

Prof. Giorgio Sartor

Enzimi di Fase II

Copyright © 2001-2008 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

Versione 3.4 – oct 2008

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

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 2 -

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

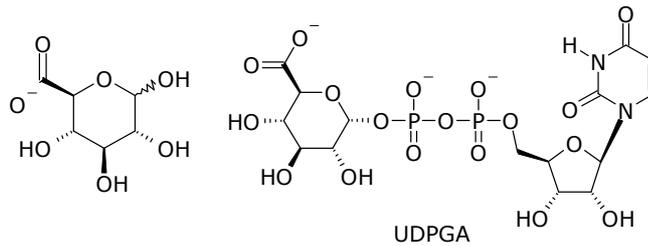
- Coniugazione con
 - Acido glucuronico
 - Glutazione
 - Solfato
 - Acetile
 - Aminoacidi
- Metilazione
 - Metallotioneine

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

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

Glucuronazione

- Coniugazione di xenobiotici con un H labile con acido glucuronico da acido uridindifosfoglicerico (UDPGA)

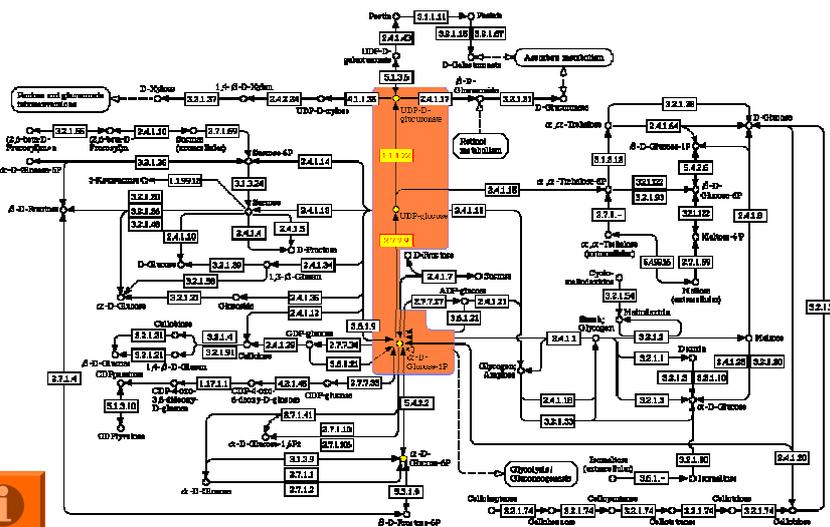


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 5 -

Formazione di UDPGA

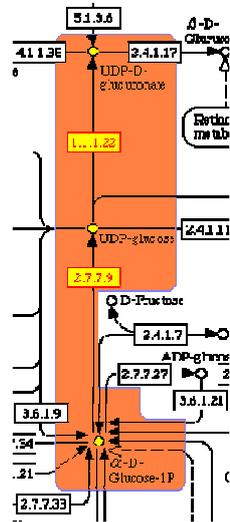


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 6 -

Formazione di UDPGA

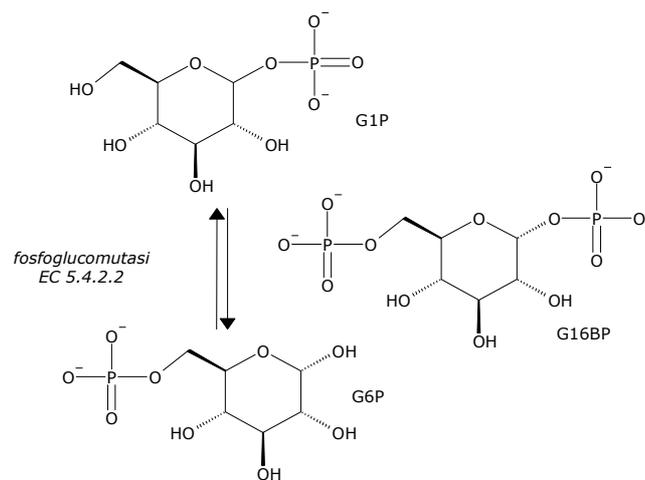


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 7 -

Glucosio-1-fosfato

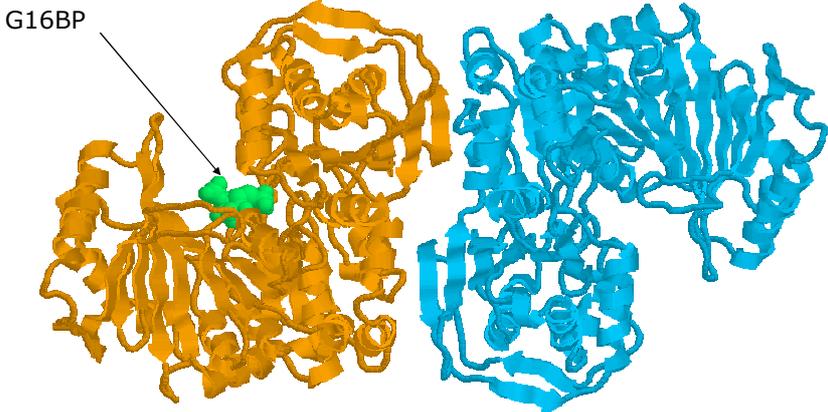


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 8 -

Fosfoglucosomutasi
EC 5.4.2.2 (1C47)

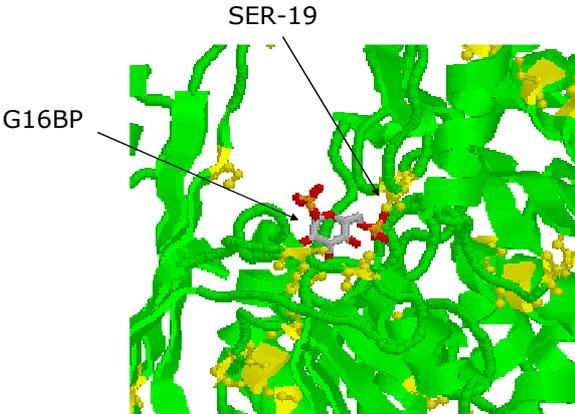


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 9 -

Fosfoglucosomutasi
EC 5.4.2.2 (1C47)

