

Metabolismo del ferro e del rame nell'uomo



ACS
Chemistry for Life®

PERIODIC TABLE OF ELEMENTS

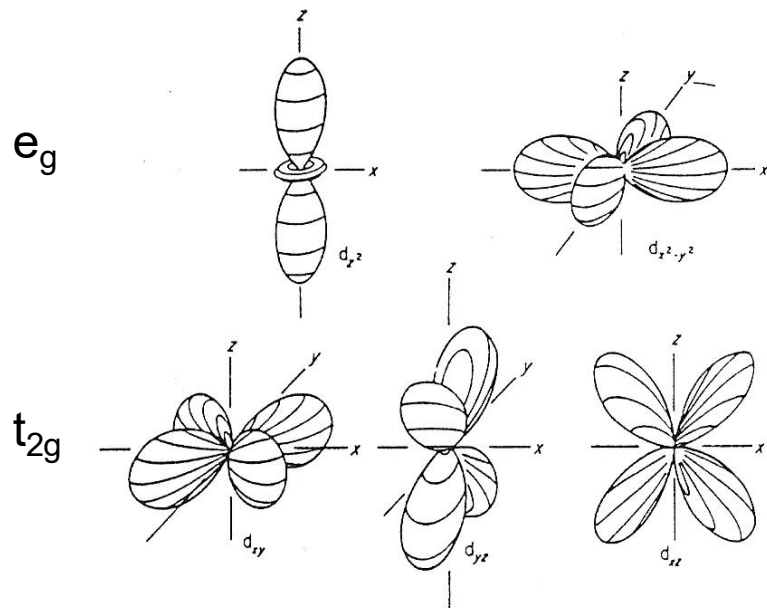
PERIOD	GROUP 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	H Hydrogen 1.008																	He Helium 4.003
2	Li Lithium 6.94	Be Beryllium 9.012											B Boron 10.81	C Carbon 12.01	N Nitrogen 14.01	O Oxygen 16.00	F Fluorine 18.99	Ne Neon 20.18
3	Na Sodium 22.99	Mg Magnesium 24.31											Al Aluminum 26.98	Si Silicon 28.09	P Phosphorus 30.97	S Sulfur 32.06	Cl Chlorine 35.45	Ar Argon 39.95
4	K Potassium 39.10	Ca Calcium 40.08	Sc Scandium 44.96	Ti Titanium 47.88	V Vanadium 50.94	Cr Chromium 52.00	Mn Manganese 54.94	Fe Iron 55.85	Co Cobalt 58.93	Ni Nickel 58.69	Cu Copper 63.55	Zn Zinc 65.39	Ga Gallium 69.72	Ge Germanium 72.64	As Arsenic 74.92	Se Selenium 78.96	Br Bromine 79.90	Kr Krypton 83.79
5	Rb Rubidium 85.47	Sr Strontium 87.62	Y Yttrium 88.91	Zr Zirconium 91.22	Nb Niobium 92.91	Mo Molybdenum 95.96	Tc Technetium (98)	Ru Ruthenium 101.1	Rh Rhodium 100.9	Pd Palladium 106.4	Ag Silver 107.9	Cd Cadmium 112.4	In Indium 114.8	Sn Tin 118.7	Sb Antimony 121.8	Te Tellurium 127.6	I Iodine 126.9	Xe Xenon 131.3
6	Cs Cesium 132.9	Ba Barium 137.3	57-71 Lanthanides	Hf Hafnium 178.5	Ta Tantalum 180.9	W Tungsten 183.8	Re Rhenium 186.2	Os Osmium 190.2	Ir Iridium 192.2	Pt Platinum 195.1	Au Gold 197.0	Hg Mercury 200.5	Tl Thallium 204.38	Pb Lead 207.2	Bi Bismuth 208.9	Po Polonium (209)	At Astatine (210)	Rn Radon (222)
7	Fr Francium (223)	Ra Radium (226)	89-103 Actinides	Rf Rutherfordium (261)	Db Dubnium (261)	Sg Seaborgium (263)	Bh Bohrium (264)	Hs Hassium (277)	Mt Meitnerium (268)	Ds Darmstadtium (281)	Rg Roentgenium (281)	Cn Copernicium (285)	Nh Nihonium (284)	Fl Flerovium (289)	Mc Moscovium (289)	Lv Livermorium (293)	Ts Tennessine (294)	Og Oganesson (294)

- Alkali Metals
- Alkaline Earth Metals
- Transition Metals
- Other Metals
- Metalloids
- Non-metals
- Halogens
- Noble Gases
- Lanthanides
- Actinides

78 — Atomic Number
Pt — Symbol
Platinum — Name
195.1 — Average Atomic Mass

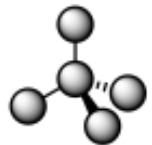
La Lanthanum 138.9	Ce Cerium 140.1	Pr Praseodymium 140.9	Nd Neodymium 144.2	Pm Promethium (145)	Sm Samarium 150.4	Eu Europium 152.0	Gd Gadolinium 157.3	Tb Terbium 158.9	Dy Dysprosium 162.5	Ho Holmium 164.9	Er Erbium 167.3	Tm Thulium 168.9	Yb Ytterbium 173.0	Lu Lutetium 175.0
Ac Actinium (227)	Th Thorium 232.0	Pa Protactinium 231.0	U Uranium 238.0	Np Neptunium (237)	Pu Plutonium (244)	Am Americium (243)	Cm Curium (247)	Bk Berkelium (247)	Cf Californium (251)	Es Einsteinium (252)	Fm Fermium (257)	Md Mendelevium (258)	No Nobelium (259)	Lr Lawrencium (262)

Gli orbitali d degli elementi di transizione

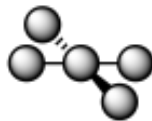


- Gli elementi di transizione sono coordinati da ligandi che contengono azoto (His, Gln...) zolfo (Cys, Met), ossigeno (Glu, Asp, Tyr, acqua...)
- Le geometrie di legame variano a seconda del numero di coordinazione, che va da 3 a 8 (4-6 sono i più frequenti)

4-coordinate

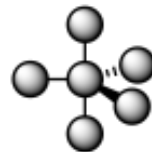


tetrahedral

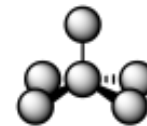


square
planar

5-coordinate



trigonal
bipyramidal



square
pyramidal

6-coordinate



octahedral

Ruolo biologico del ferro e del rame

Ferro e rame sono metalli **essenziali** per tutti gli organismi perchè sono legati a proteine indispensabili per la vita della cellula: respirazione, fotosintesi, fissazione dell'azoto, ciclo di Krebs, trasporto dell'ossigeno, sintesi di DNA, regolazione genica etc.

