



1

## Metalli nella tavola periodica

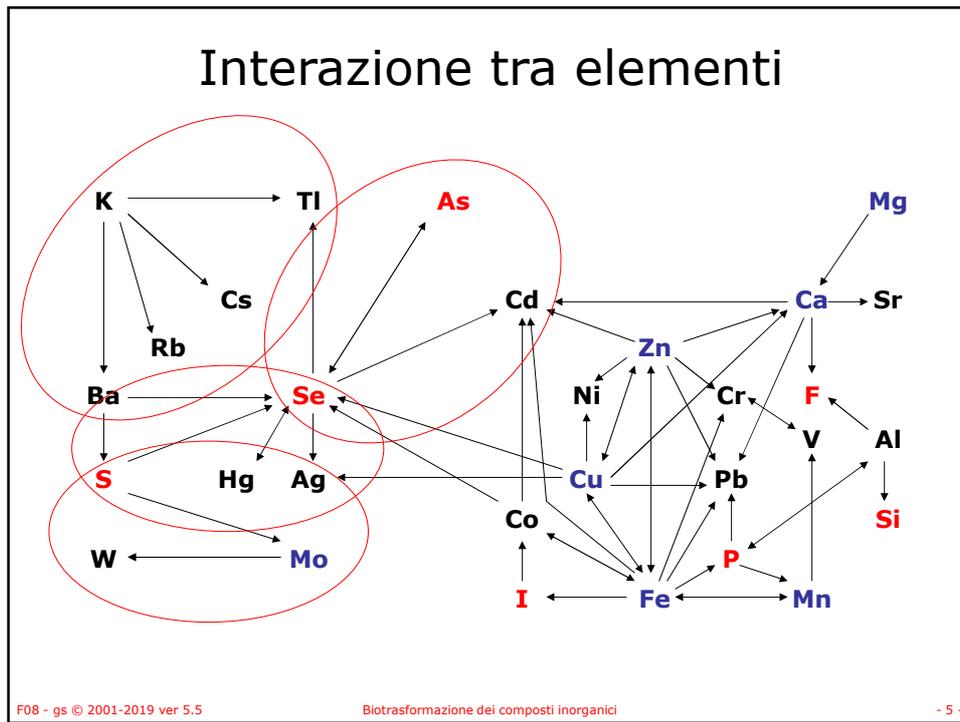
H																	He
Li	Be											B	C	N	O	F	Ne
Na	Mg											Al	Si	P	S	Cl	Ar
K	Ca	Sc	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu	Zn	Ga	Ge	As	Se	Br	Kr
Rb	Sr	Y	Zr	Nb	Mo	Tc	Ru	Rh	Pd	Ag	Cd	In	Sn	Sb	Te	I	Xe
Cs	Ba	La	Hf	Ta	W	Re	Os	Ir	Pt	Au	Hg	Tl	Pb	Bi	Po	At	Rn
Fr	Ra	Ac	Rf	Ha													
		Ce	Pr	Nd	Pm	Sm	Eu	Gd	Tb	Dy	Ho	Er	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

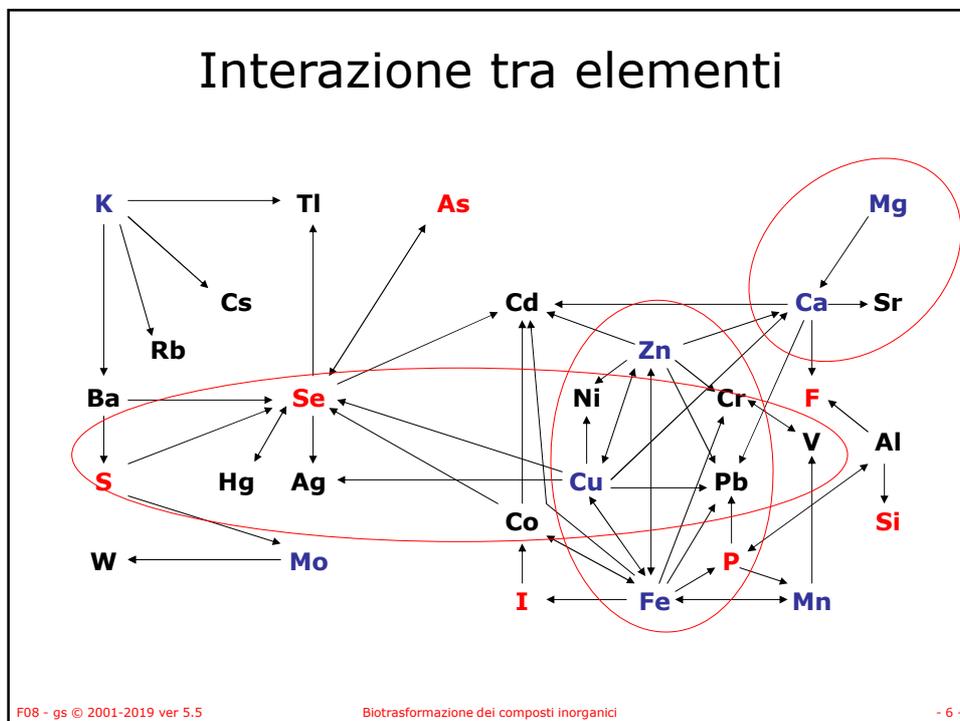
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5      Biotrasformazione dei composti inorganici      - 2 -

2

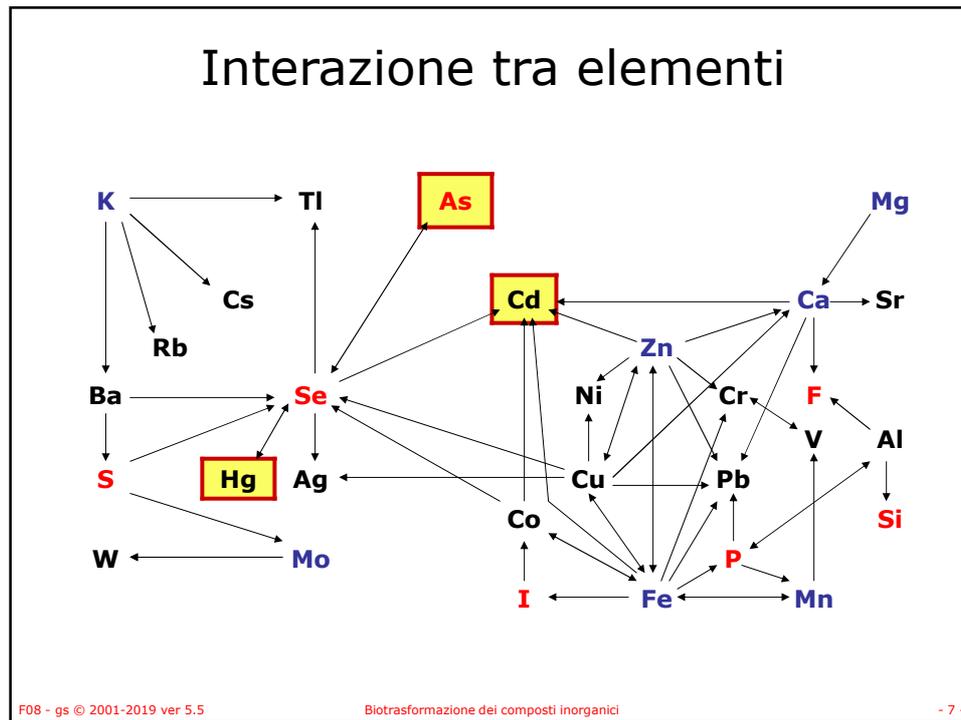




5



6



7

## Assorbimento ed internalizzazione

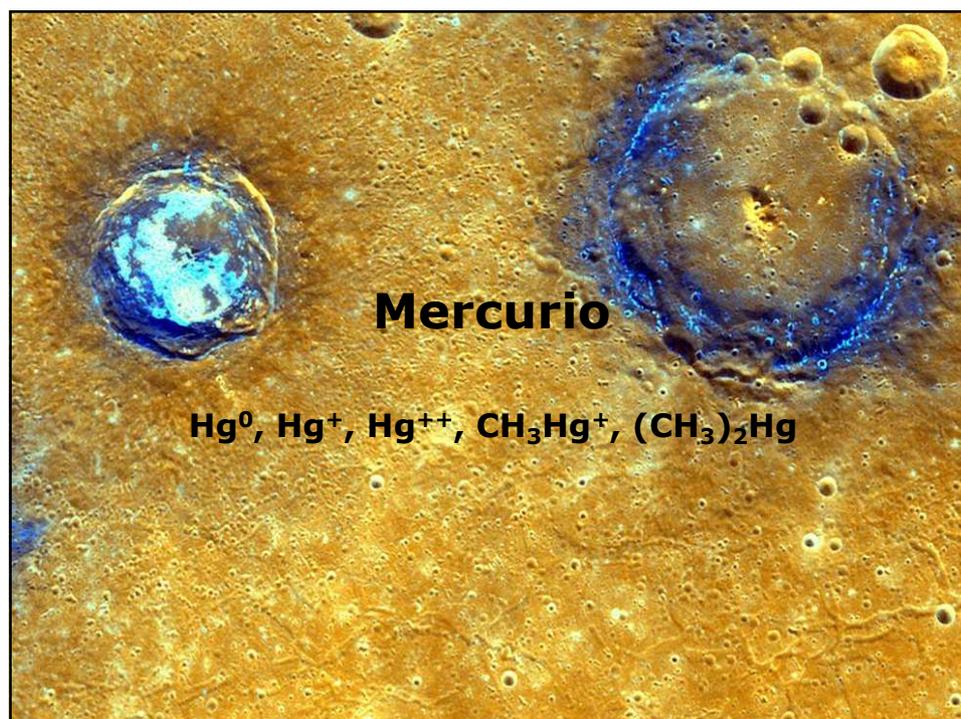
- Solubilità nella fase lipidica dei composti organometallici:  $\text{CH}_3\text{Hg}^+\text{Cl}^-$ ,  $(\text{CH}_3)_2\text{Hg}$ ,  $(\text{C}_2\text{H}_5)_4\text{Pb}$ ,  $[(\text{C}_4\text{H}_9)_3\text{Sn}]_2\text{O}$ .
- Trasporto attraverso sistemi di trasporto di altri metalli ( $\text{Cd}^{++}$  e  $\text{Hg}^{++}$  per  $\text{Ca}^{++}$ ) o specifici.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 8 -

8



9

## Tossicità

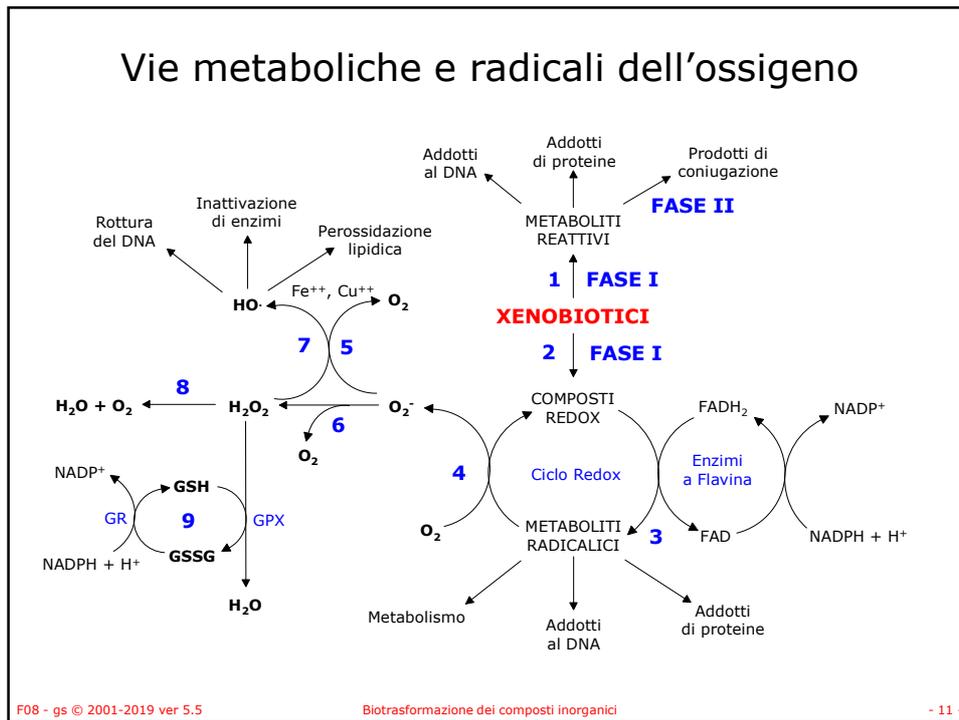
- Il mercurio inibisce in modo estremamente efficiente il funzionamento dei seleno-enzimi attraverso il legame con il selenio:
  - EC 1.97.1.10 Tiroxina 5'-deiodinasi
  - **EC 1.11.1.12 Fosfolipide Glutatione perossidasi**
  - EC 2.7.9.3 Selenofosfato sintetasi 2
  - **EC 1.8.1.9 Tiorredossina reduttasi (IC<sub>50</sub> = 9 nM).**
- I seleno-enzimi sono coinvolti nei meccanismi di prevenzione dei danni da radicali dell'ossigeno in molti tessuti, principalmente cervello e ghiandole endocrine, e sono coinvolti nella rigenerazione di specie antiossidanti (Vitamina C e Vitamina E).

