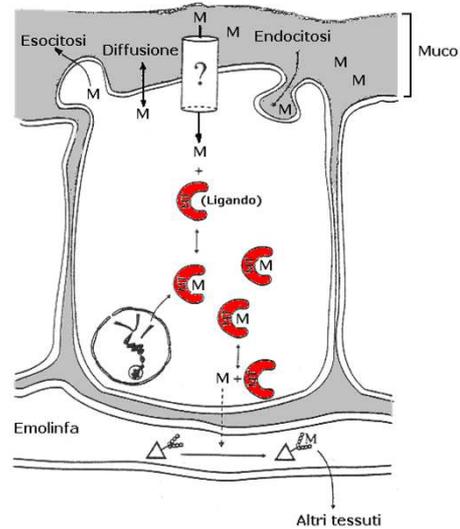
- Le metallotioneine (MT) sono peptidi e proteine ubiquitarie a basso peso molecolare ad alto contenuto in aminoacidi solforati e metalli.
- Si ipotizza che giochino un ruolo:
  - nella fissazione dei metalli in tracce ( $Zn^{++}$ ,  $Cu^{++}$ ),
  - nel controllare la concentrazione di questi ioni,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

## 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.

## Trasporto di metallotioneine

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



gs © 2001-2019 ver 3.9

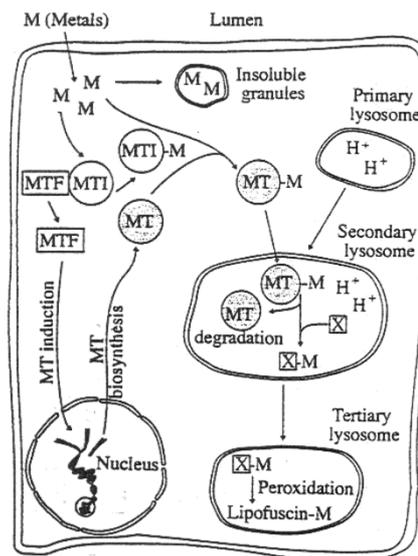
Enzimi di Fase II

- 77 -

77

## 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 © 2001-2019 ver 3.9

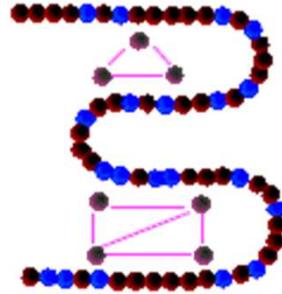
Enzimi di Fase II

- 78 -

78

## 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 © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 79 -

79

## 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 © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 80 -

80

## 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 evolutivo
  - Ogni famiglia è identificata da un numero e dalla specie.
  - *Per esempio:* Famiglia 1: vertebrati.

81

## 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 sequenze 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.

82

## 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 © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 83 -

83

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-[CYF]	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 © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 84 -

84

## 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.

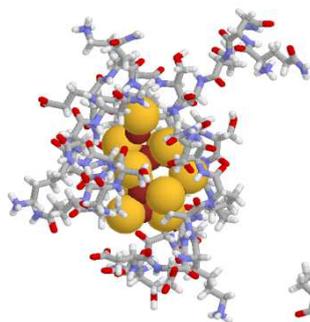
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

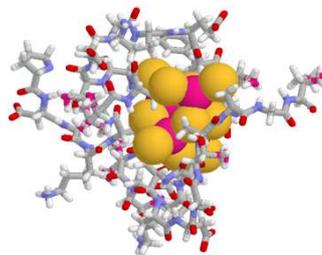
- 85 -

85

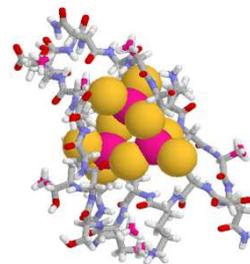
## Metallotioneine



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



Cd-Metallotioneine da  
Ricchio di mare  
Subunità  $\alpha$  (1QJH)



Cd-Metallotioneine da  
Ricchio di mare  
Subunità  $\beta$  (1QJL)