- Fe

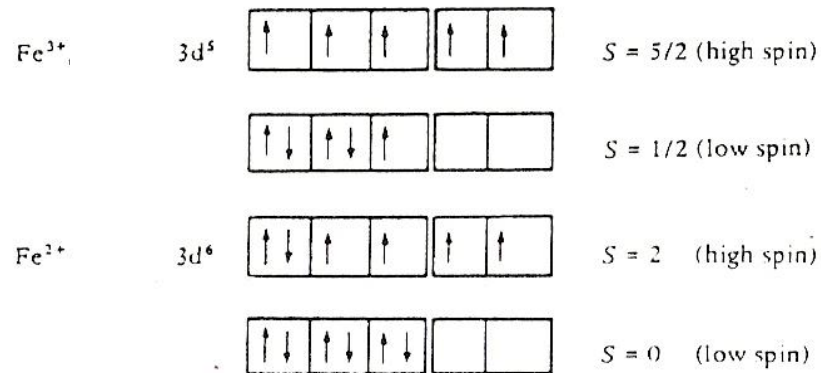
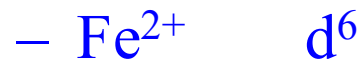
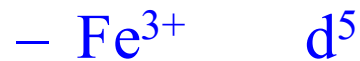
- citocromo ossidasi
- proteine a **eme** (citocromi, emoglobina e mioglobina)
- proteine con **cluster Fe-S** (catena di trasporto degli elettroni, nitrogenasi)
- proteine a ferro non-eme

- Cu

- citocromo ossidasi
- superossido dismutasi
- ceruloplasmina
- lisil ossidasi
- tirosinasi
- dopamina β idrossilasi
- monoammino ossidasi

Il ferro

- In condizioni fisiologiche il ferro si trova in due stati di ossidazione:

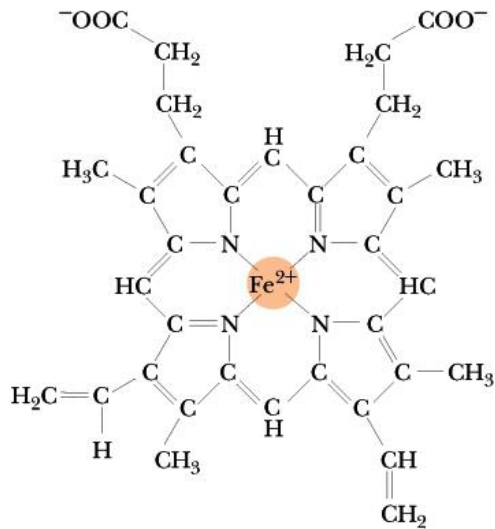


Il potenziale redox del ferro nelle proteine varia da -300 mV a +700 mV

Fe^{2+} è instabile in aerobiosi ed è rapidamente ossidato a pH 7

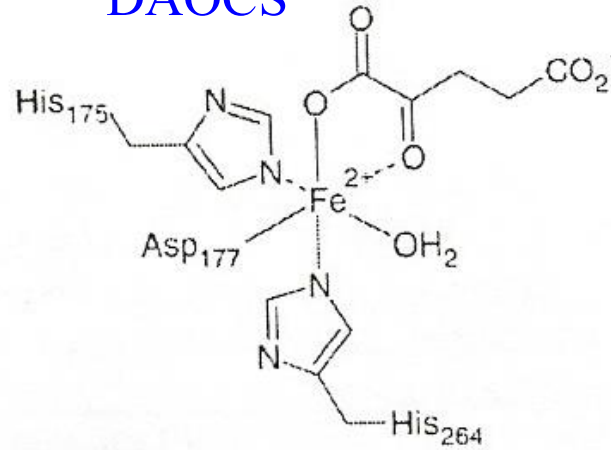
Fe^{3+} è insolubile a pH 7 (10^{-18} M)

Alcune strutture di siti di legame del ferro nelle proteine

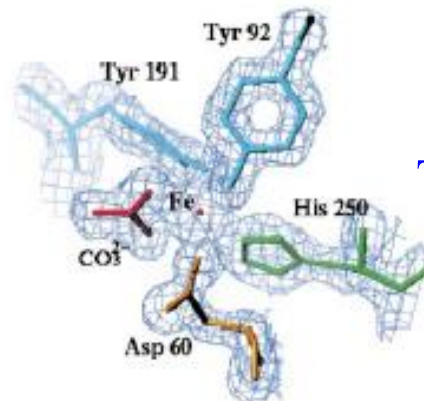
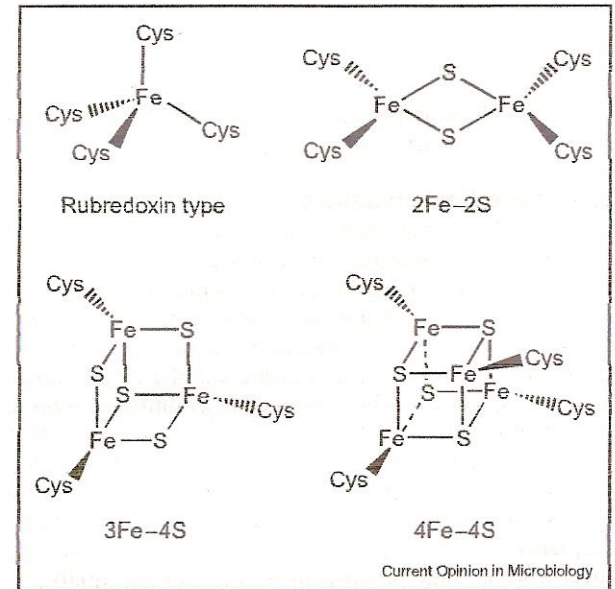


Heme
(Fe-protoporfirina IX)

DAOCS



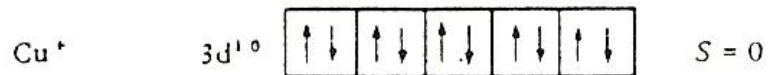
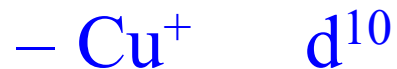
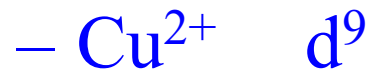
Cluster Fe-S



Transferrina

Il rame

- In condizioni fisiologiche il rame si trova in due stati di ossidazione :



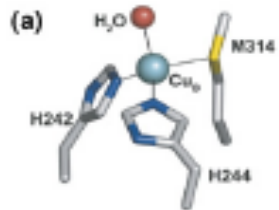
Il potenziale redox del rame nelle proteine varia da

+200 mV a +750 mV

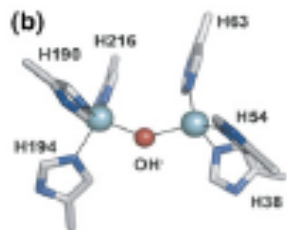
Cu^+ è instabile in aerobiosi ed è rapidamente ossidato a pH 7