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 10 -

10



11

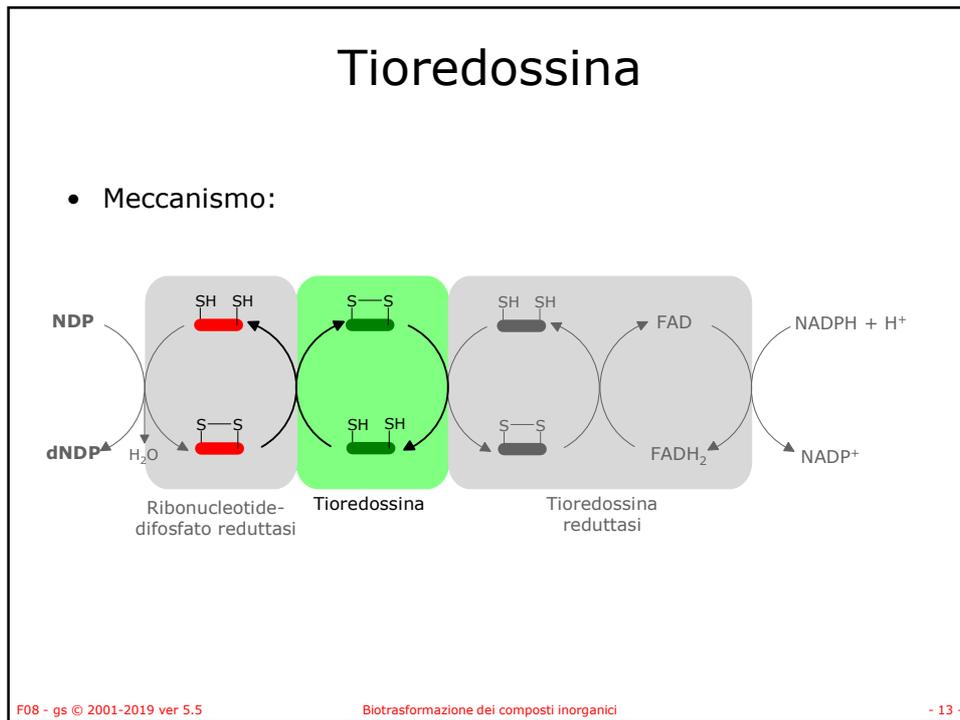
### Fosfolipide glutatione perossidasi

- La fosfolipide glutatione perossidasi (GPx4) è una selenoproteina implicata nella difesa antiossidante, nello sviluppo degli spermatozoi e nell'embriogenesi cerebrale
- Tra le isoforme di GPx, GPx4 è l'unica che ha la capacità di ridurre gli idroperossidi lipidici che tendono a polimerizzare.

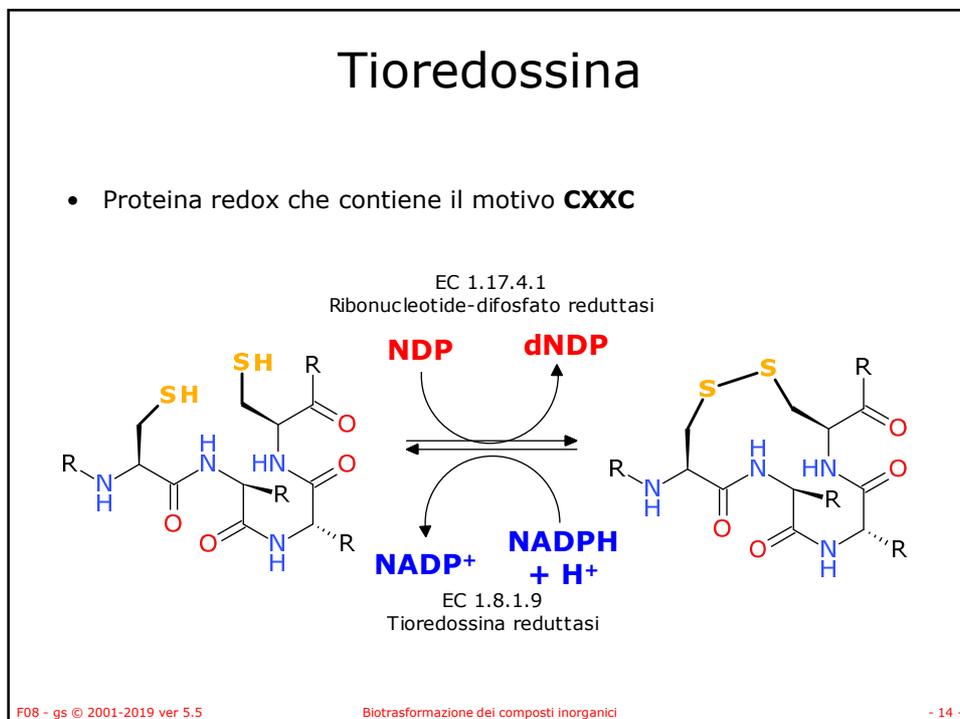
**20BI**

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5 Biotrasformazione dei composti inorganici - 12 -

12



13



14

### Tioredossina reduttasi (EC 1.8.1.9)

- Meccanismo:

Ribonucleotide-difosfato reduttasi
Tioredossina
Tioredossina reduttasi

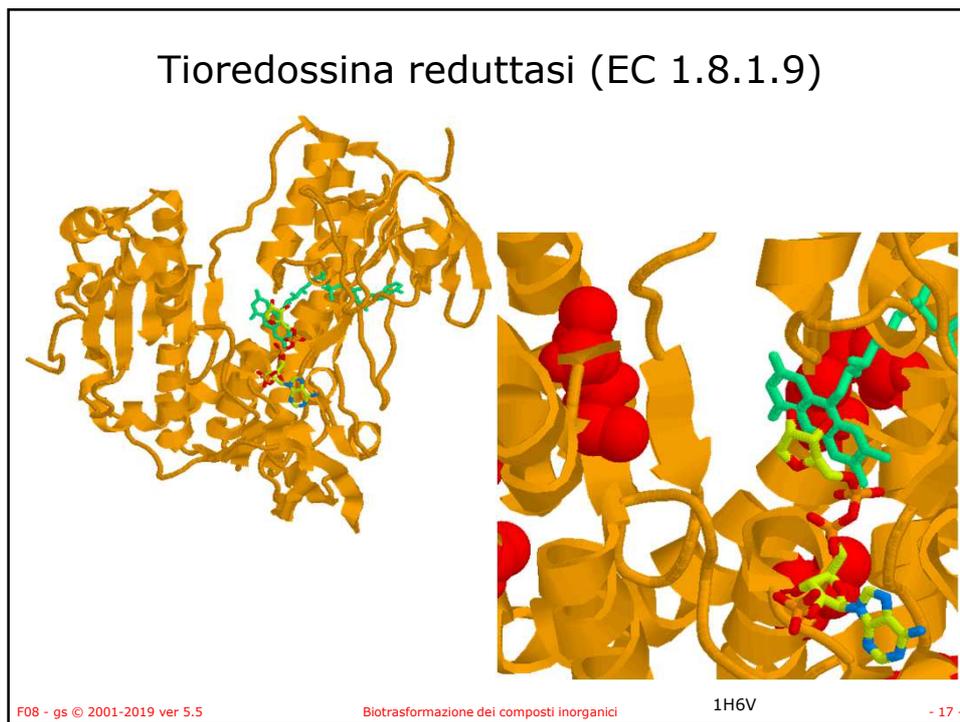
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5
Biotrasformazione dei composti inorganici
- 15 -

15

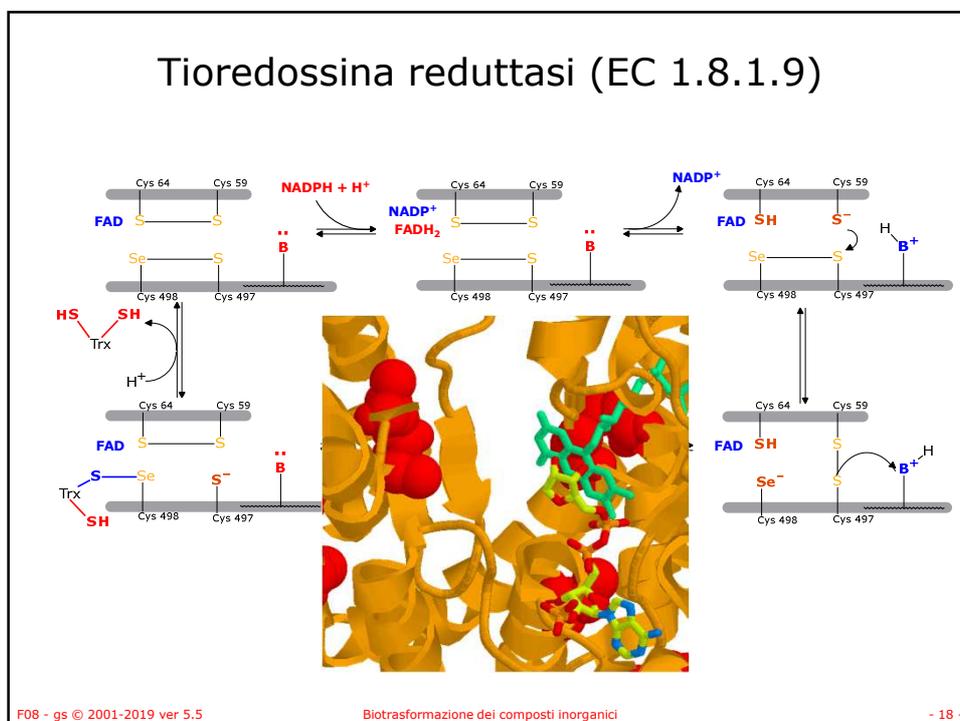
### Tioredossina reduttasi (EC 1.8.1.9)

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5
Biotrasformazione dei composti inorganici
- 16 -

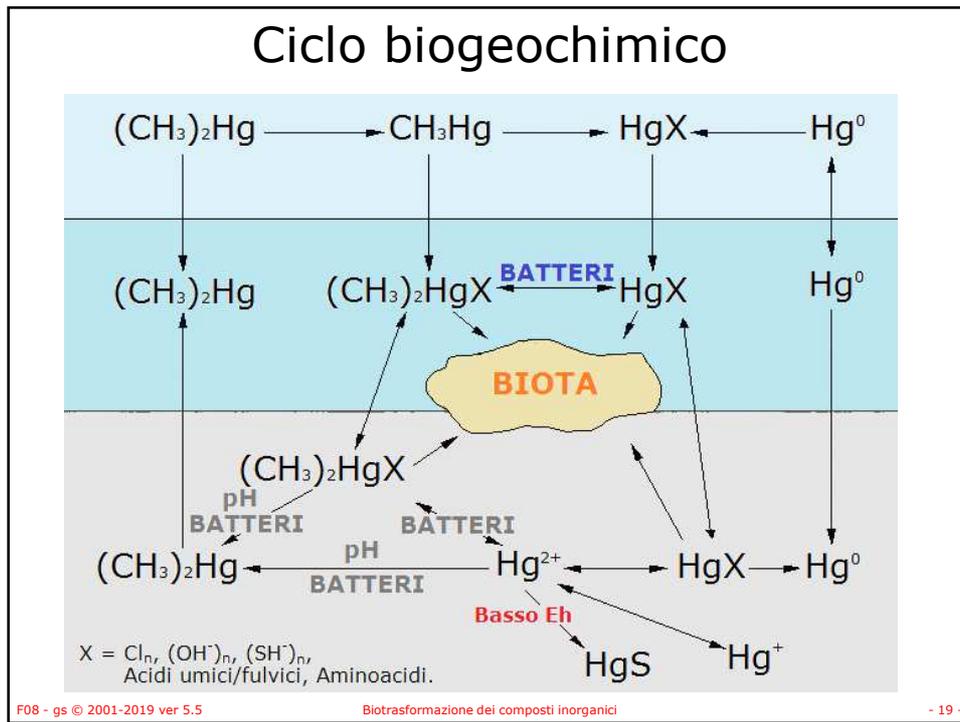
16



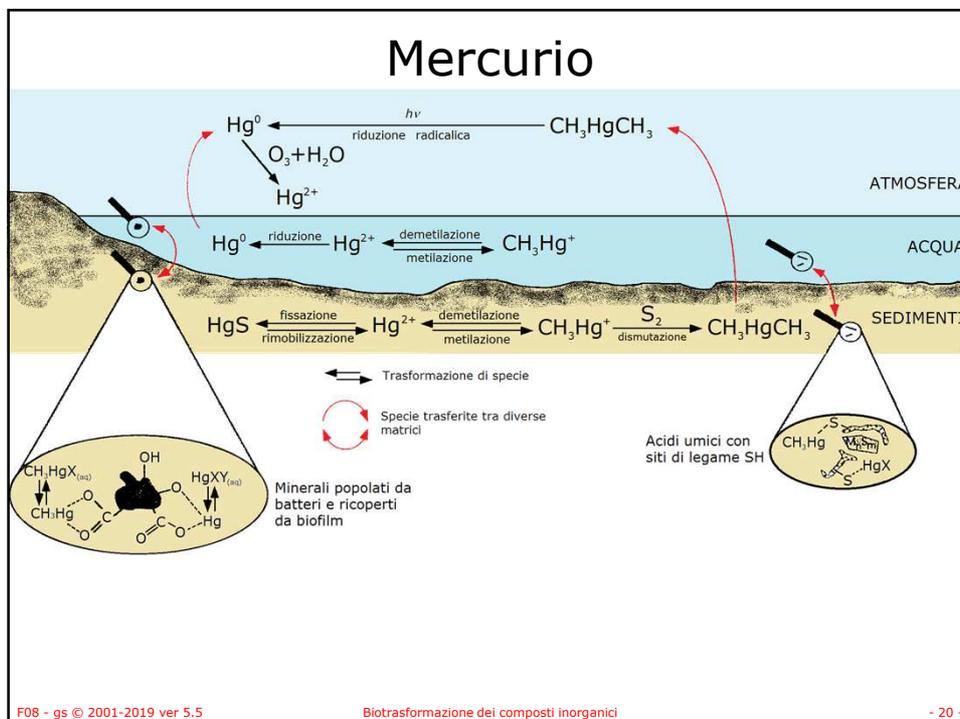
17



18



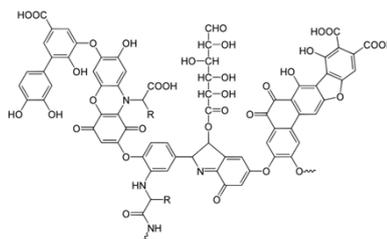
19



20

## Stabilità dei complessi

- Con acidi umici e fulvici  
Mg < Ca < Cd = Mn < Co < Zn = Ni < Cu < Hg



- Scarsa mobilità
- Con lo ione S<sup>2-</sup> aumenta la stabilità e quindi diminuisce la mobilità