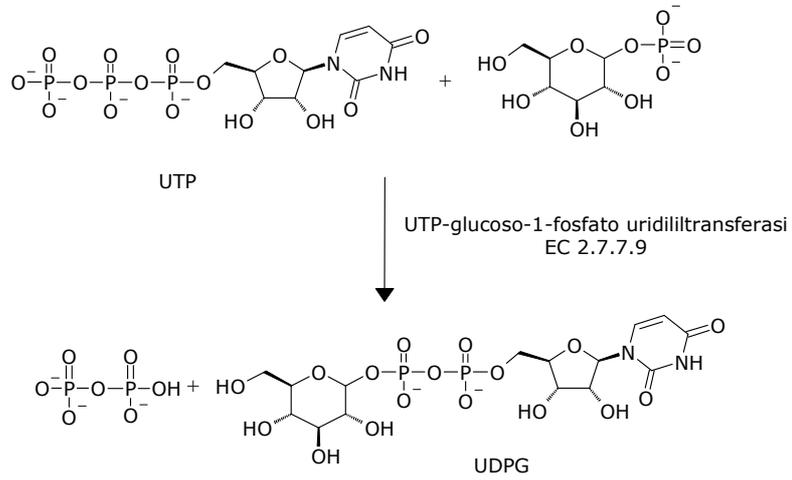


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 10 -

Formazione di UDPG

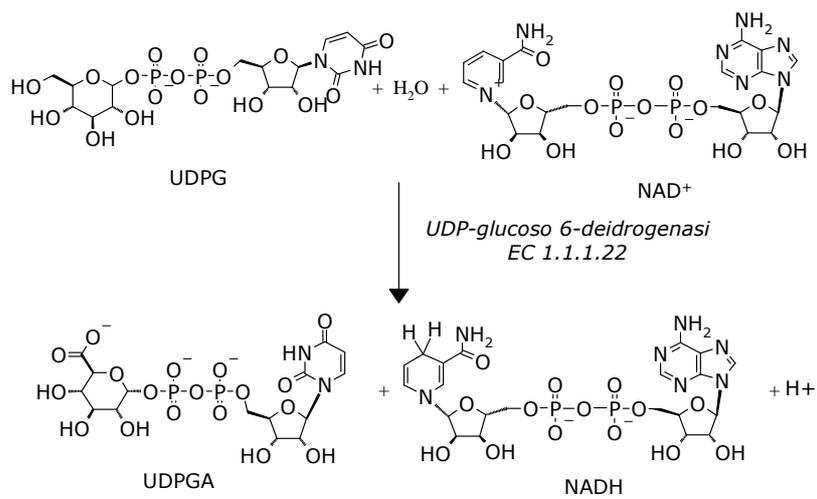


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 11 -

Formazione di UDPGA

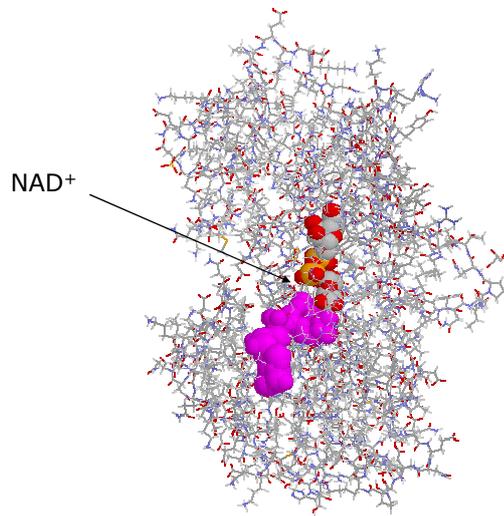


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 12 -

UDP-glucoso-6-deidrogenasi

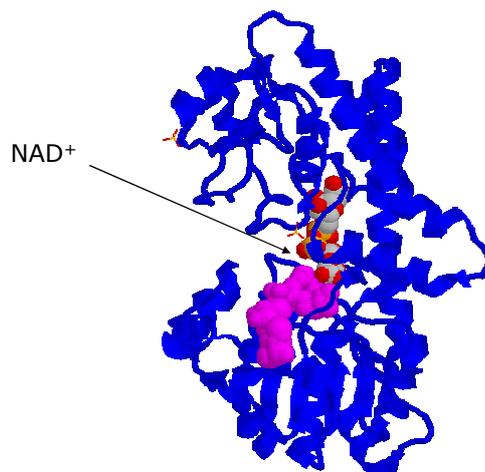


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 13 -

UDP-glucoso-6-deidrogenasi

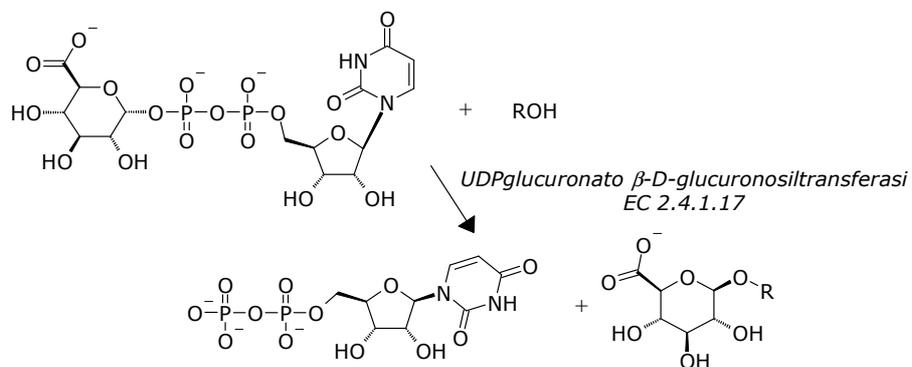


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 14 -

Coniugazione con acido glucuronico



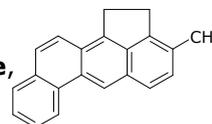
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 15 -

β-UDP-glucuroniltransferasi

- L'enzima β-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**.

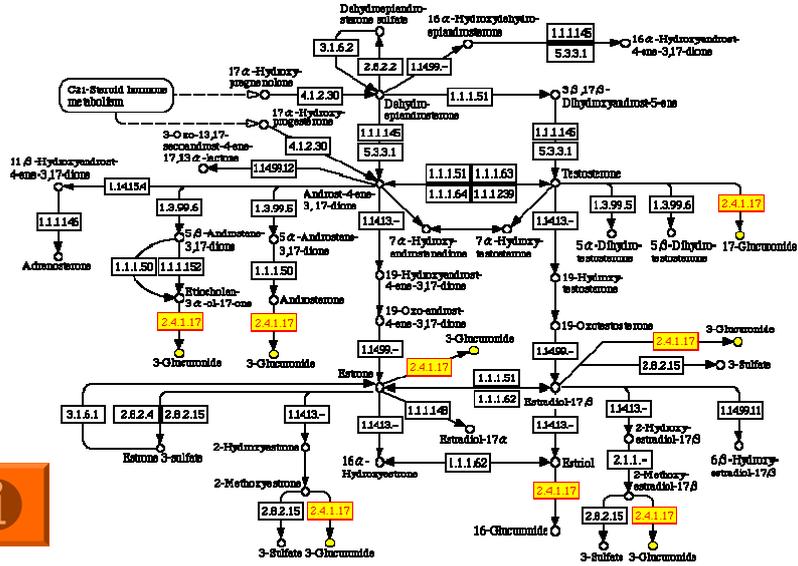


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 16 -

Metabolismo degli androgeni ed estrogeni

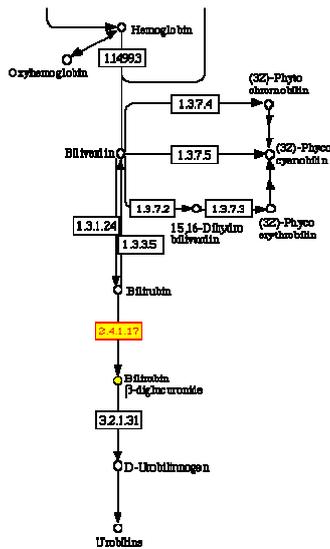


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 17 -

Metabolismo delle porfirine



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 18 -

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.

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.