Sia Cu^{2+} che Cu^+ sono solubili a pH 7

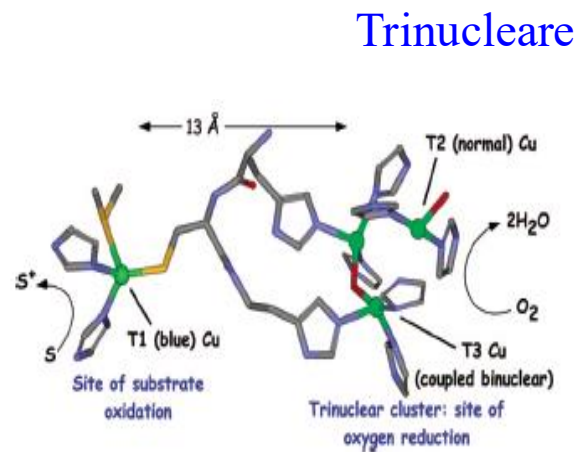
Alcune strutture di siti di legame per il rame nelle proteine



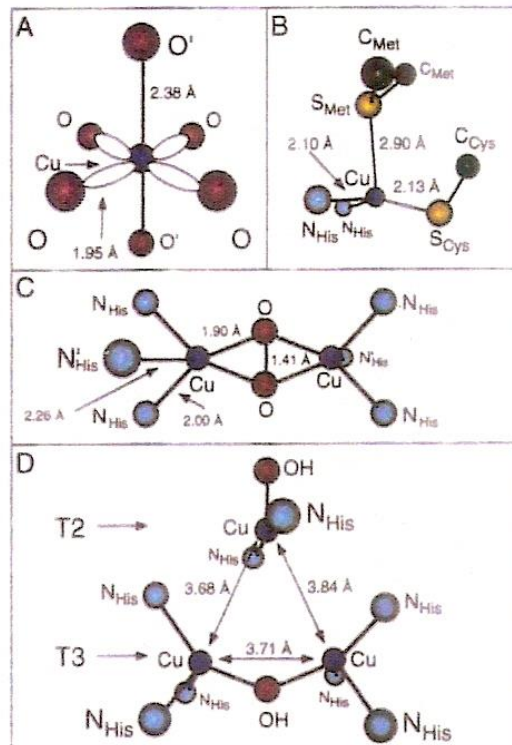
Mononucleare



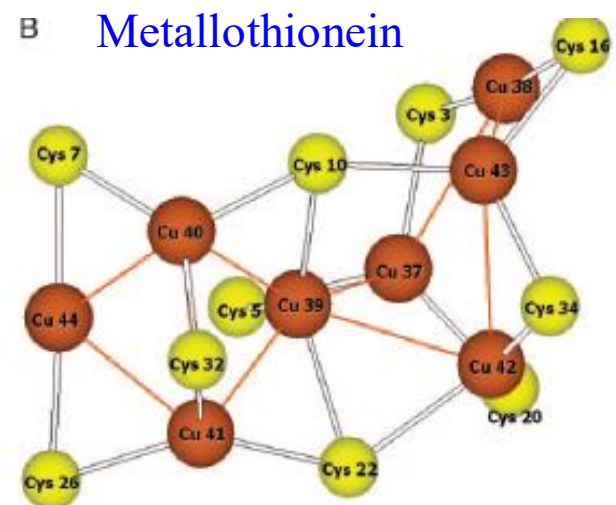
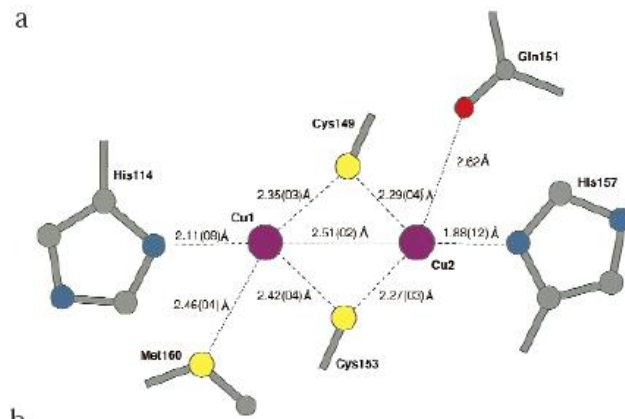
Binucleare



Trinucleare



CuA cytochrome oxidase

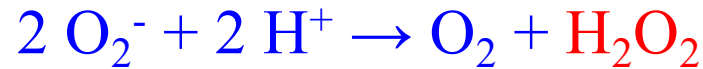


Metallothionein

Tossicità del ferro e del rame

Ferro e rame sono **tossici** se presenti a livelli elevati e se non sono complessati a proteine perché reagiscono con O_2 generando specie reattive dell'ossigeno (ROS) che danneggiano proteine, DNA e lipidi (membrane)

Reazione di Haber-Weiss catalizzata da metalli



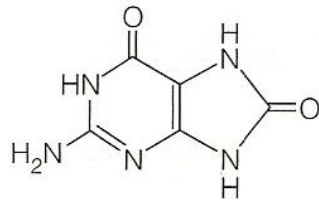
Reazioni di ossidazione catalizzate da metalli

- Proteine: modificazioni degli ammino acidi

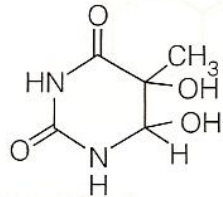
Ammino acido	Prodotto di ossidazione
Cysteine	Disulfide, cysteic acid
Methionine	Methionine sulfoxide, sulfone
Tryptophan	Hydroxytryptophan, nitrotryptophan, kynurenine
Phenylalanine	2,3-dihydroxyphenylalanine, hydroxyphenylalanine
Tyrosine	3,4 dihydroxyphenylalanine, tyrosine dimers, dinitrotyrosine
Histidine	2-oxohistidine, asparagine, aspartate
Arginine	Glutamic semialdehyde
Lysine	α -aminoadipic semialdehyde
Proline	2-pyrrolidone, hydroxyproline, glutamic semialdehyde
Threonine	2- amino- 3- ketobutirrate
Glutamate/glutamine	Oxalate, piruvate

Reazioni di ossidazione catalizzate da metalli

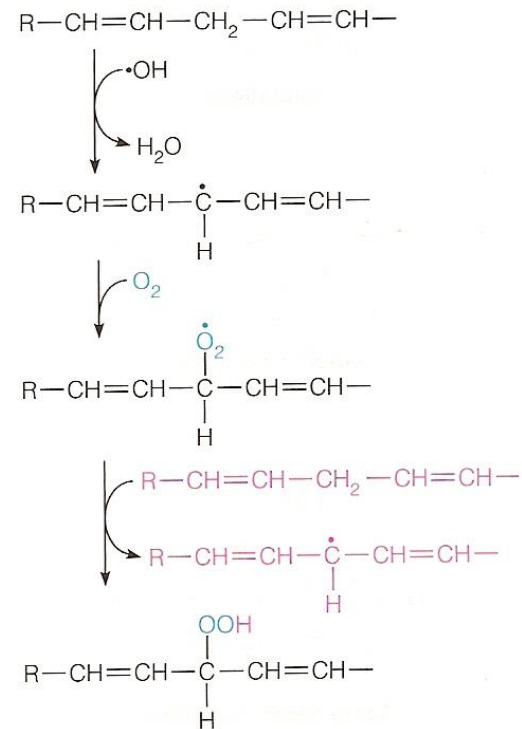
- DNA: ossidazione delle basi
- Lipidi: perossidazione