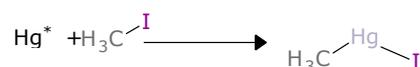
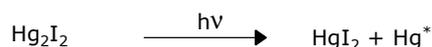
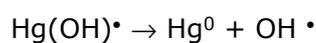
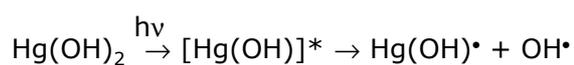
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 21 -

21

## Fotochimica



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 22 -

22

## Metilazione e demetilazione

Specie capaci di metilare HgCl <sub>2</sub>	Specie capaci di demetilare CH <sub>3</sub> Hg <sup>+</sup>
<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 mirabili</i>
<i>Aerobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Bifidobacteria</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Paracolobacterium coliforme</i>
<i>C. cochlearium</i>	<i>Achrombacter 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)

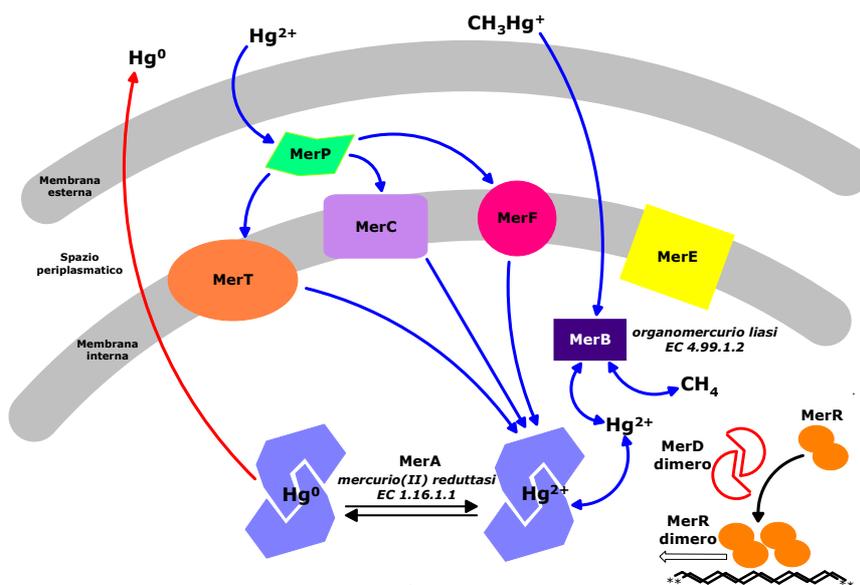
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 23 -

23

## Meccanismi di resistenza al Hg in batteri

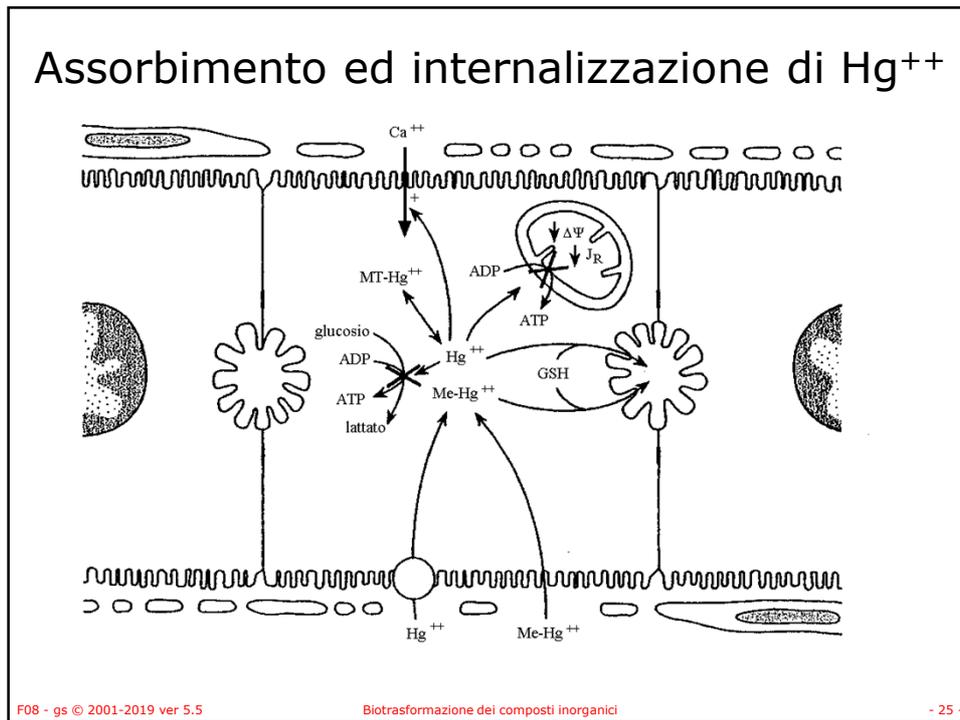


F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

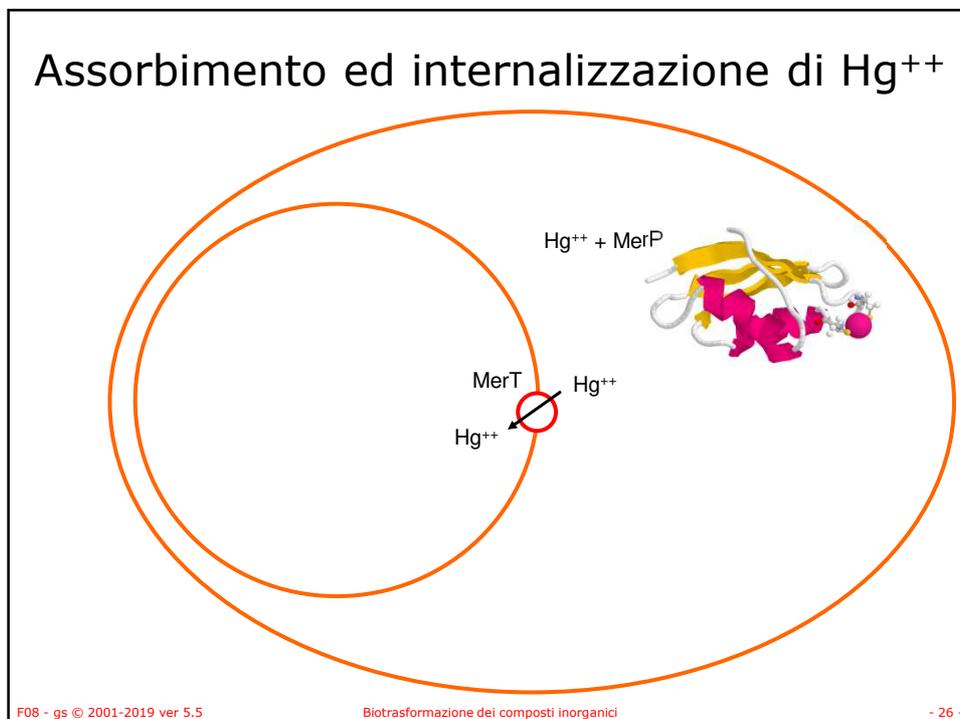
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 24 -

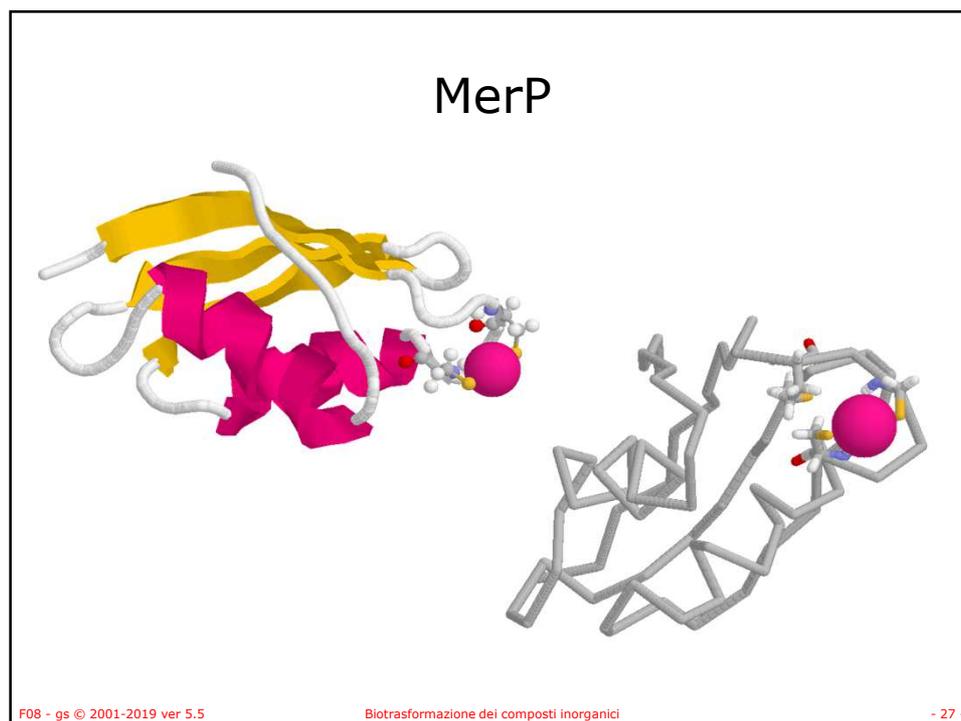
24



25



26



27

## 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*.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 28 -

28

## Operoni Mer

**Gram-negative mer operons**

- Tn21: R ← T P C A D
- Tn501: R ← T P A D
- Tn503: R ← T P F A
- pD11358: R ← T P A B D
- pPH: R ← B T P C A D

**Gram-positive mer operons**

*S. aureus, Bacillus*

p1258: R ← oef3 oef4 T A B

- MerR: - regolatore trascrizionale
- MerD: - corepressore
- MerT, MerP: - proteine strutturali coinvolte nel trasporto dello ione Hg<sup>2+</sup>
- 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

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5 Biotrasformazione dei composti inorganici - 29 -

29

## Trasporto di Hg all'interno della cellula batterica

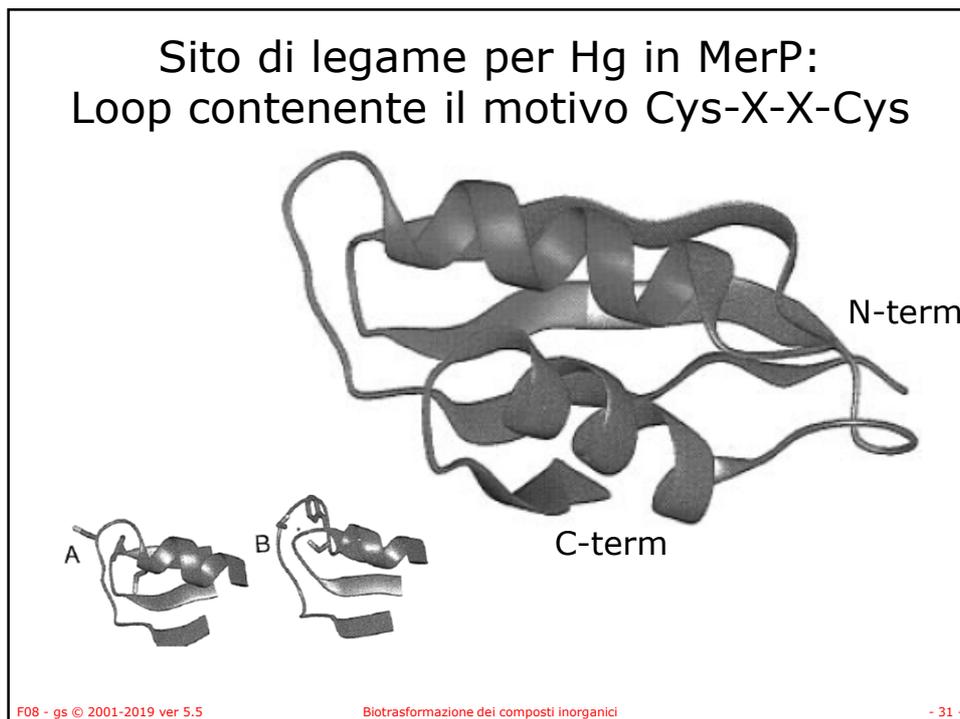
- Non sono state identificate proteine per il trasporto di Hg attraverso la membrana esterna.
- **merP** nel periplasma lega Hg col motivo Cys-X-X-Cys presente in un loop all'interno della struttura  $\beta\alpha\beta\beta\alpha\beta$ .
- **merP** trasferisce rapidamente Hg a 2 Cys di merT nella membrana 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 Cys14-Cys11 nel dominio di legame N-terminale di **merA**, poi alla coppia Cys557-Cys558 e poi alla coppia Cys135-Cys140 nel sito attivo
- **Il trasporto di Hg è mediato dal trasferimento di Hg tra coppie di Cys**