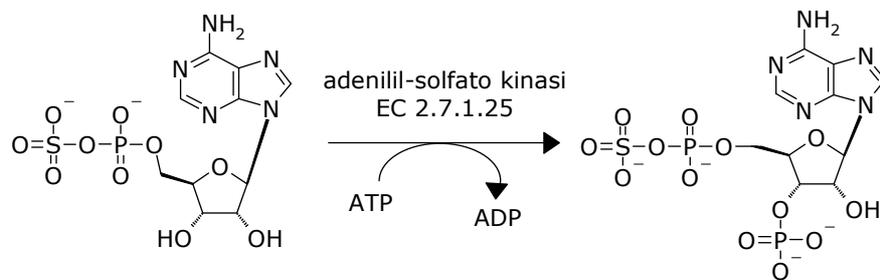
Glucuronazione e glucuronidasi

- 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

Formazione di PAPS



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 25 -

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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 26 -

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.

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

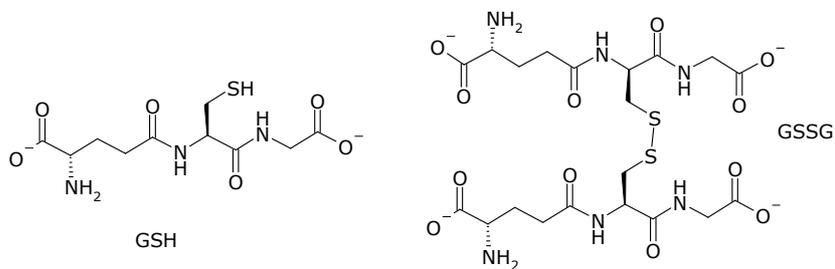
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 31 -

Coniugazione con glutazione

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



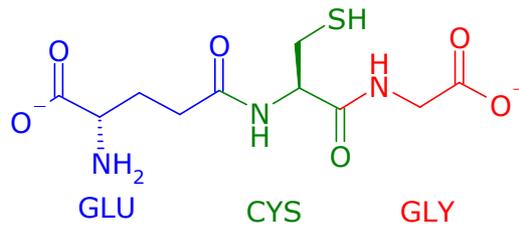
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 32 -

GSH

- Il glutathione è un tripeptide formato da glicina, cisteina, acido glutamico
 - Formato da γ -glutamilcisteina sintetasi (EC 6.3.2.3)

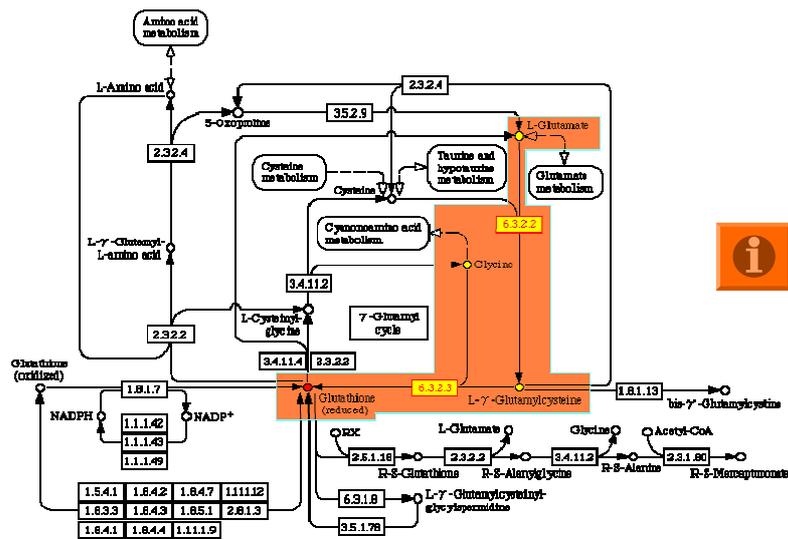


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 33 -

Sintesi del GSH

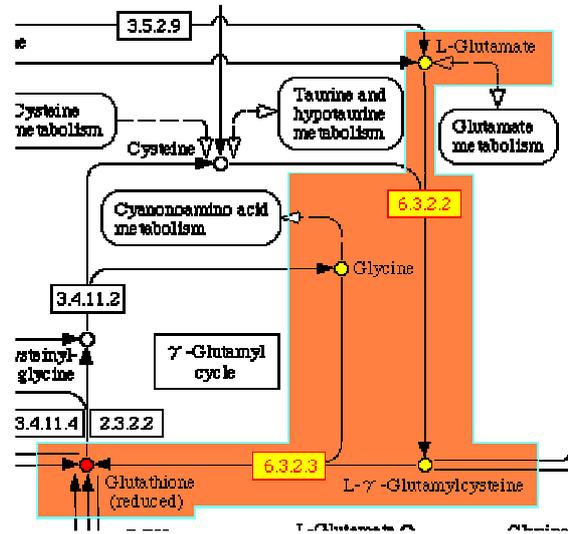


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 34 -

Sintesi del GSH

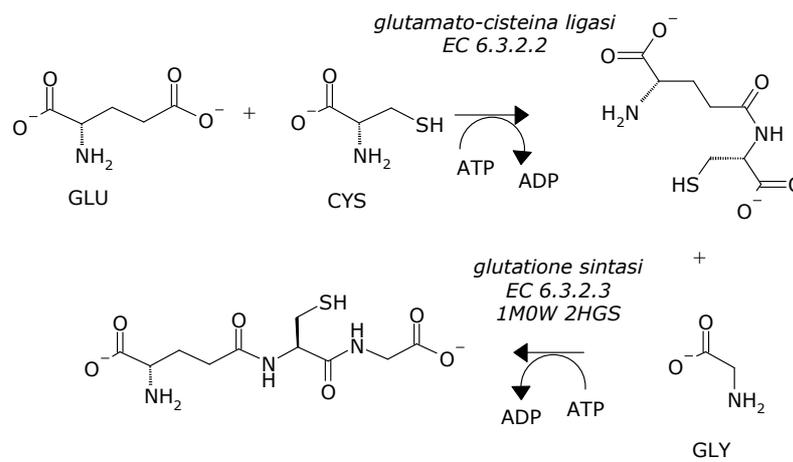


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 35 -

Sintesi del GSH

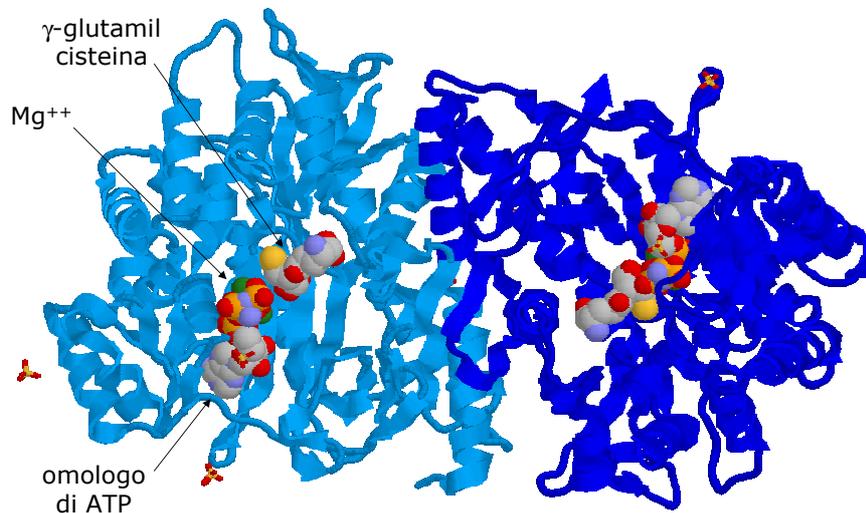


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 36 -

Glutatione sintasi (1M0W)