8-Ossoguanina



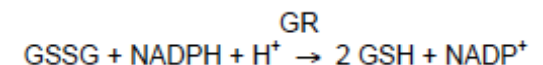
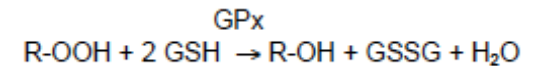
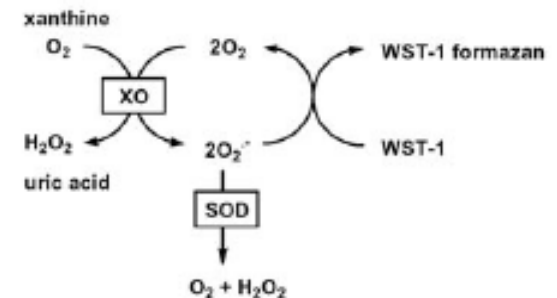
Glicole della timina



Perossidazione dei lipidi

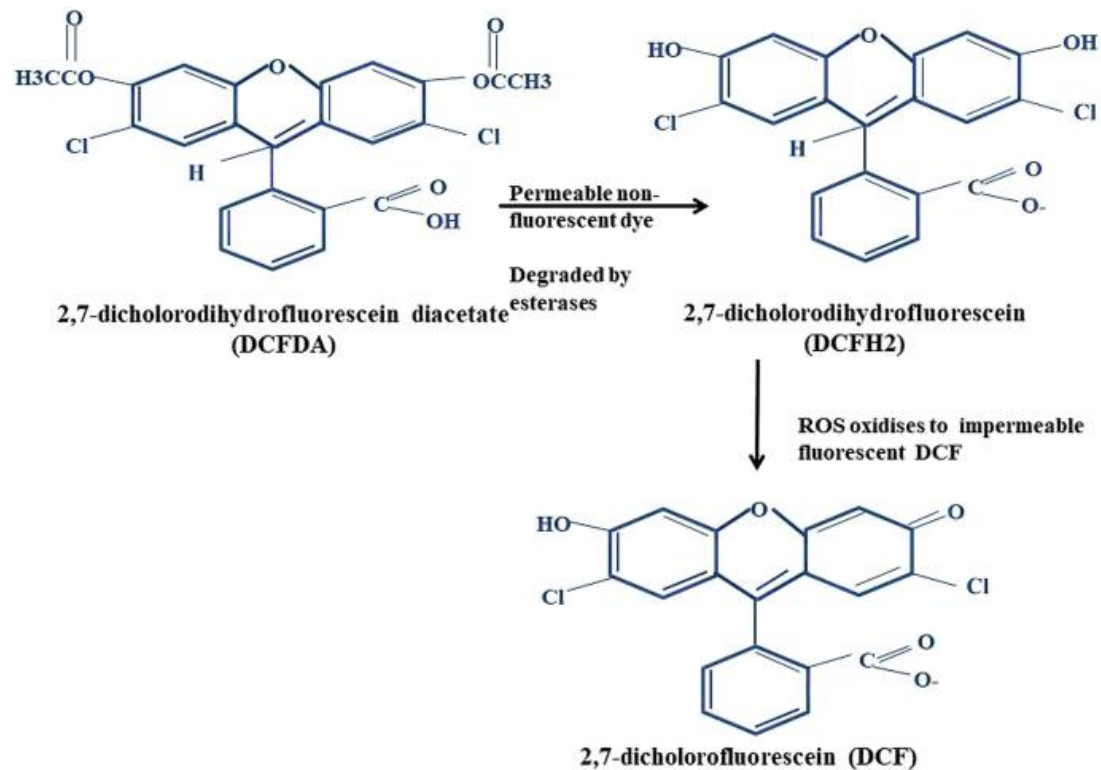
Come si misura lo stress ossidativo?

- Indicatori di stress ossidativo
 - Enzimi antiossidanti (SOD, catalasi, perossidasi): misura dell'attività enzimatica o dei livelli di espressione
 - Antiossidanti non-enzimatici (glutazione, vitamina E)
- Superossido dismutasi (SOD)
 - Misura spettrofotometrica a 440 nm dell'inibizione della produzione di formazano in presenza di superossido
- Catalasi
 - Misura spettrofotometrica di H_2O_2 a 240 nm
- Glutazione perossidasi
 - Saggio accoppiato che misura il consumo di NADPH a 340 nm



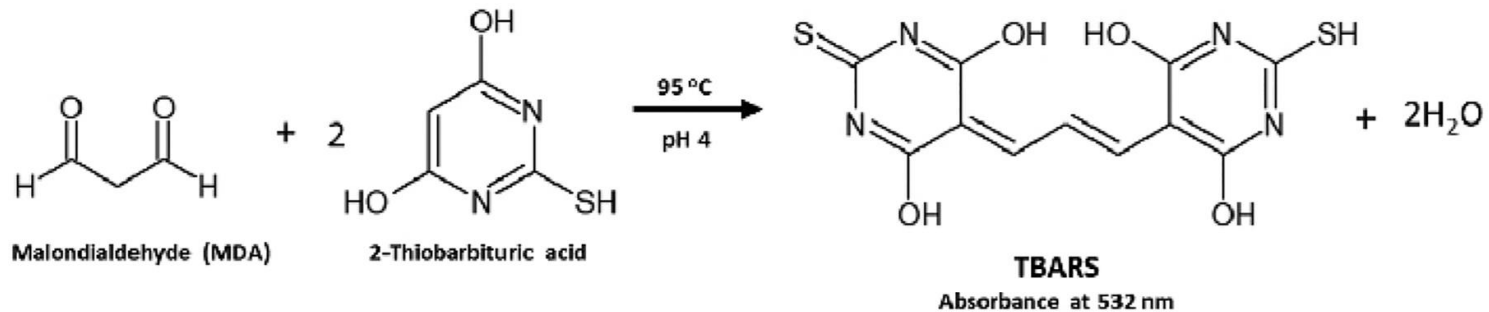
Come si misura lo stress ossidativo?

- Misura di specie reattive dell'ossigeno e dell'azoto con sonde fluorescenti come DCFDA (dichlorofluorescein diacetate) o DAF (diaminofluorescein) o cromogeni come NBT (nitroblue tetrazolium)



Come si misura lo stress ossidativo?