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

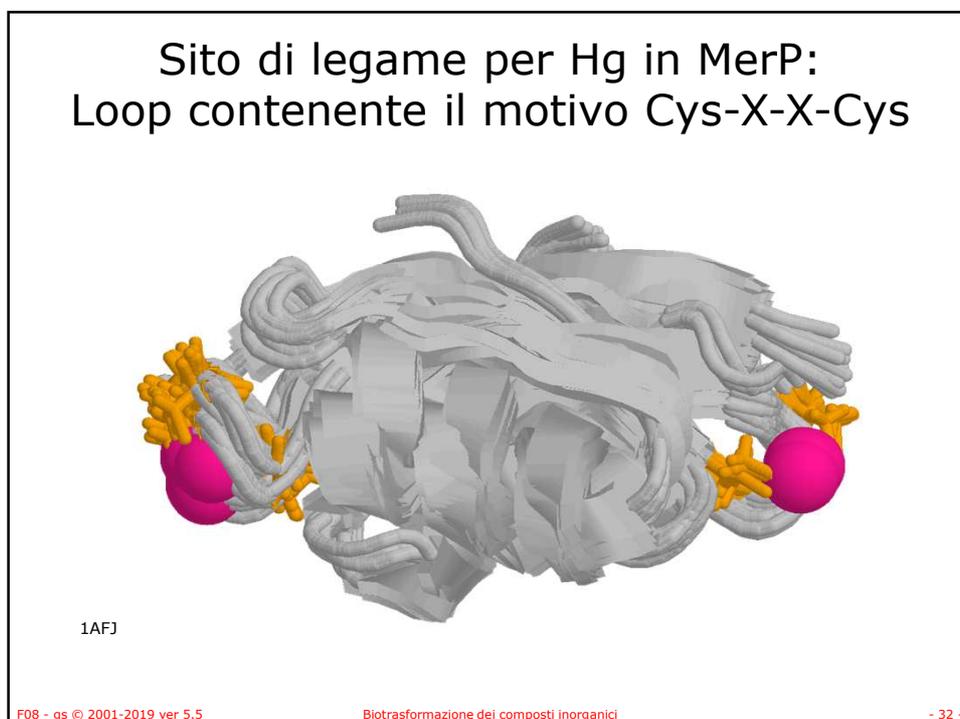
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 30 -