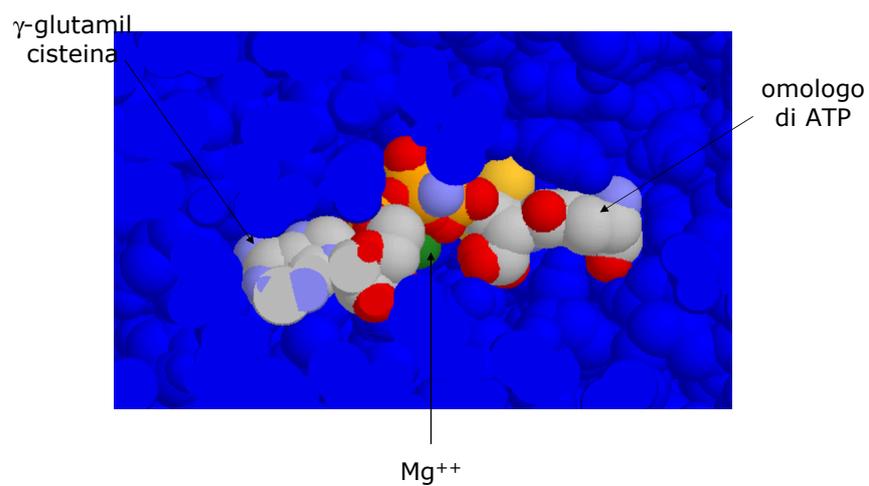


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 37 -

Glutatione sintasi (1M0W)

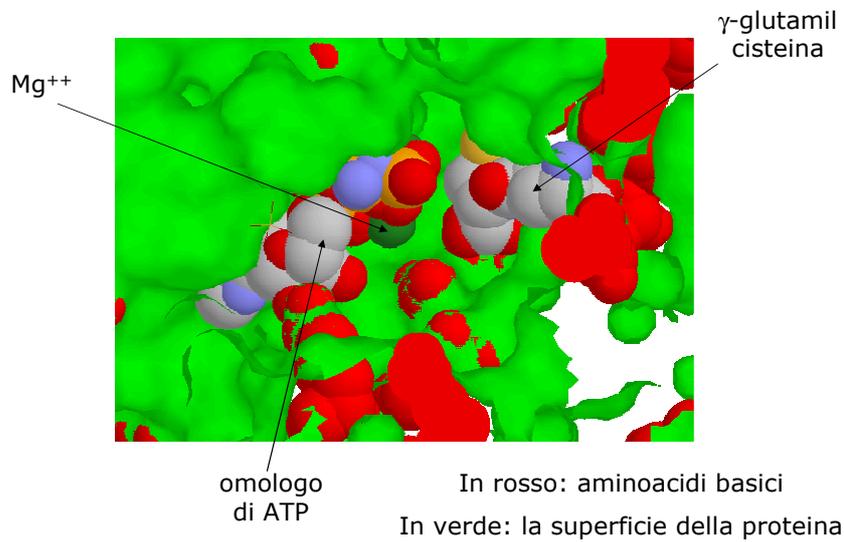


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 38 -

Glutatione sintasi (1M0W)

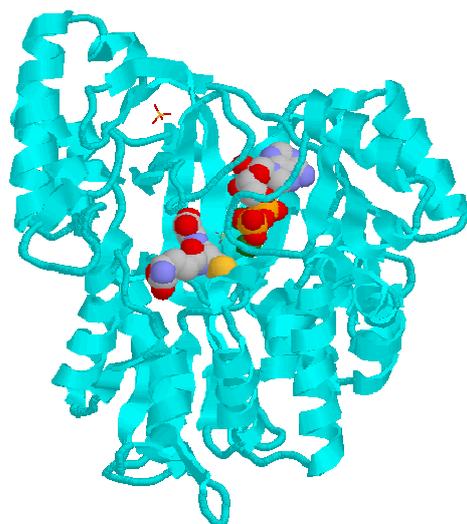


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 39 -

Glutatione sintasi (2HGS)

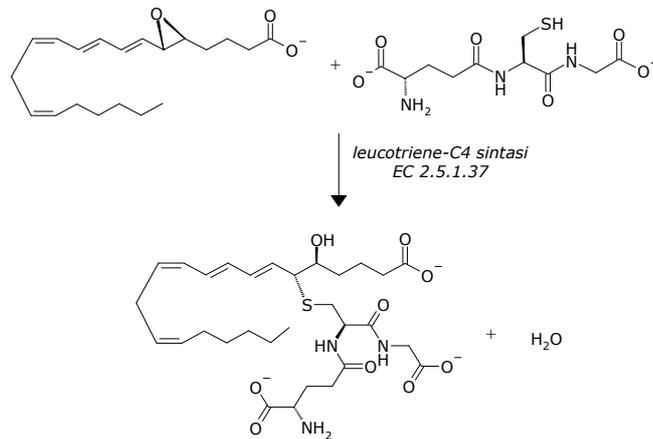


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 40 -

Metabolismo delle prostaglandine



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 43 -

Coniugazione con il GSH

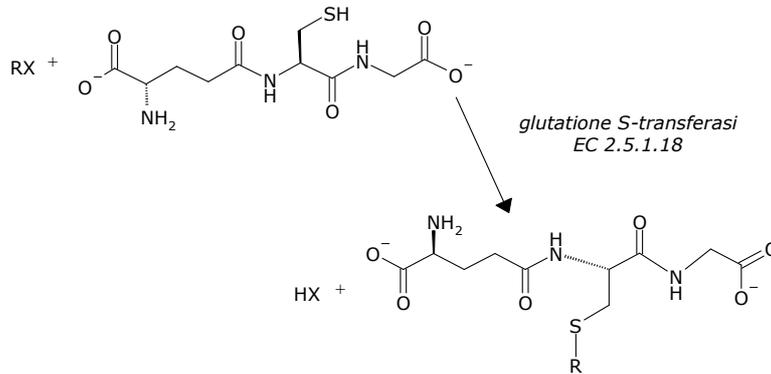
- Due tipi di reazione con il GSH
 - Spiazzamento di alogeni, solfati, solfonati, fosfati, nitrogruppi
 - Il glutathione viene addizionato a doppi legami attivati (epossidi) come nella sintesi delle prostaglandine.
- Substrati:
 - Idrofobici che contengono un elettrofilo
 - Possono reagire non enzimaticamente