- Saggi di misura di molecole danneggiate da stress ossidativo
 - Malondialdeide (MDA), proteine ossidate



Controllo della tossicità di ferro e rame

- Sistemi di detossificazione delle specie reattive dell'ossigeno (ROS)
 - Enzimatici: superossido dismutasi, catalasi e glutazione perossidasi
 - Non enzimatici: vitamine E e C, glutazione, acido urico, bilirubina ecc.
- Sistemi di riparo e proteine di deposito
 - Ferritina
 - Metallotioneina
- I meccanismi cellulari di acquisizione del ferro e del rame sono finemente regolati per mantenere adeguati livelli intracellulari di questi metalli

Patologie associate a dismetabolismo del rame o del ferro

Patologia	Gene mutato	
Sindrome di Menkes	ATP7A	Carenza di rame (difettoso assorbimento del rame)
Morbo di Wilson	ATP7B	Accumulo di rame nel fegato e nel cervello
Emocromatosi di tipo I-IV	HFE, TfR2, HJV, HAMP, Fpn	Accumulo di ferro in diversi organi
Atassia di Friedreich	Frataxina	Neurodegenerazione e accumulo di ferro in specifiche regioni del cervello
Aceruloplasminemia	Ceruloplasmina	
Sindrome di Hallervorden-Spatz	PKAN-2	
Neuroferritinopatia	L-ferritina	
Corea di Huntington		
Morbo di Alzheimer		
Morbo di Parkinson		

Omeostasi sistemica del ferro

Il ferro viene assorbito dagli **enterociti** nel duodeno, rilasciato nel sangue e trasportato ai diversi organi dalla transferrina. I **macrofagi** reticoloendoteliali costituiscono il sito principale di riciclaggio del ferro dagli eritrociti senescenti.