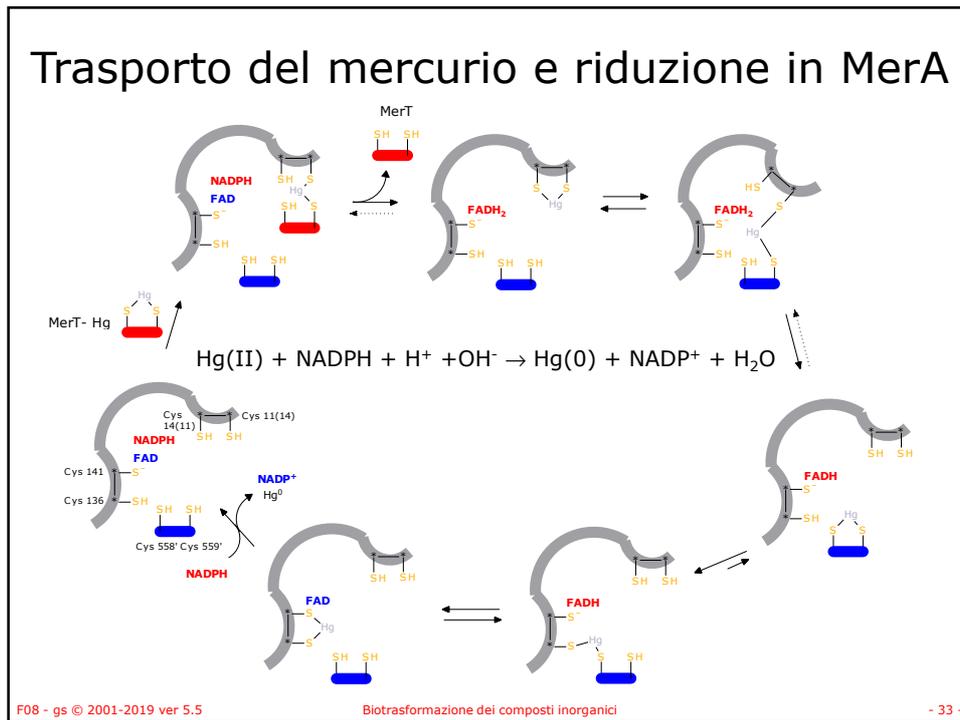
30



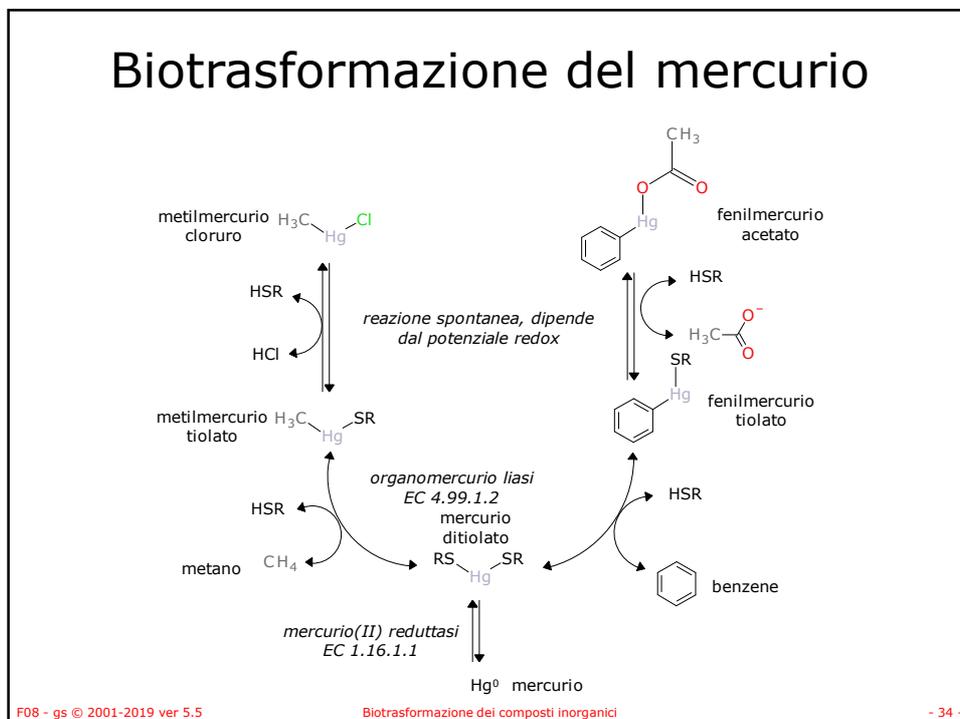
31



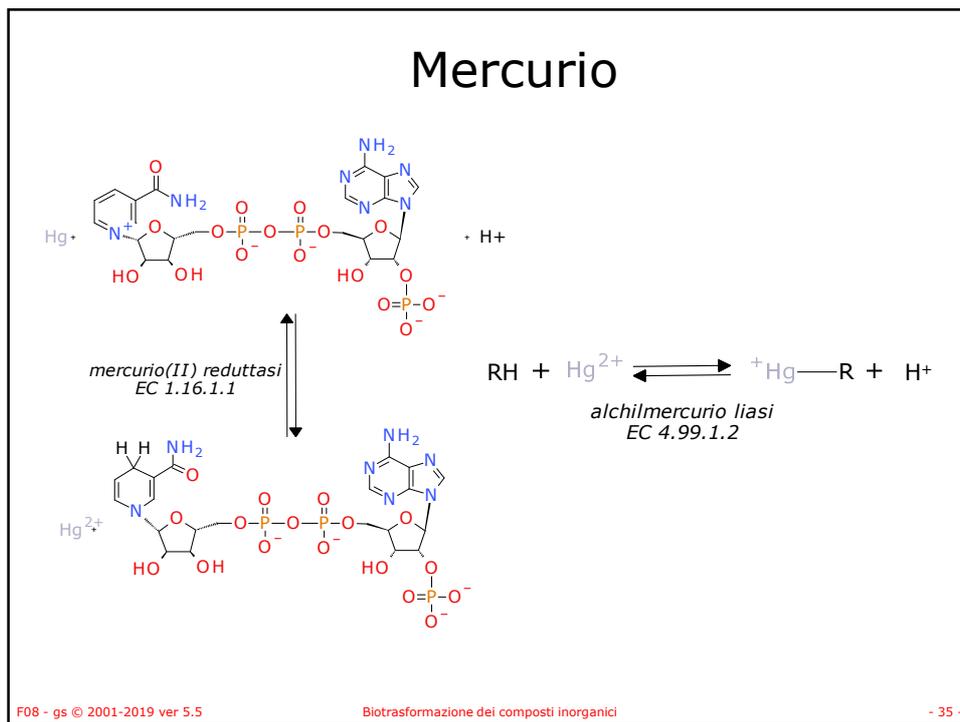
32



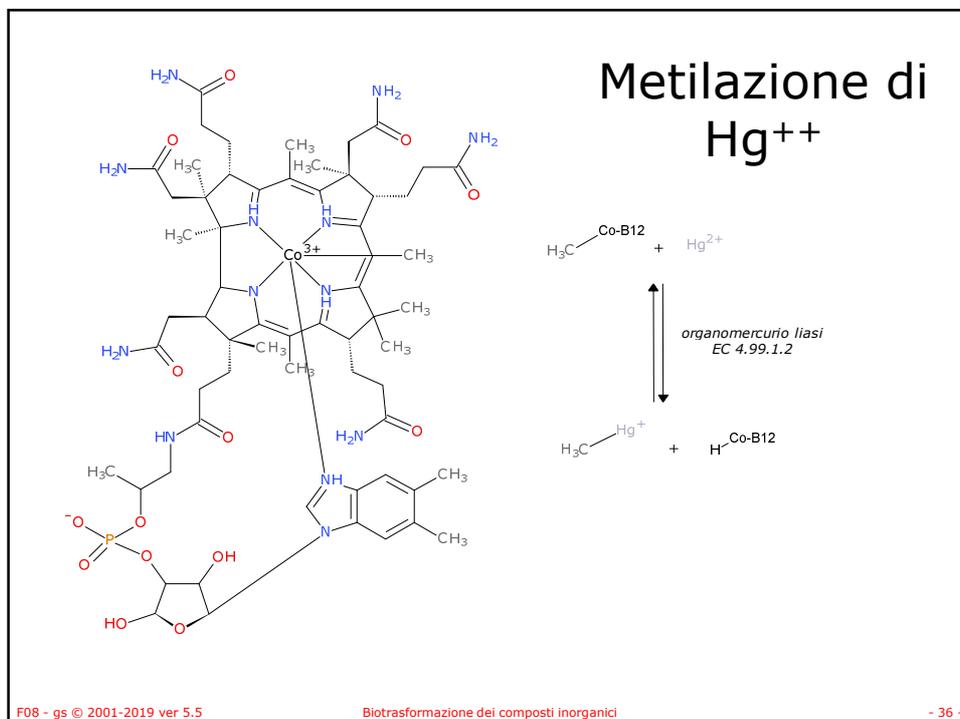
33



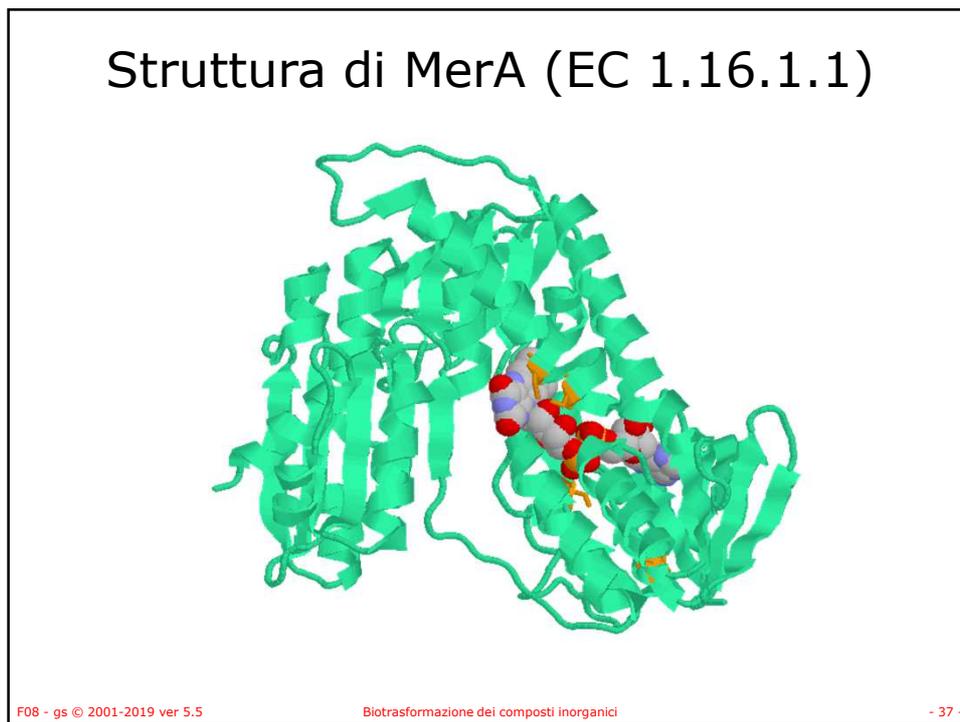
34



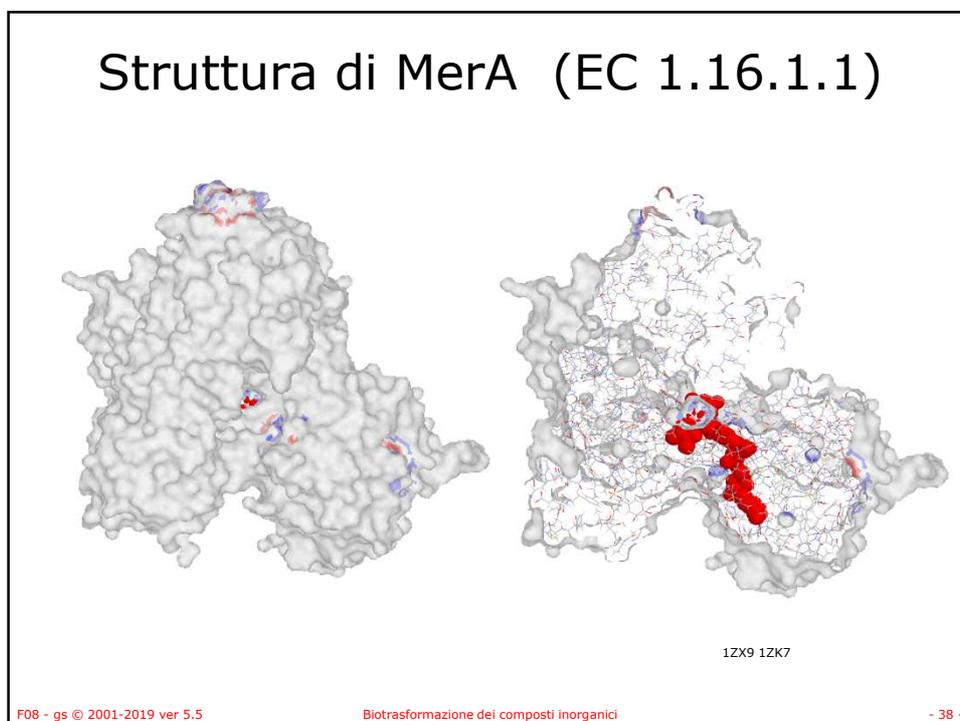
35



36

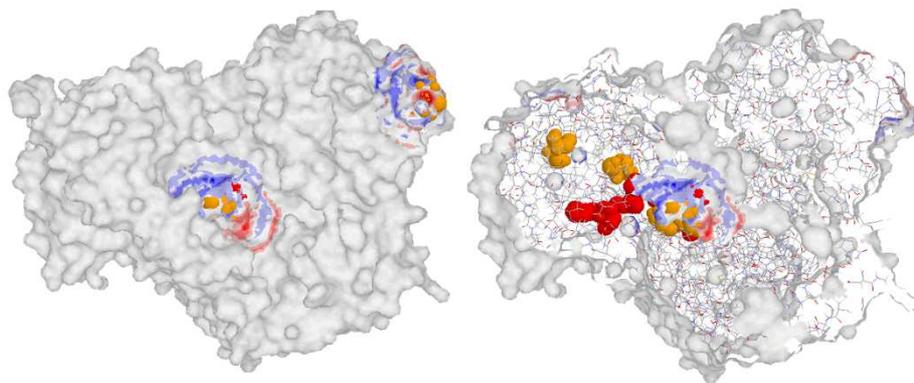


37



38

## Struttura di MerA (EC 1.16.1.1)



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

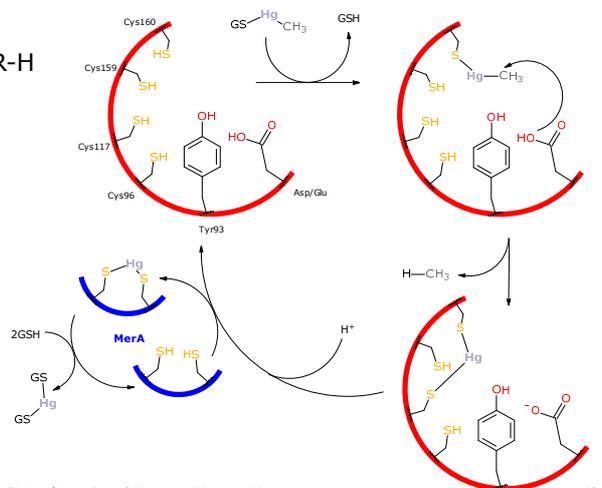
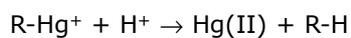
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 39 -

39

## 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*.

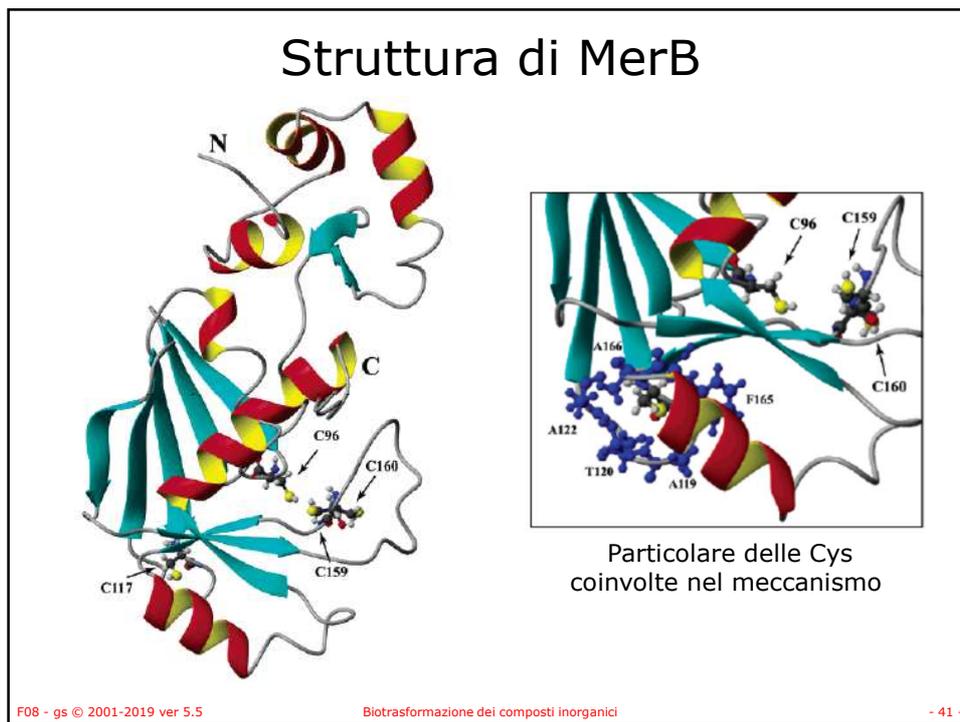


F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

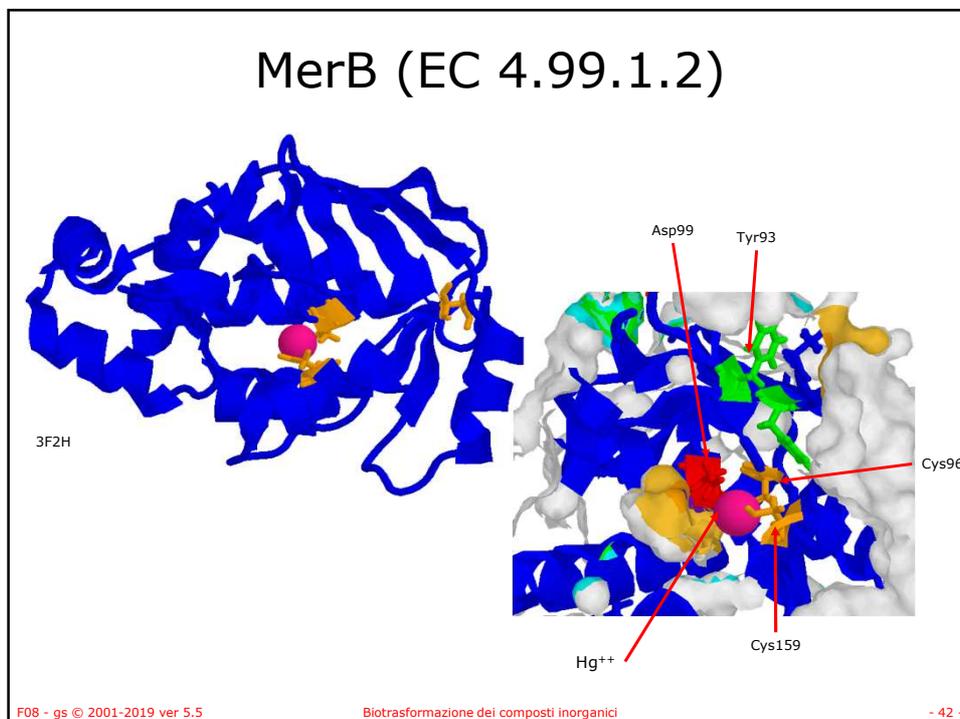
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 40 -

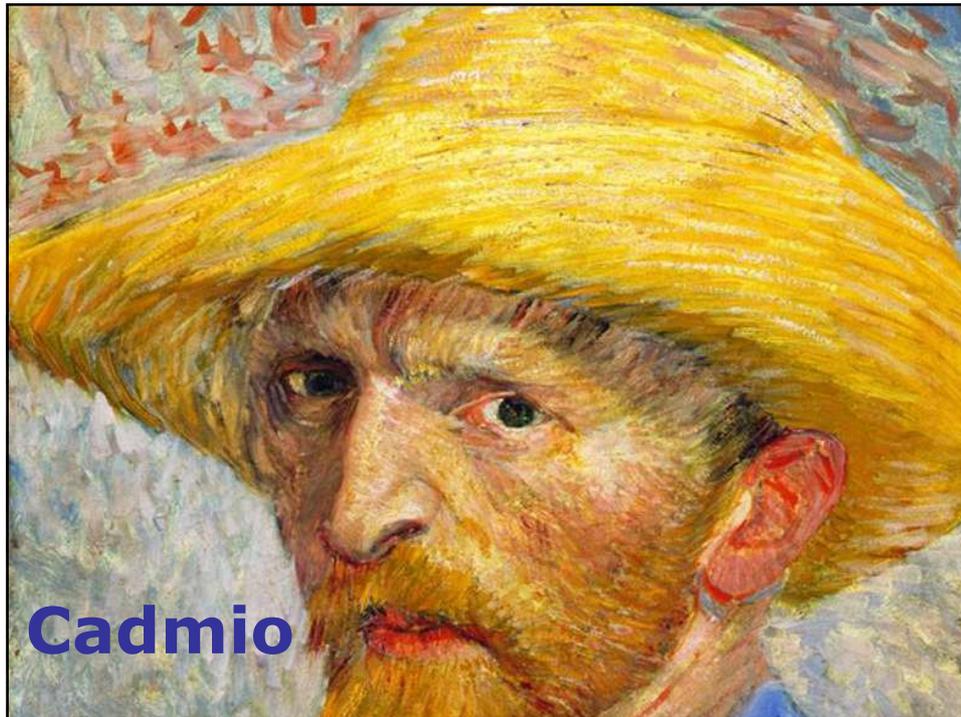
40



41



42



43

## Cadmio

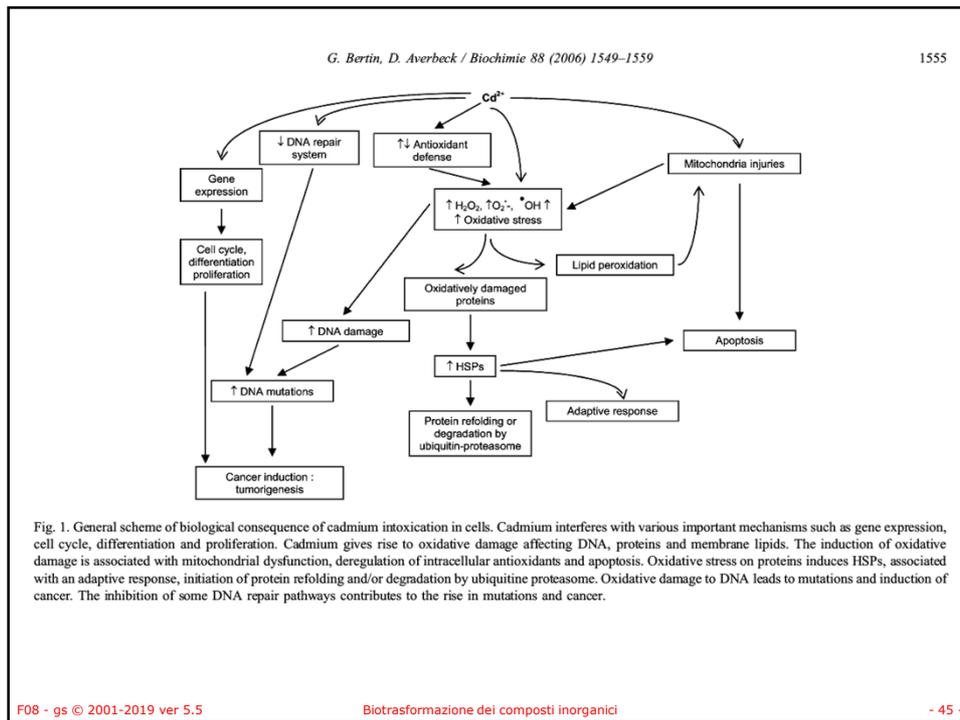
- Il Cadmio catalizza la formazione di ROS e la formazione di lipoperossidi;
- Distrugge le difese antiossidanti (Glutathione e Proteine SH)
- Promuove la produzione di citochine mediatrici dell'infiammazione.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