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 44 -

Coniugazione

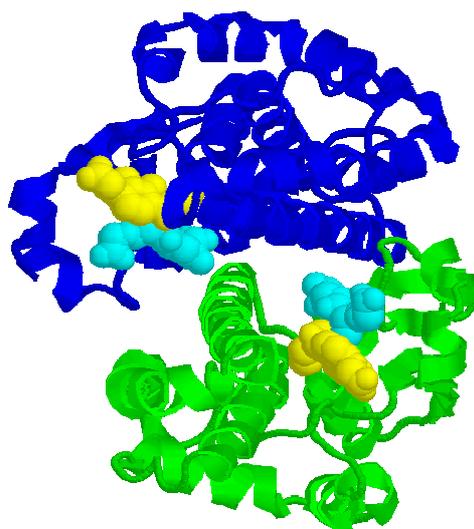


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 45 -

Glutathione S-transferasi – EC 2.5.1.18

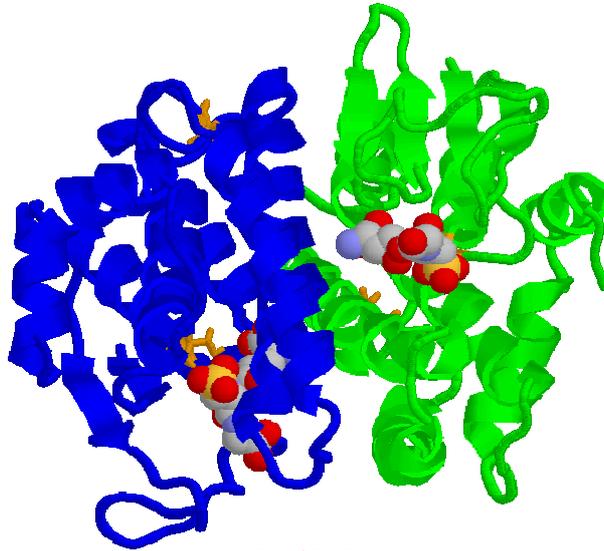


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 46 -

Glutazione S-transferasi EC 2.5.1.18 (1A0F)



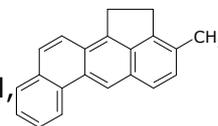
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 47 -

Glutazione S-transferasi

- Glutazione-S-transferasi microsomiale e citosolica
- Almeno quattro classi di glutazione-S-transferasi (α , β , γ , δ), 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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 48 -

Eliminazione dei composti coniugati con il GSH

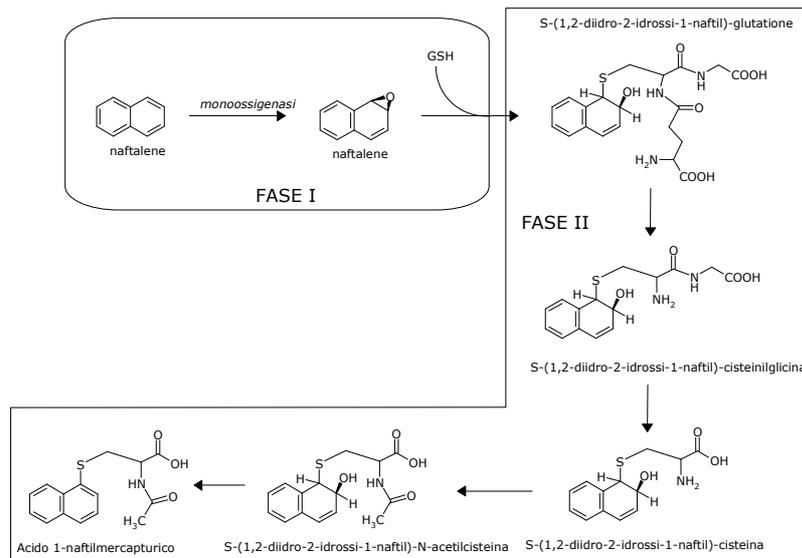
- Escrezione dei glutatione-coniugati:
 - Intatti nella bile
 - Convertiti in acido mercapturico nei reni ed escreti nelle urine
 - γ -glutamilttransferasi, aminopeptidasi M

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 49 -

Metabolismo del naftalene

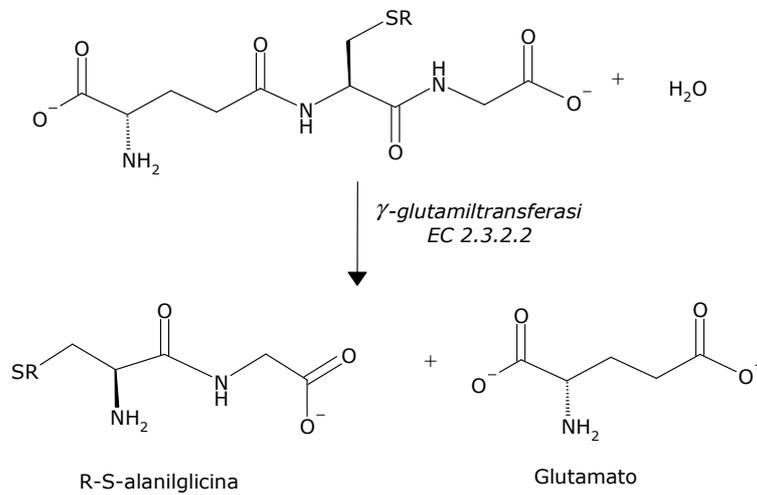


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 50 -

γ -glutamyltransferasi



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 51 -

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

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

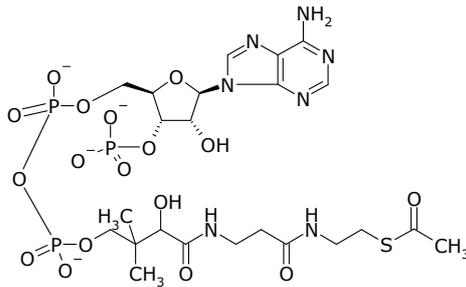
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 52 -

Coniugazione con il gruppo acetile

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



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 53 -

Acetilazione

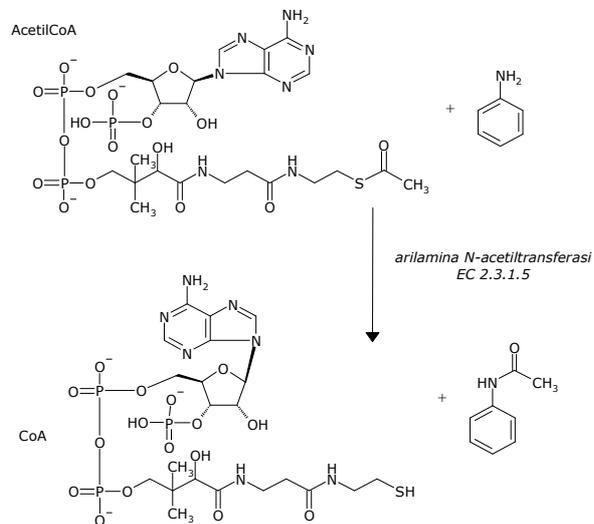
- Maggiore via di biotrasformazione di amine aromatiche e idrazine
- Diminuisce la solubilità
- *N*-acetiltransferasi (NAT)
 - Il cofattore è acetil-CoA

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 54 -

Meccanismo della acetilazione



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 55 -

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

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

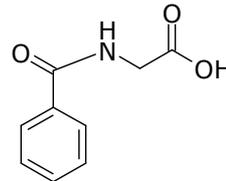
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 56 -