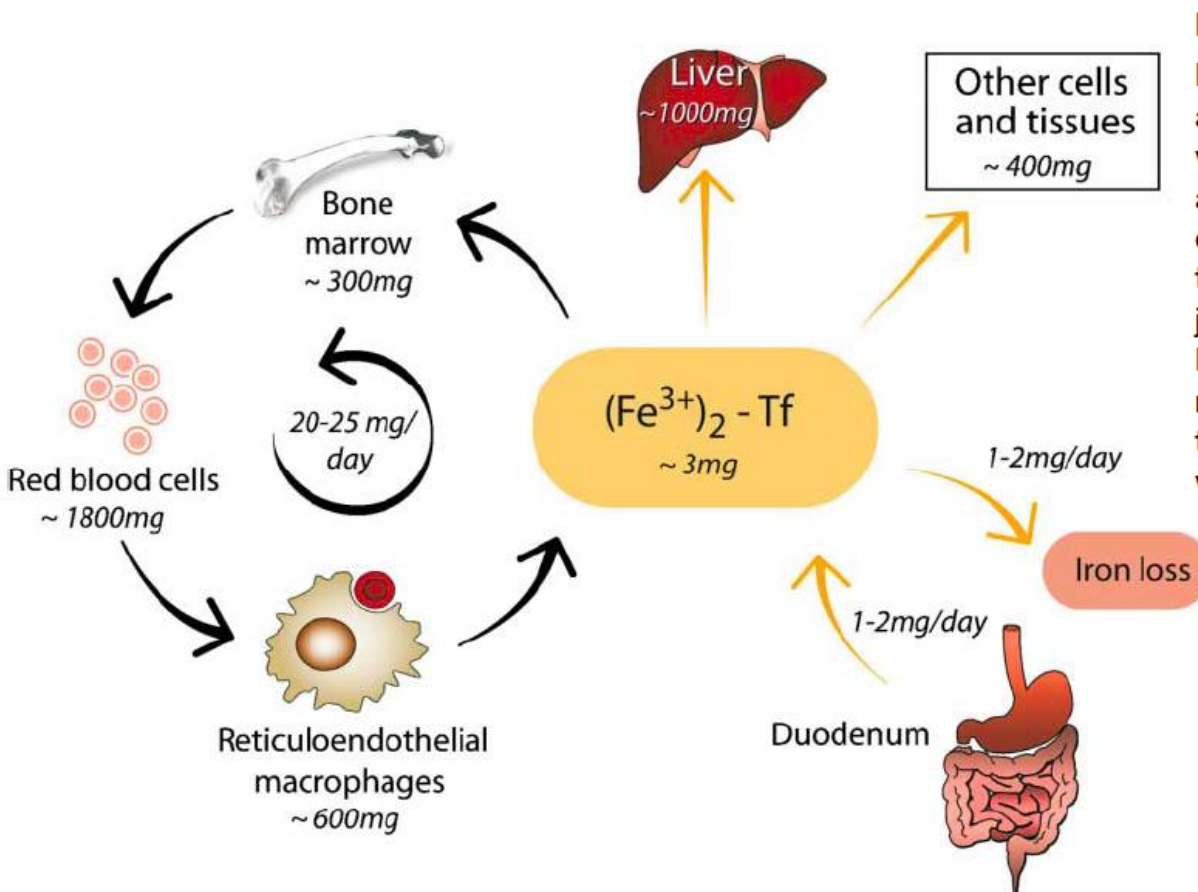


Figure 3. Systemic Iron Homeostasis

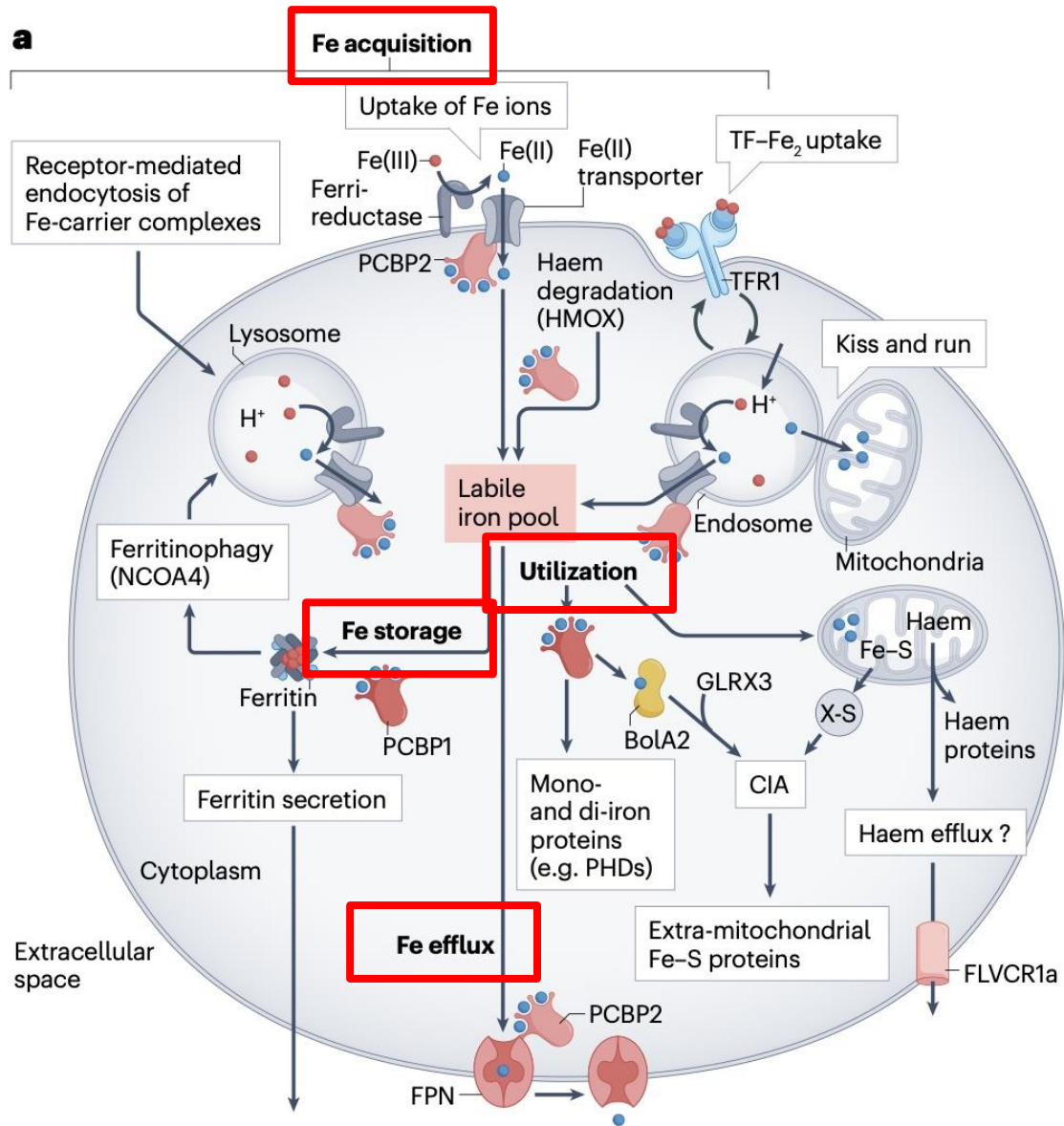
Major pathways of iron traffic between cells and tissues are depicted. Normal (human) values for the iron content of different organs and tissues are stated, and the approximate daily fluxes of iron are also indicated. Note that these values are approximate and subject to significant person-to-person variation. Iron losses result from sloughing of skin and mucosal cells as well as blood loss. Importantly, there exists no regulated excretion pathway to control systemic iron homeostasis.

Table 1 Some mammalian proteins of iron transport and its regulation

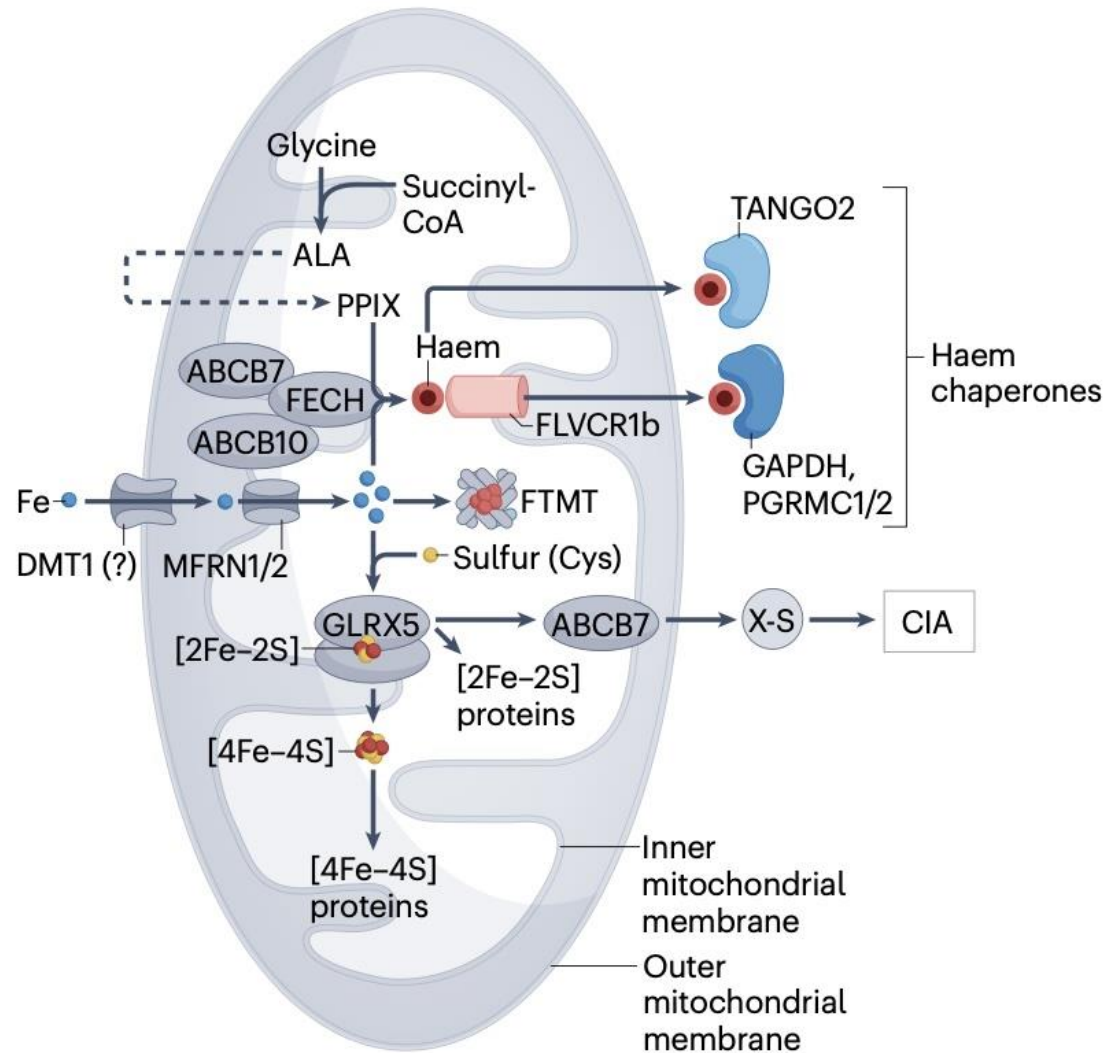
Protein	Protein abbreviation	Gene symbol ^a	Function/role in iron metabolism	Consequence of mutation or deletion
<i>Iron uptake</i>				
Transferrin	Tf	<i>TF</i>	Plasma iron transport	Iron deficiency anemia with tissue iron overload Human disease: atransferrinemia
Transferrin receptor 1	TfR1	<i>TFRC</i>	Internalization of diferric transferrin	Embryonic lethality in homozygote. Mild anemia in heterozygotes.
Divalent metal-ion transporter 1	DMT1	<i>SLC11A2</i>	Ferrous iron importer	Iron deficiency anemia Human disease: refractory hypochromic, microcytic anemia
Six transmembrane epithelial antigen of prostate protein 3	STEAP3	<i>STEAP3</i>	Iron reductase of erythroid cells	Iron deficiency anemia
Exocyst complex component 6	SEC15L1	<i>EXOC6</i>	Vesicle trafficking	Iron deficiency anemia
Duodenal cytochrome B	DCYTB	<i>CYBRD1</i>	Enterocyte brush border reductase	No overt phenotype
<i>Iron recovery</i>				
Hemopexin	HPX	<i>HPX</i>	Heme binding	No phenotype unless stressed by hemolysis; then extensive renal damage