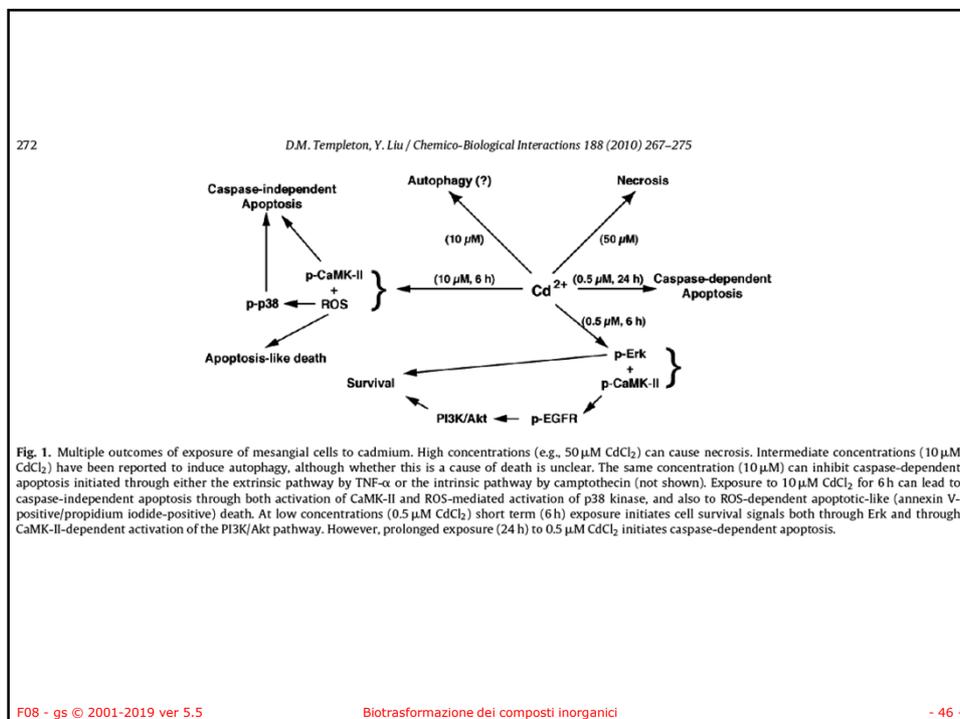
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 44 -

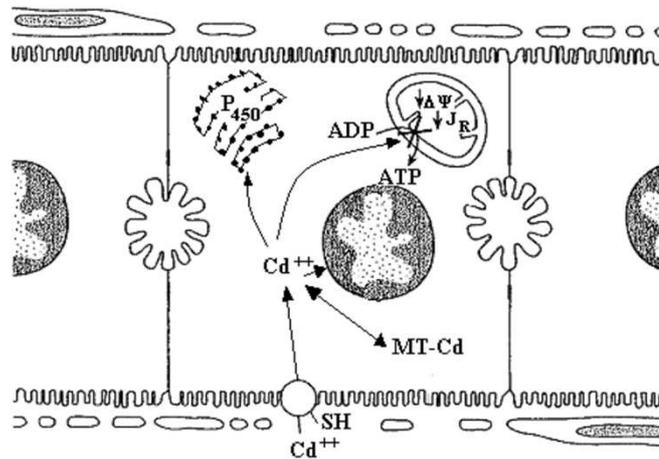
44



45



46

Assorbimento ed internalizzazione di  $\text{Cd}^{++}$ 

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 47 -

47

## 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  $\text{Cd}^{2+}$ , 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.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

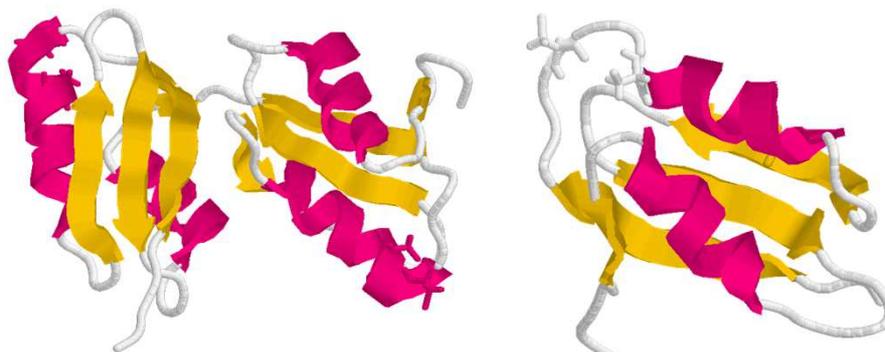
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 48 -

48

## EC 3.6.3.-

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



2RML

2GCF

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 49 -

49

## Arsenico

### FOWLER'S SOLUTION

**POISON! CAUTION!**

ALCOHOL 2.4%

FOWLER'S SOLUTION DOSE—For an adult one to five drops.  
ANTIDOTE—Evacuate stomach with stomach pump or emetics.  
Give hydrated oxide of iron, oil, lard, melted butter, milk and  
magnesia in large quantities.

**CASE'S PHARMACY, The Rexall Store**  
Rochester Building, Main and Mulberry Streets, LOGAN, OHIO

**As, AsO<sub>4</sub><sup>3-</sup>, AsO<sub>3</sub><sup>3-</sup>, CH<sub>3</sub>AsO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>AsO<sub>2</sub><sup>-</sup>,  
(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>AsO<sup>-</sup>, AsH<sub>3</sub>**

50

## Proprietà

- vari stati di ossidazione;
- ha la stessa configurazione elettronica del fosforo.

<b>15</b>	30.974
277	2.1
44.30	
<b>P</b>	
[Ne]3s <sup>2</sup> 3p <sup>3</sup>	
1.82	±3,4,5
<b>33</b>	74.922
603 (subl.)	2.2
808 (28 atm)	
<b>As</b>	
[Ar]3d <sup>10</sup> 4s <sup>2</sup> 4p <sup>3</sup>	
5.73	±3,5

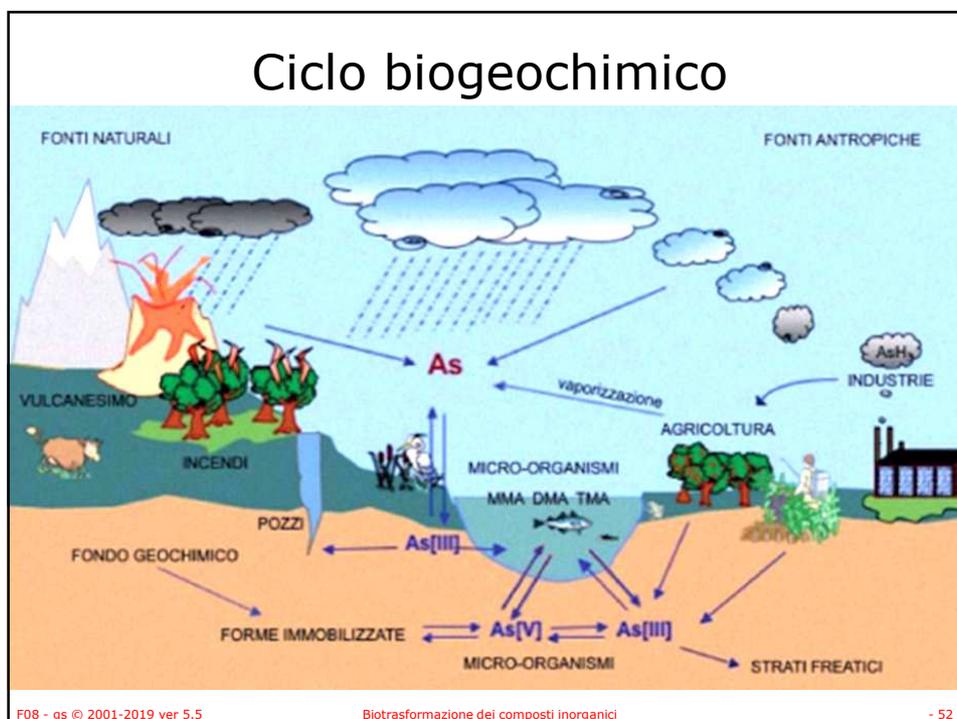
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 51 -

51

## Ciclo biogeochimico



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

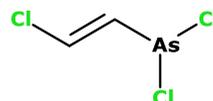
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 52 -

52

## Fonti Antropogeniche

- Attività estrattiva:
  - arsenopirite
- Attività industriali:
  - Liberazione durante i processi di estrazione e fusione di metalli
  - Pesticida ed erbicida
    - insetticida: *arseniato di piombo*,  $Pb_3(AsO_4)_2$
    - erbicida: *arseniato di calcio*,  $Ca_3(AsO_4)_2$ , *arsenito di sodio*,  $Na_3AsO_3$
    - insetticida, raticida, pigmento: *verde Parigi*,  $Cu_3(AsO_3)_2$
- Combustione del carbone
- Nelle acque:  $H_3AsO_3$ ,  $H_3AsO_4$  (anche di origine naturale)
- Uso bellico
  - Lewisite (2-cloro-vinil-dicloro-arsina)
  - Inibitore di E3 del complesso enzimatico piruvato deidrogenasi.



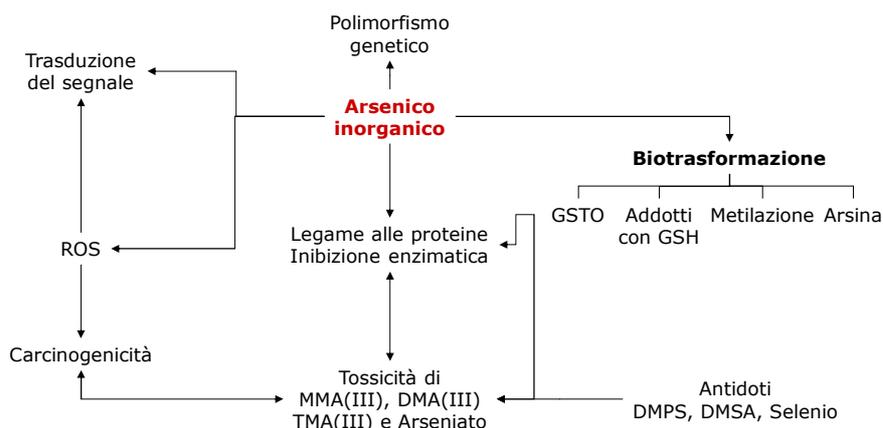
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 53 -

53

## Effetti



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

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 54 -

54

## Tossicità

- L'arsenico ed i suoi composti sono potenti veleni
  - Tossicità relativa:
    - Arsina ( $\text{AsH}_3$ ) > derivati organo-arsina > arseniti ( $\text{AsO}_3^{3-}$ )
    - > > arsenossidi (III) > arseniati ( $\text{AsO}_4^{3-}$ )
    - > composti organici pentavalenti (V) > derivati arsonio (I)
    - > arsenico metallico (0)
  - Distrugge la sintesi di ATP attraverso vari meccanismi:
    - Nella glicolisi agisce come inibitore delle chinasi
    - Inibisce la piruvato deidrogenasi
    - Agisce come disaccoppiante nella fosforilazione ossidativa a causa della sua similitudine col fosfato inibendo la respirazione cellulare
  - Favorisce la formazione di specie reattive dell'ossigeno e stress ossidativo.
  - Ha effetti carcinogenici.