Coniugazione con aminoacidi

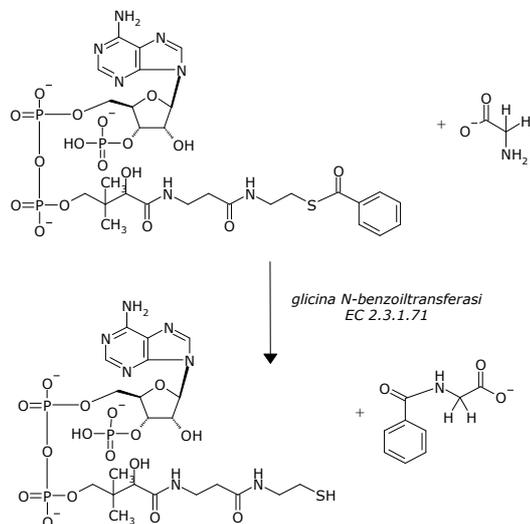
- Alternativa alla glucuronazione
- Due vie principali
 - Gruppo -COOH del substrato coniugato con -NH₂ di glicina, serina, glutamina, richiede attivazione con CoA
 - Coniugazione dell'acido benzoico con glicina per dare l'acido ippurico
 - Gruppi -NH₂ o -NHOH aromatici coniugati con gruppi COOH di serina, 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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 59 -

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

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

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 60 -

Sintesi di S-adenosilmetionina

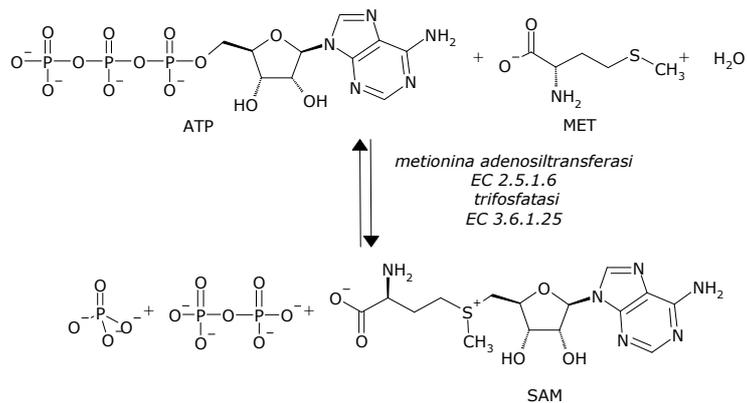


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 63 -

Sintesi S-adenosilmetionina

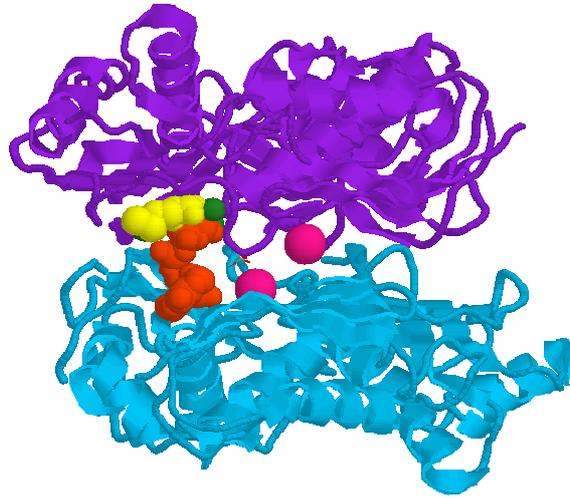


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 64 -

Metionina adenosiltransferasi EC 2.5.1.6 (109T)



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 65 -

Metiltransferasi

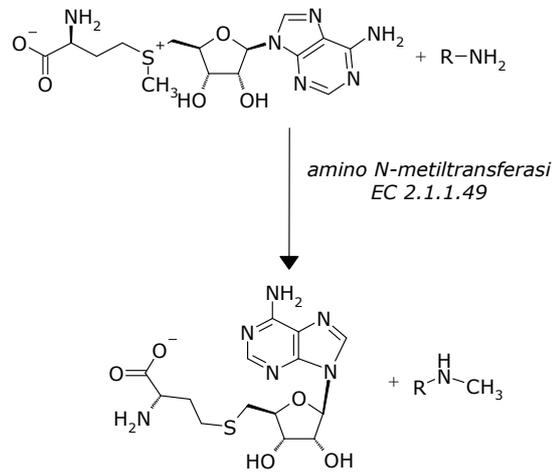
- Varie metiltransferasi
 - fenolo *O*-metiltransferasi,
 - catecolo *O*-metiltransferasi,
 - *N*-metiltransferasi,
 - *S*-metiltransferasi

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 66 -

Meccanismo della metilazione

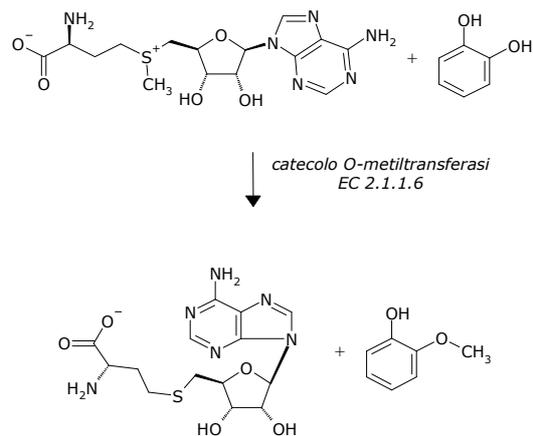


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 67 -

Meccanismo della metilazione

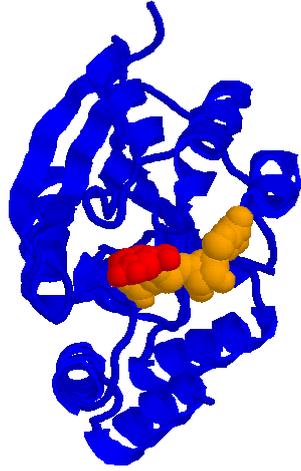


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 68 -

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

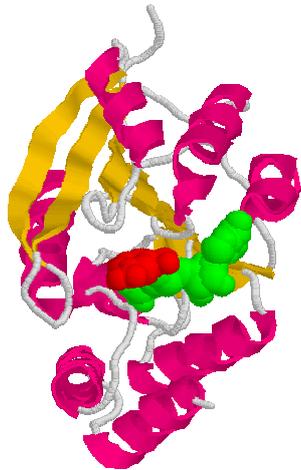


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 69 -

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

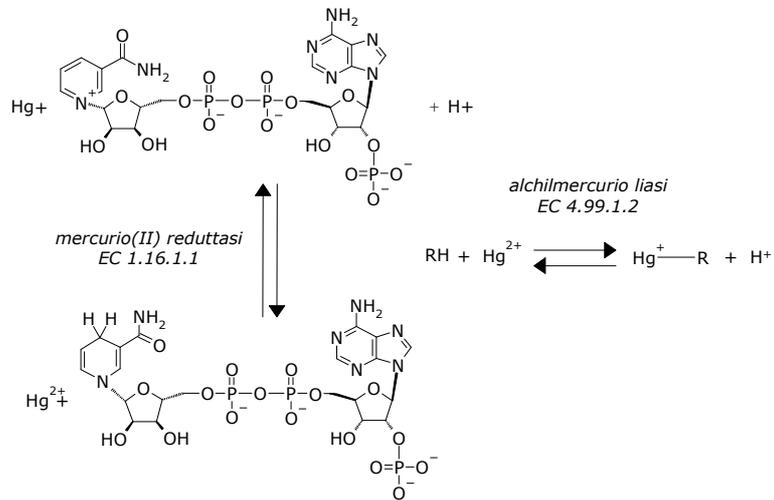


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 70 -

Mercurio



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 71 -

Gli enzimi di fase II catalizzano reazioni di:

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

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 72 -

Metallotioneine

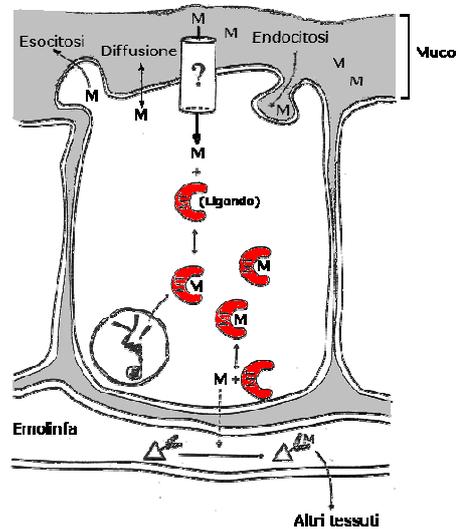
- Le metallotioneine (MT) sono peptidi e proteine ubiquitarie a basso peso molecolare ad alto contenuto in aminoacidi solforati e metalli.
- Si ipotizza che giochino un ruolo:
 - nella fissazione dei metalli in tracce (Zn^{++} , Cu^{++}),
 - nel controllare la concentrazione di questi ioni,
 - nella 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.



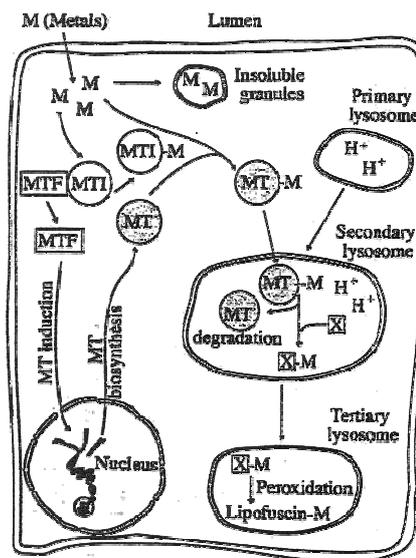
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 75 -

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.



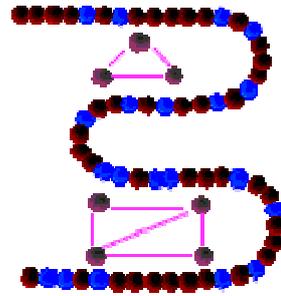
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 76 -

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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 77 -

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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 78 -

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.

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.

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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 81 -

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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 82 -

Struttura

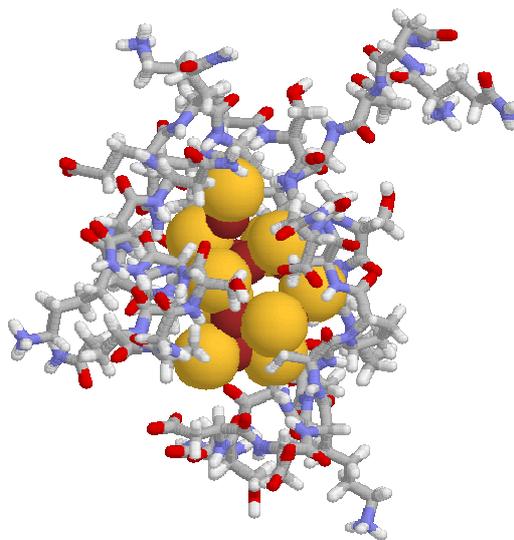
- Nonostante che le sequenze aminoacidiche siano diverse hanno caratteristiche strutturali simili:
 - Forma a manubrio,
 - Due domini,
 - Diverse unità tetraedriche Me(II)-Cys,
 - Tutte le Cys coinvolte nel legame con lo ione metallico
 - Pressoché assente la struttura secondaria.

gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 83 -

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

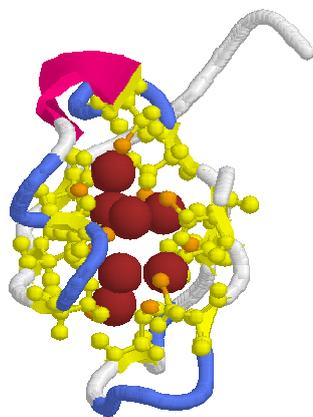


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 84 -

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

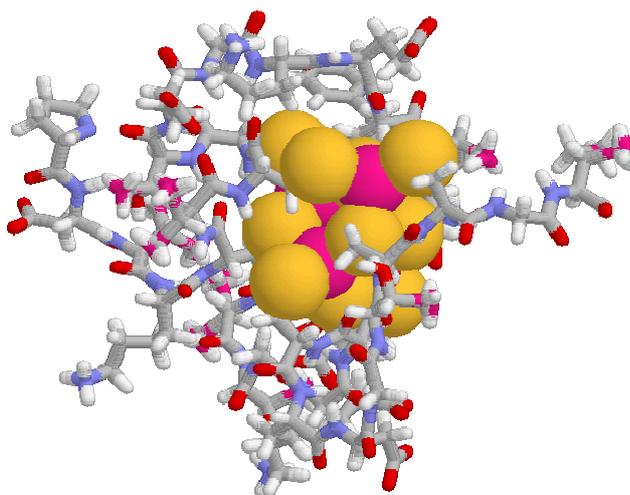


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 85 -

Cd-Metallotioneina da Riccio di mare
Subunità α (1QJH)

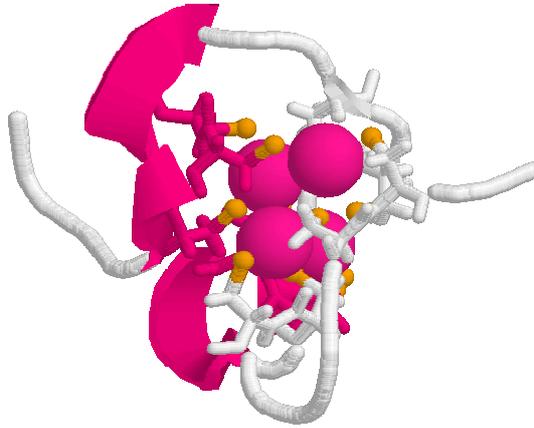


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 86 -

Cd-Metallotioneina da Riccio di mare
Subunità α (1QJH)

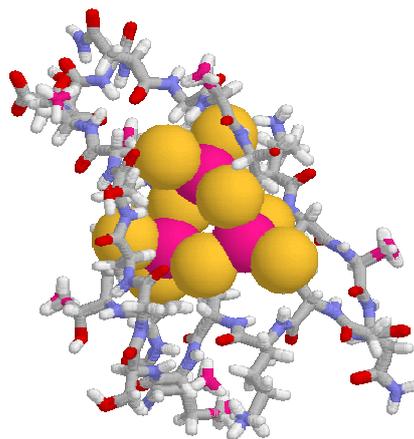


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 87 -

Cd-Metallotioneina da Riccio di mare
Subunità β (1QJL)