Haptoglobin	HP	<i>HP</i>	Hemoglobin binding	No phenotype unless stressed by hemolysis; then extensive renal damage
<i>Iron export</i>				
Ferroportin	FPN	<i>SLC40A1</i>	Ferrous iron exporter	Iron overload in heterozygous state; embryonic lethality in homozygotes Human disease: hemochromatosis type 4
Ceruloplasmin	Cp	<i>CP</i>	Iron oxidase	Iron overload; CNS dysfunction Human disease: aceruloplasminemia
Hephaestin	Hp	<i>HEPH</i>	Iron oxidase (gut and CNS)	Iron deficiency anemia
Feline leukemia virus, type C, receptor	FLVCR	<i>FLVCR1</i>	Heme export protein	Embryonic lethality. Erythropoietic and developmental abnormalities
<i>Mitochondrial iron transport</i>				
Mitoferrin	MFRN	<i>SLC25A37</i>	Mitochondrial iron importer	Iron deficiency anemia; Erythroid maturation arrest
ABC transporter type B7	ABCB7	<i>ABCB7</i>	Mitochondrial Fe-S export	Mitochondrial iron loading Human disease: X-linked sideroblastic anemia
<i>Cellular regulation</i>				
Iron regulatory protein 1	IRP1	<i>ACO1</i>	Iron-dependent RNA binding protein	Negligible. Some abnormalities in brown fat and kidney.
Iron regulatory protein 2	IRP2	<i>IREB2</i>	Iron-dependent RNA binding protein	Anemia; CNS abnormalities of varying severity
<i>Systemic regulation</i>				
Hepcidin	HEPC	<i>HAMP</i>	Regulator of iron release into plasma	Severe iron overload Human disease: hemochromatosis type 2B
Hemochromatosis protein	HFE	<i>HFE</i>	Regulator of hepcidin	Iron overload Human disease: hemochromatosis type 1
Transferrin receptor 2	TfR2	<i>TFR2</i>	Regulator of hepcidin	Iron overload Human disease: hemochromatosis type 3
Hemojuvelin	HJV	<i>HFE2</i>	Regulator of hepcidin	Severe iron overload Human disease: hemochromatosis type 2A