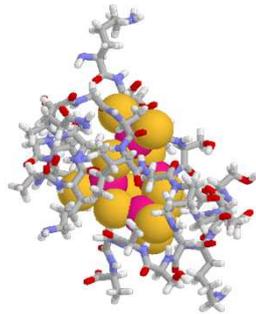
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

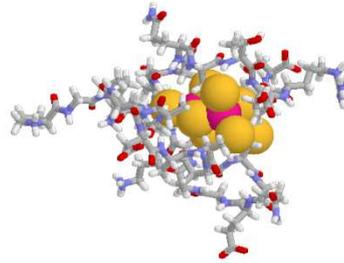
- 86 -

86

## Metallotioneine



Cd-Metallotioneine umana (1MHU)



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



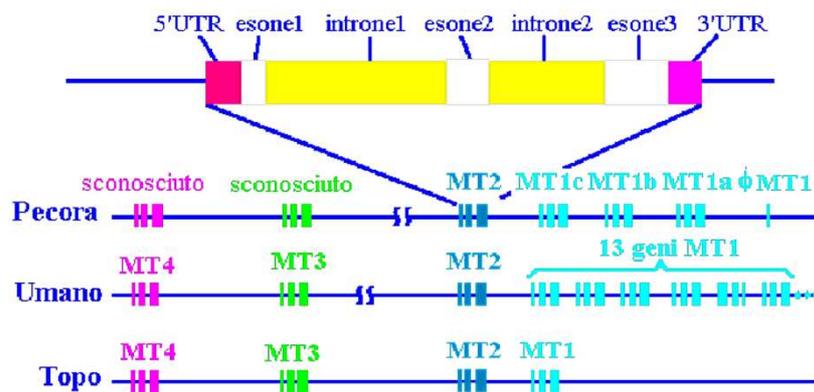
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 87 -

87

## Struttura genica



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 88 -

88

## 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 © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 89 -

89

## 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 © 2001-2019 ver 3.9

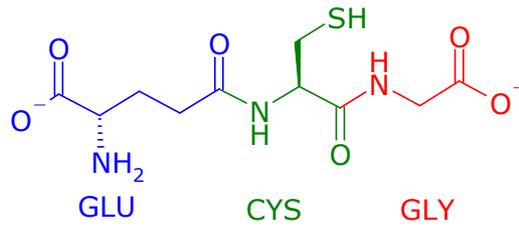
Enzimi di Fase II

- 90 -

90

## GSH

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



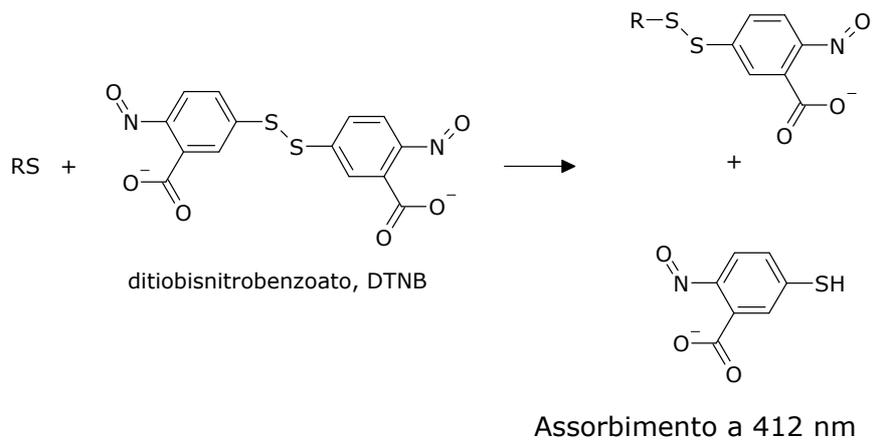
gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 91 -

91

## Reazione di ELLMAN



gs © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 92 -

92

## 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 © 2001-2019 ver 3.9

Enzimi di Fase II

- 93 -

93

## 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.gsartor.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](mailto:giorgio_sartor@unibo.it)  
Personale: [giorgio\\_sartor@gmail.com](mailto:giorgio_sartor@gmail.com)

Aggiornato il 14/05/2020 09:36:30

94