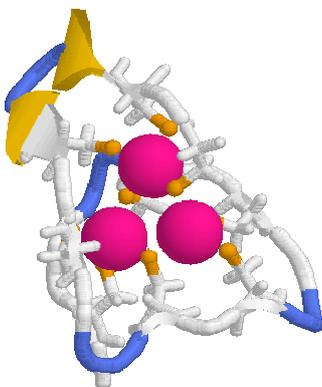


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 88 -

Cd-Metallotioneina da Riccio di mare
Subunità β (1QJL)

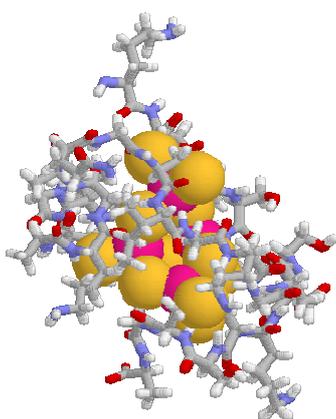


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 89 -

Cd-Metallotioneina umana (1MHU)

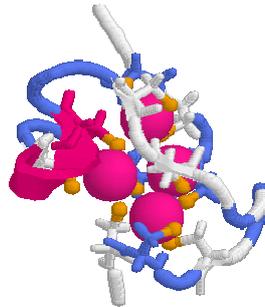


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 90 -

Cd-Metallotioneina umana (1MHU)

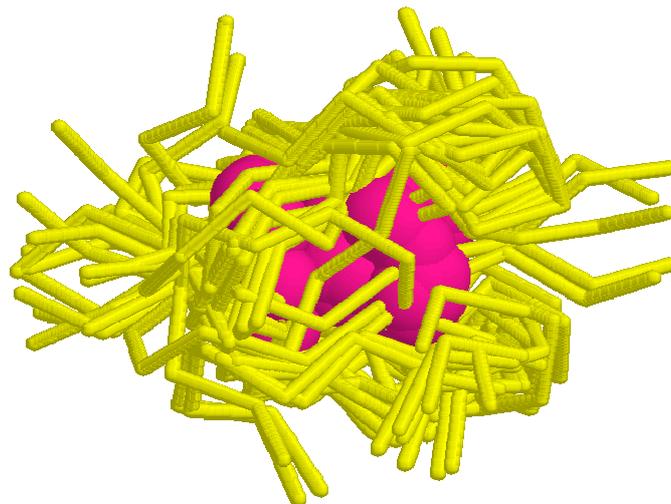


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 91 -

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

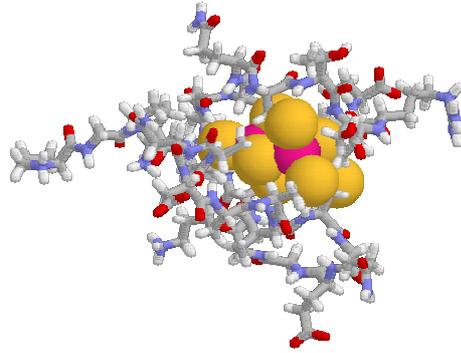


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 92 -

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

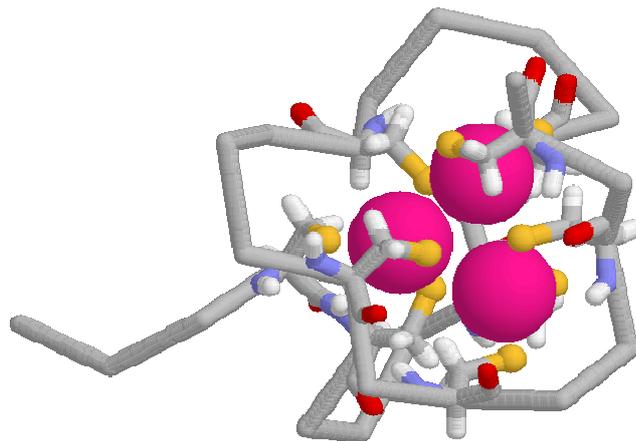


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 93 -

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

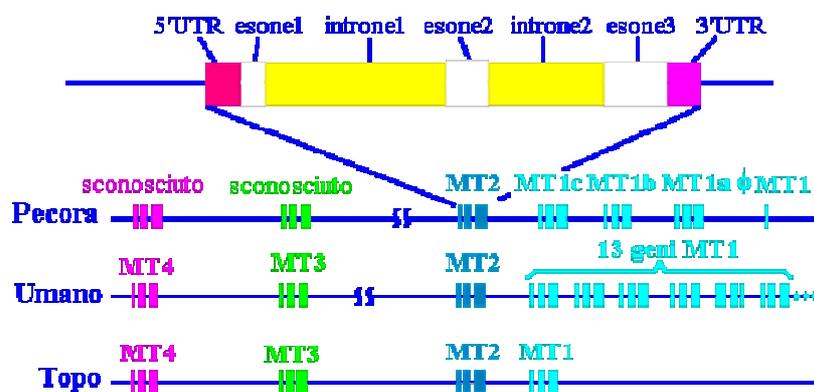


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 94 -

Struttura genica



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 95 -

Aspetti funzionali

- La più importante delle funzionalità delle metallothioneine 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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 96 -

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)

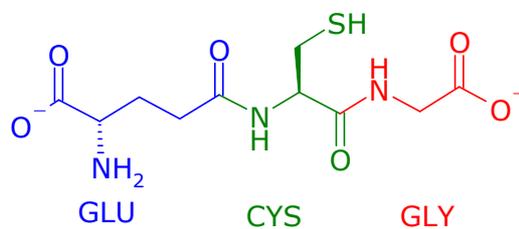
gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 97 -

GSH

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

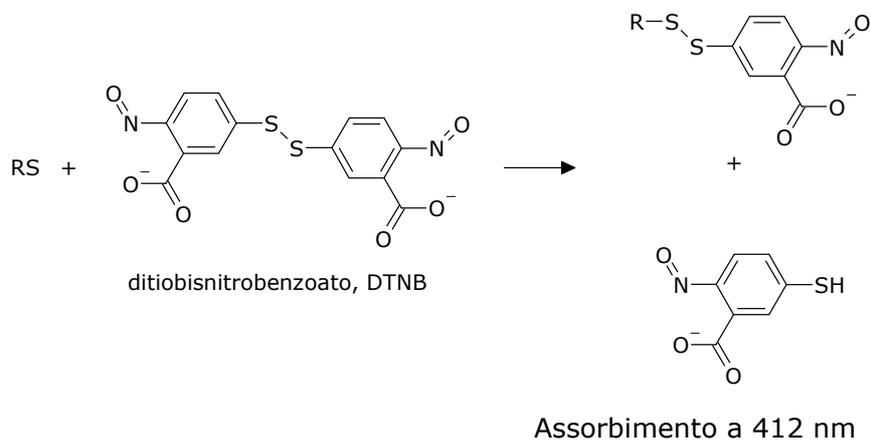


gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 98 -

Reazione di ELLMAN



gs © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 99 -

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 © 2001-2008 ver 3.4

Enzimi di Fase II

- 100 -

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:
<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/>
- 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 a Ravenna

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it