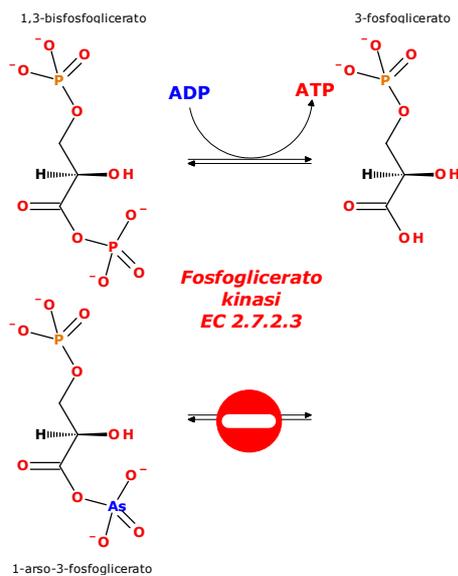
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 55 -

55

## Tossicità $\text{AsO}_4^{3-}$

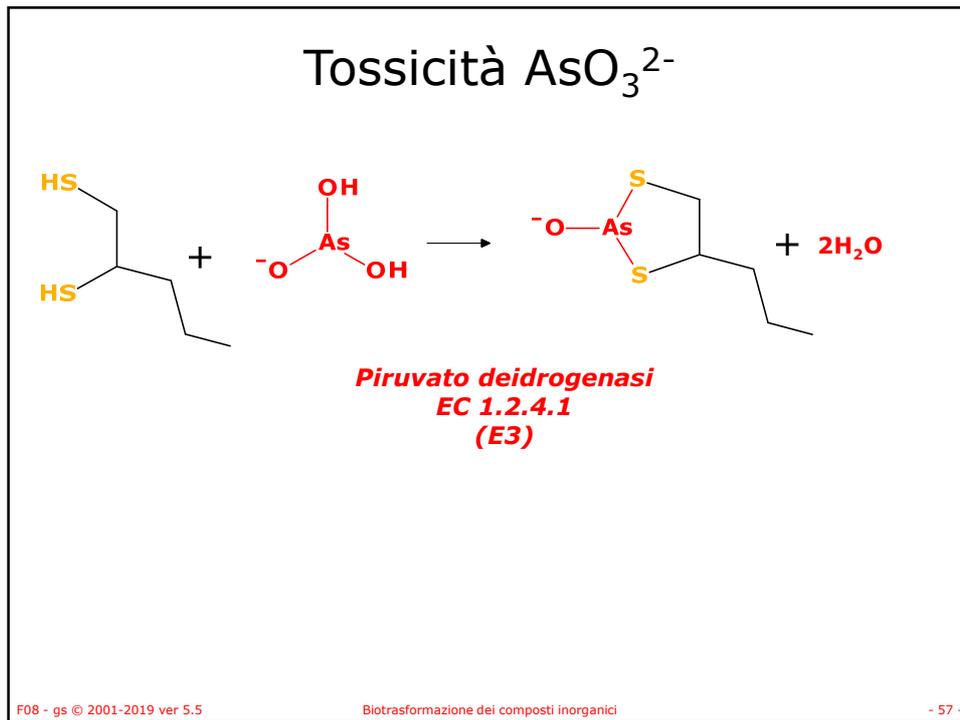


F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

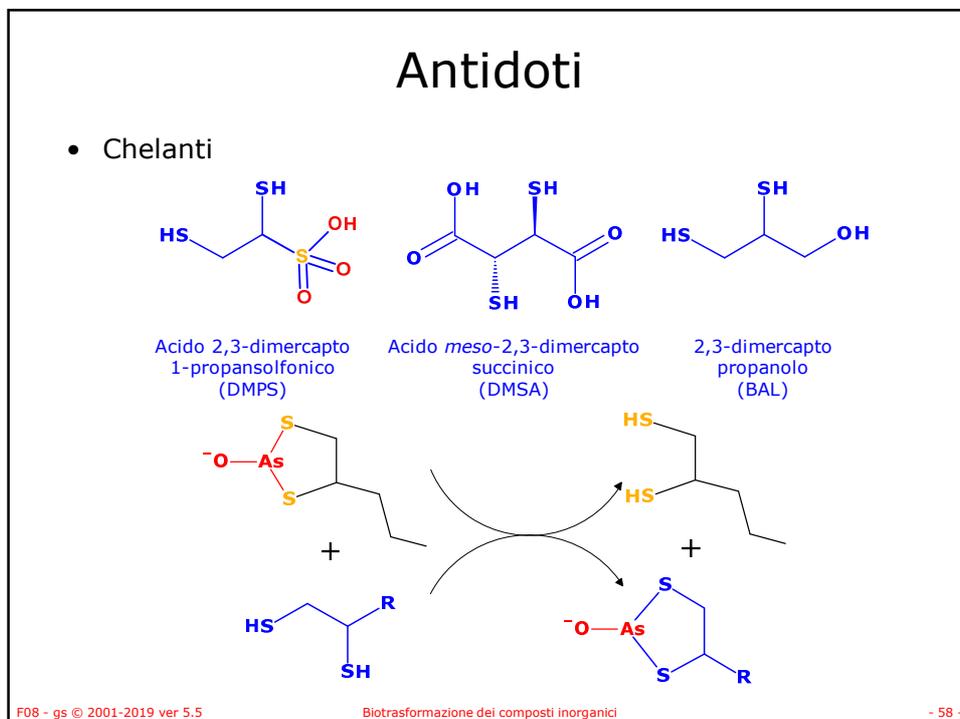
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 56 -

56



57



58

### Biotrasformazione

```

graph TD
    A[Arsenate (V)] -- Reductase --> B[Arsenite (III)]
    B -- Methyltransferase --> C[Monomethyl-arsinic Acid [MMA (V)]]
    C -- Reductase --> D[Monomethyl-arsinous Acid [MMA (III)]]
    D -- Methyltransferase --> E[Dimethyl-arsinous Acid [DMA (III)]]
    E -- Reductase --> F[Dimethyl-arsinic Acid [DMA (V)]]
    
```

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

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5
Biotrasformazione dei composti inorganici
- 59 -

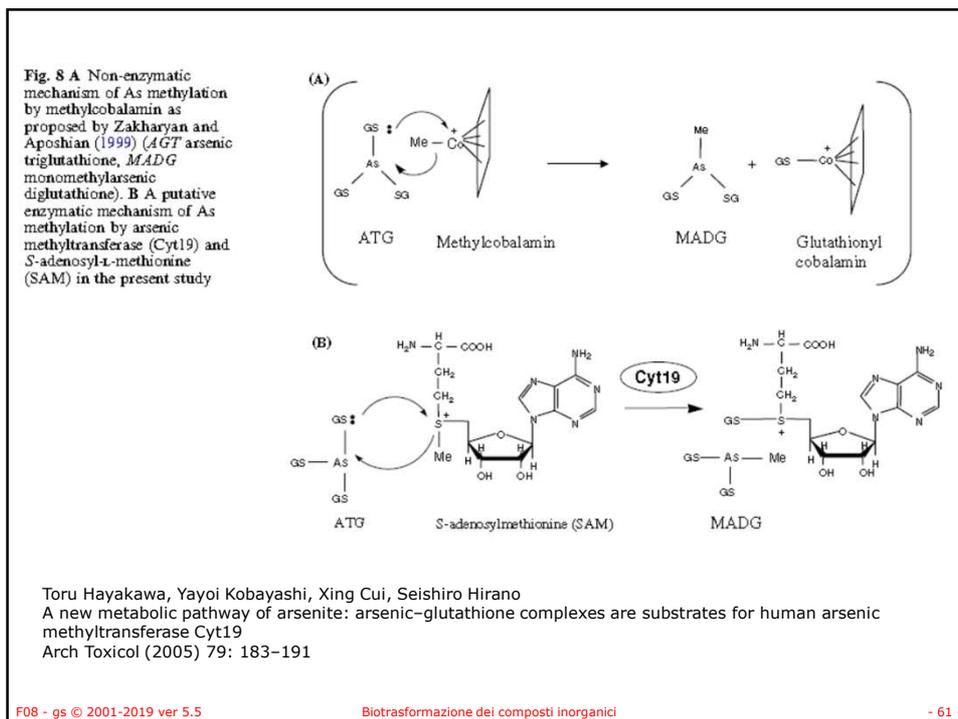
59

### Biotrasformazione

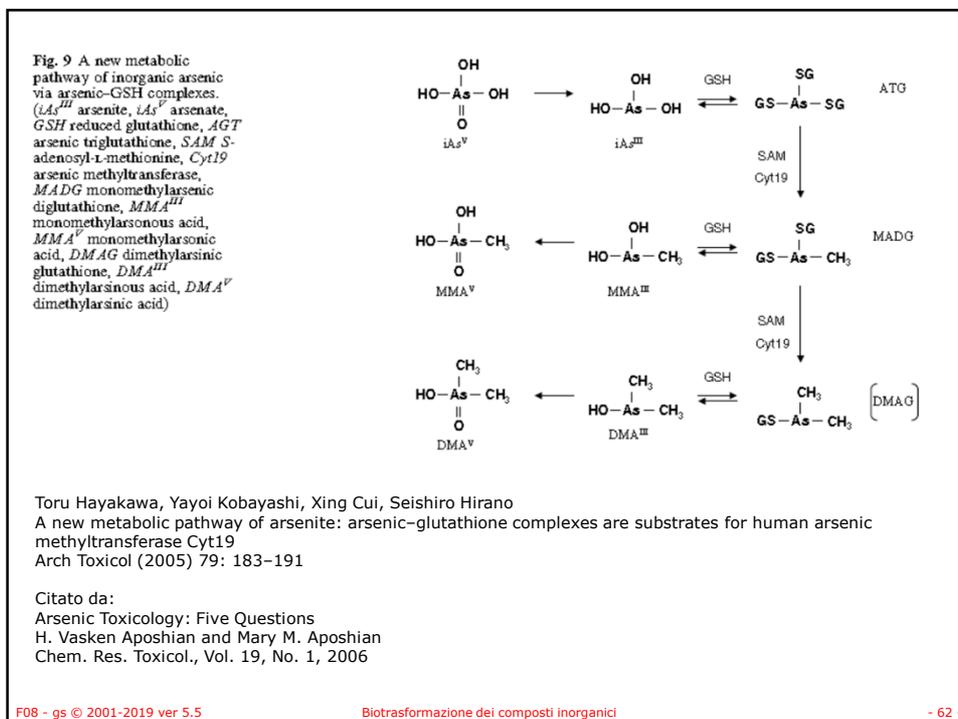
Carcinogenic metal compounds: recent insight into molecular and cellular mechanisms  
 Detmar Beyersmann · Andrea Hartwig  
 Arch Toxicol (2008) 82:493–512

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5
Biotrasformazione dei composti inorganici
- 60 -

60

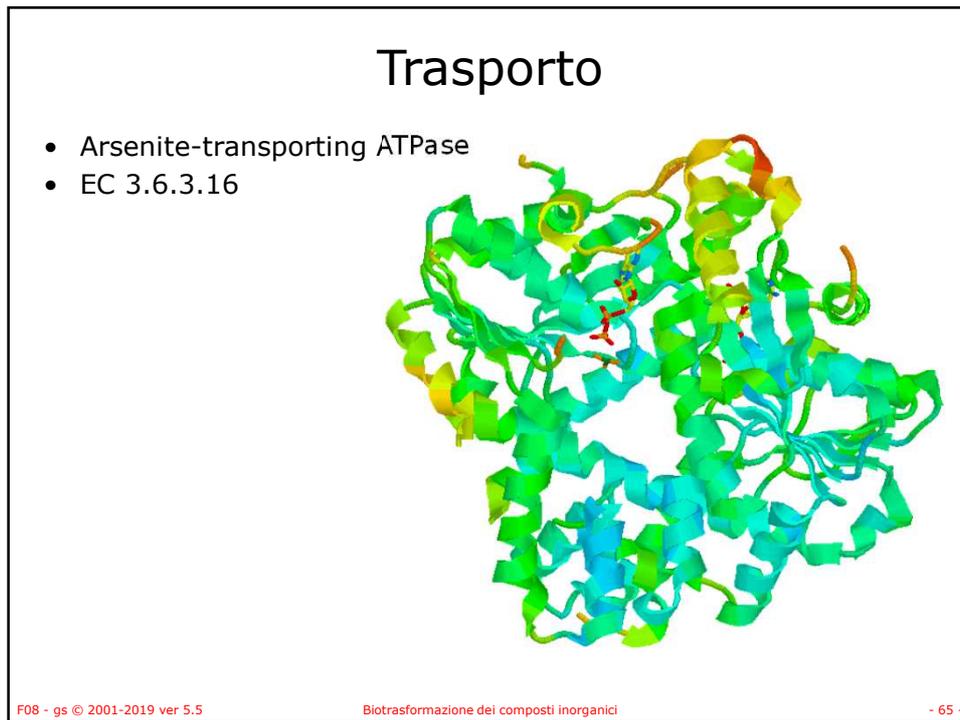


61

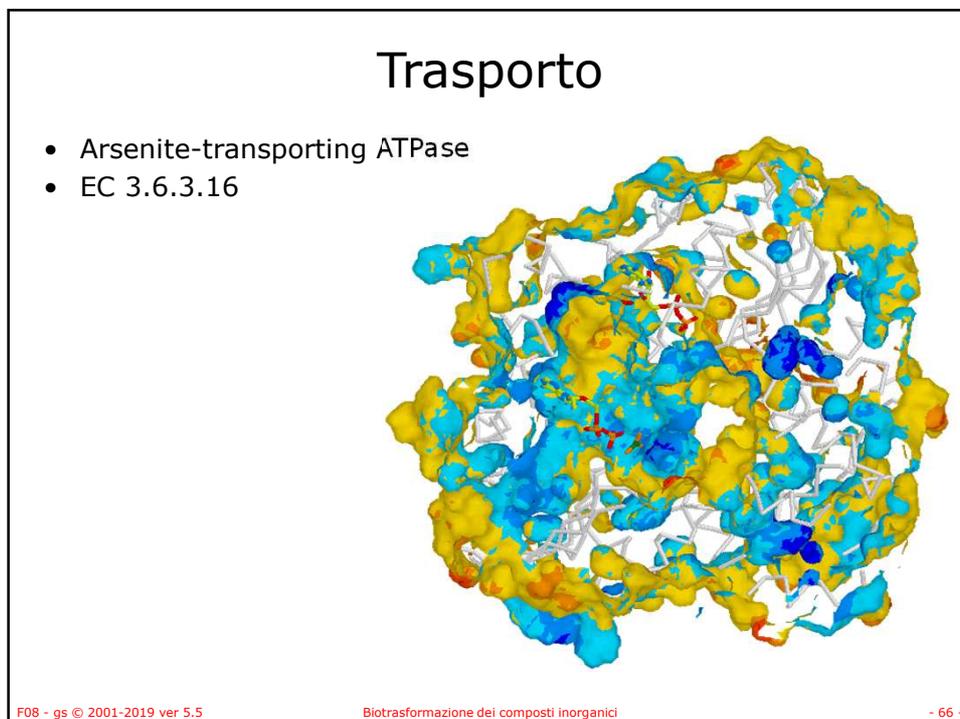


62

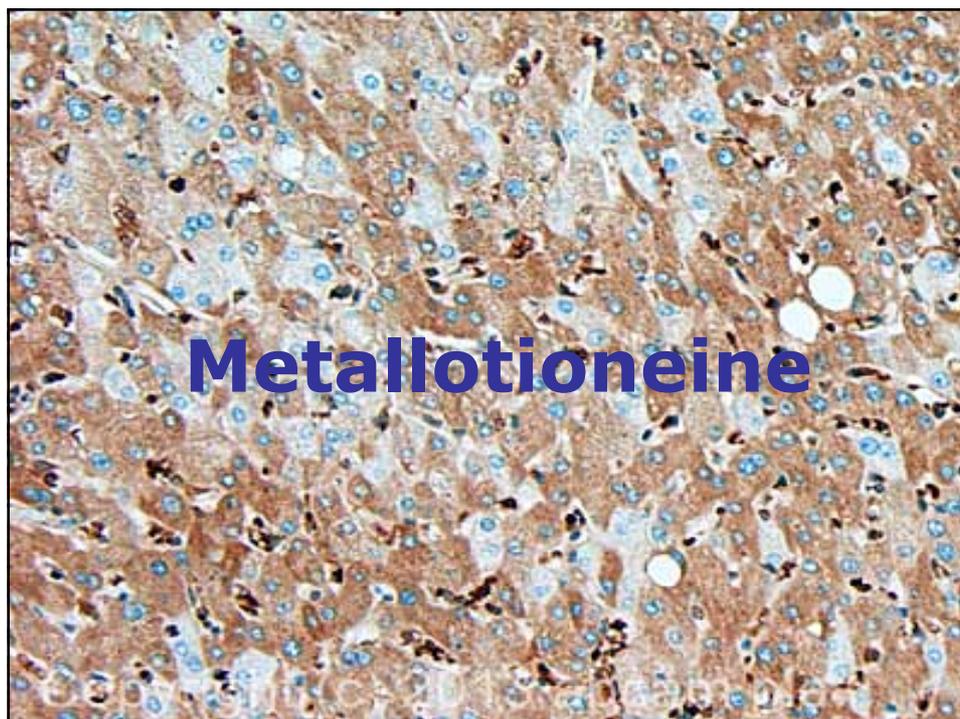




65



66



67

## Metallothioneine

- Le metallothioneine (MT) sono peptidi e proteine ubiquitarie a basso peso molecolare ad alto contenuto in aminoacidi solforati e metalli.
- Hanno 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.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 68 -

68

## 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.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

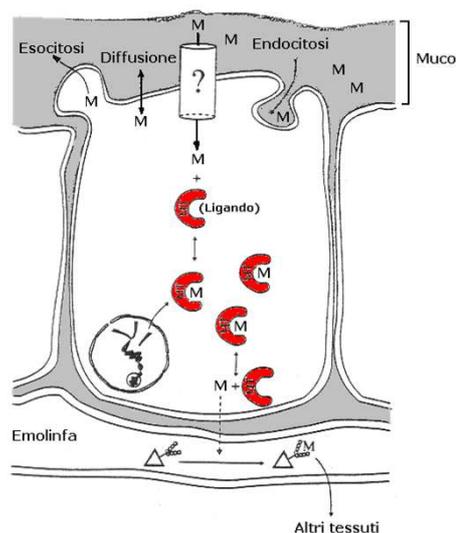
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 69 -

69

## Trasporto di metallotioneine

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



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

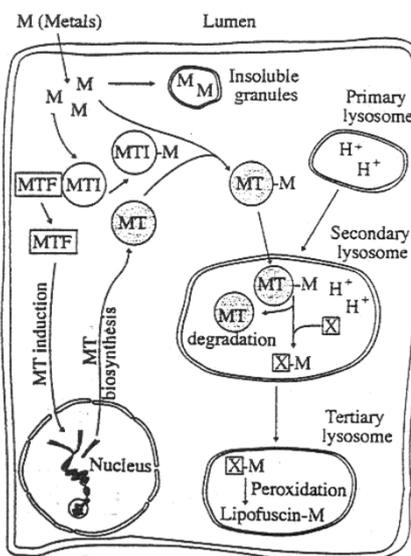
- 70 -

70

## 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.



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

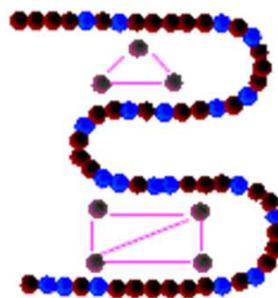
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 71 -

71

## 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.



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 72 -

72

## Classificazione – Le metallotioneine

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

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 73 -

73

## 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.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 74 -

74

## 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.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 75 -

75

## 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
  - ...

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 76 -

76

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; contine 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 ric he di Cys (dominio 1 e dominio 3) separate da una regione con poche Cys (dominio 2)	p1, p2, p2v, p3, pec, p21

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 77 -

77

## Struttura

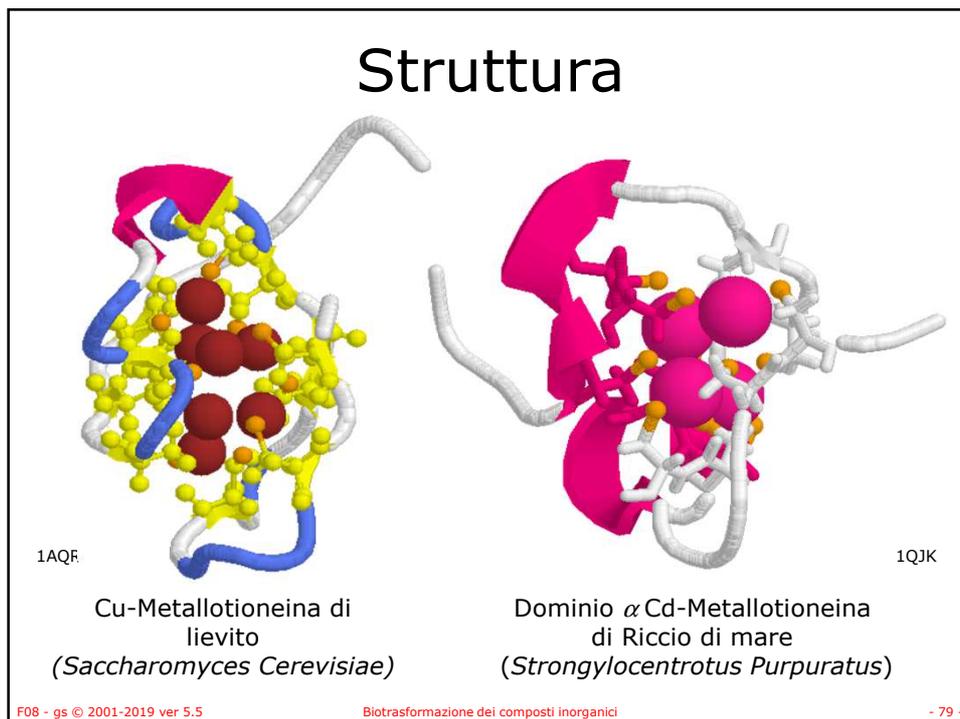
- Nonostante che le sequenze aminoacidiche siano diverse hanno caratteristiche strutturali simili:
  - Forma a manubrio,
  - Due domini,
  - Diverse unità tetraedriche Me(II)-Cys,
  - Tutte le Cys coinvolte nel legame con lo ione metallico
  - Pressoché assente la struttura secondaria.

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

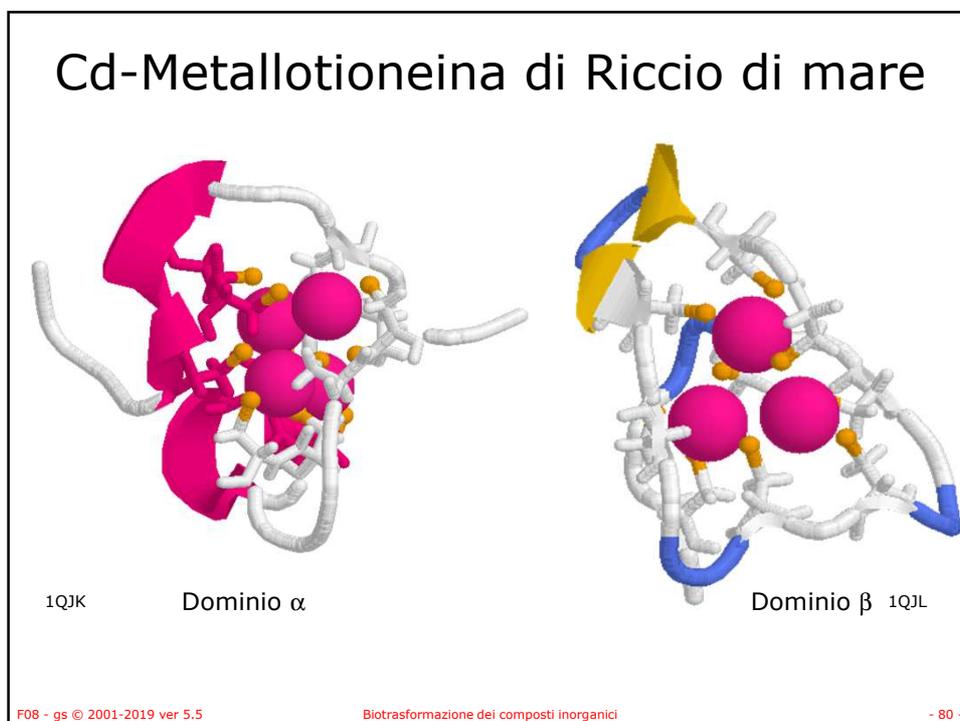
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 78 -

78



79



80



## 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:



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 83 -

83

## 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)

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

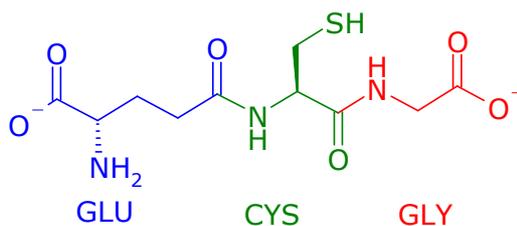
Biotrasformazione dei composti inorganici

- 84 -

84

## GSH

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



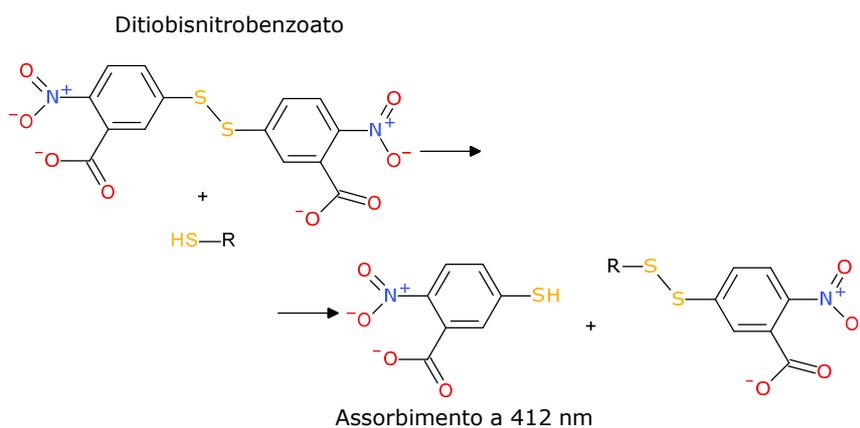
F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 85 -

85

## Reazione di ELLMAN



F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 86 -

86

## 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://umbdd.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>

F08 - gs © 2001-2019 ver 5.5

Biotrasformazione dei composti inorganici

- 87 -

87

## 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.
- Desidero anche ringraziare lo **Studente Andrea Maretta** per parte del materiale riguardante l'Arsenico.

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](mailto:giorgio.sartor@unibo.it)Personale: [giorgio.sartor@gmail.com](mailto:giorgio.sartor@gmail.com)

Aggiornato il 28/05/2020 14:52:14

88