^a Human Genome Organization approved symbol

Metabolismo cellulare del ferro in mammiferi



Metabolismo mitocondriale del ferro



Biosintesi dell'eme

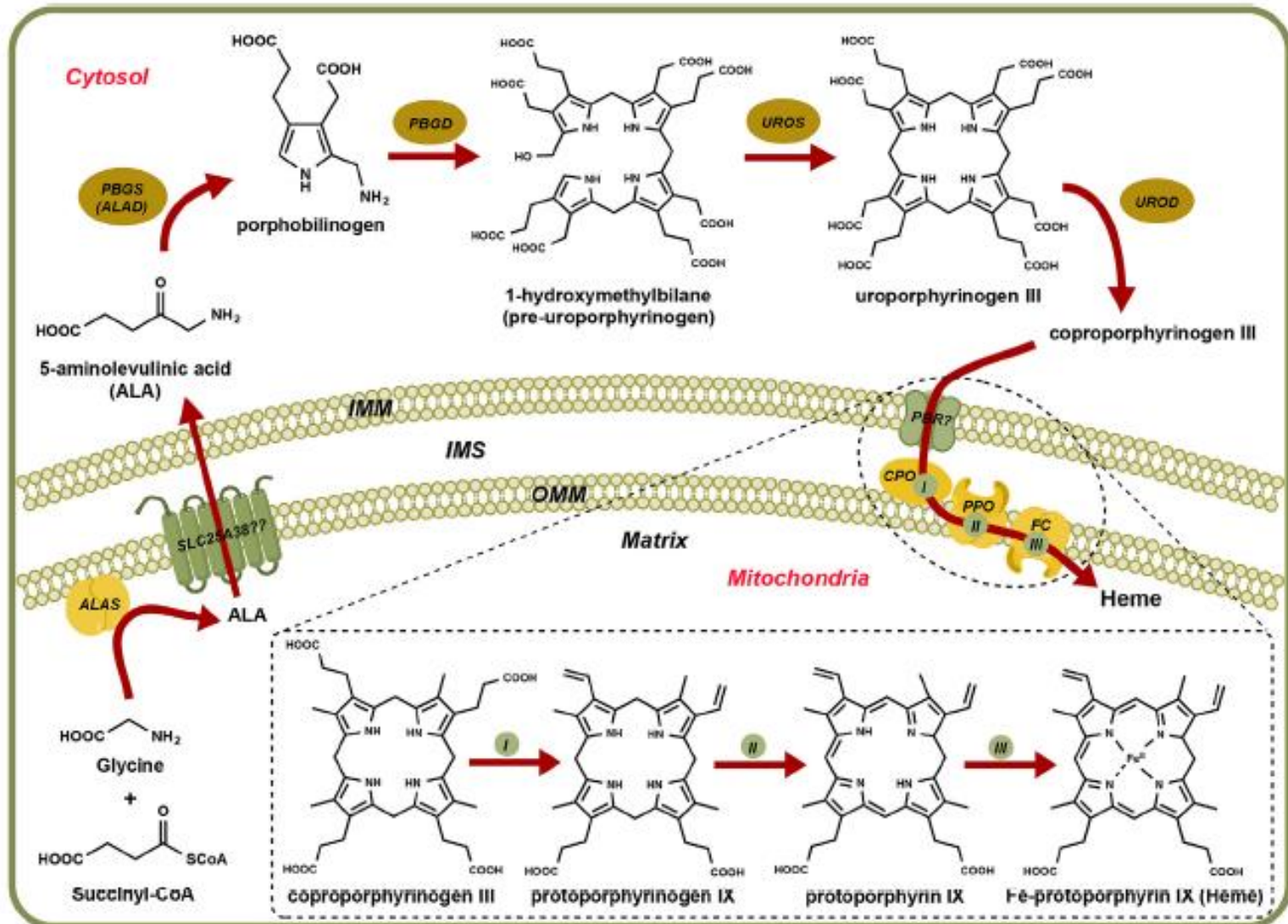
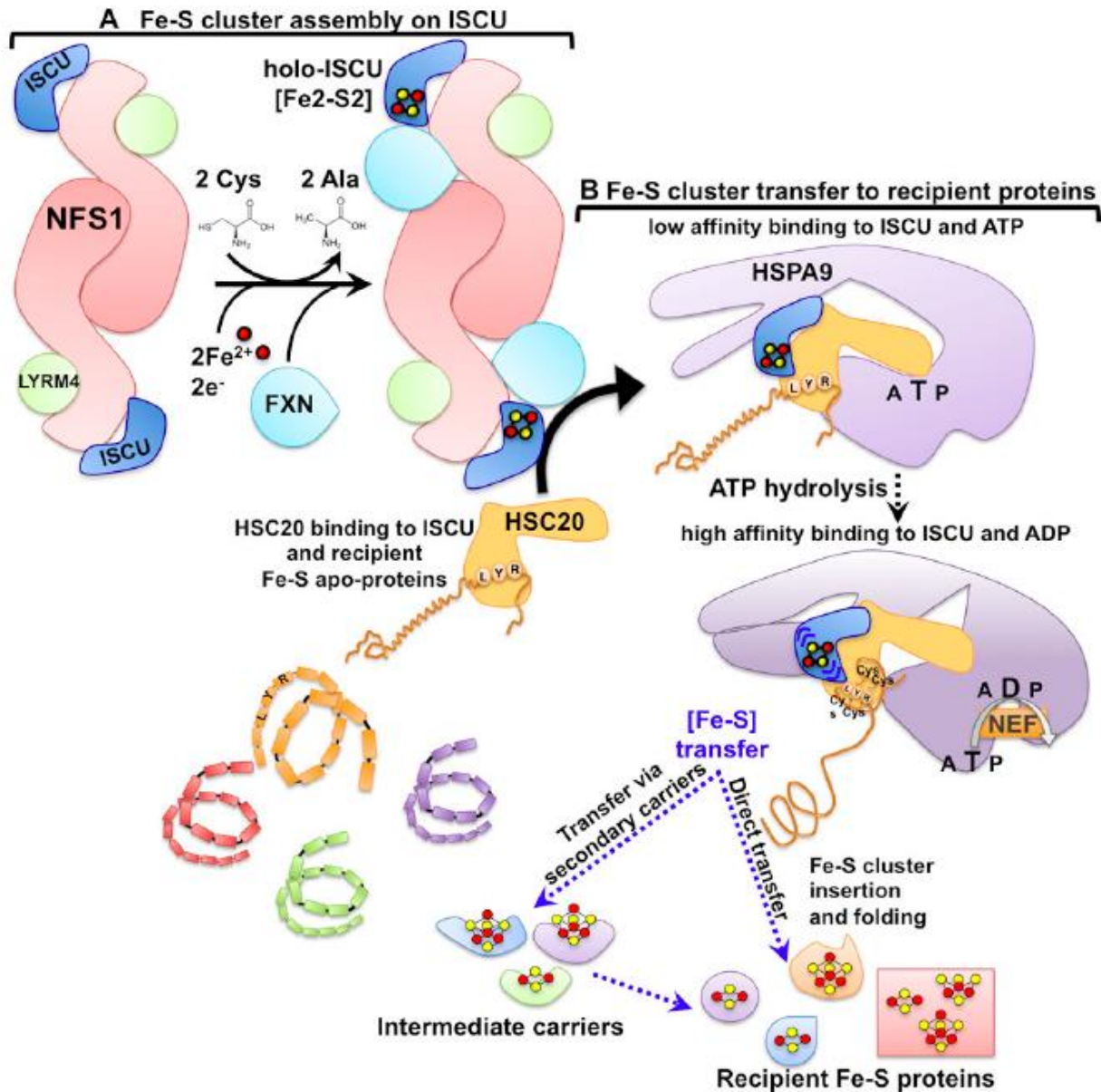


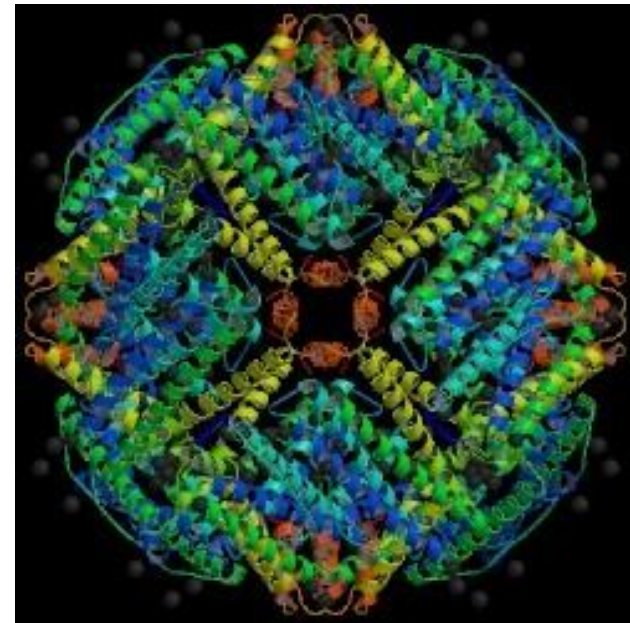
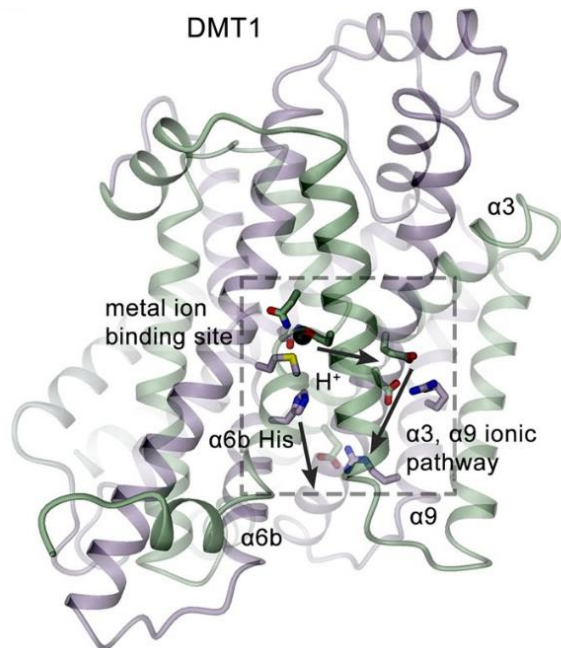
Fig. 4. Heme biosynthesis pathway. ALA: 5-aminolevulinic acid, ALAS: ALA synthase, PBGS: porphobilinogen synthase, ALAD: ALA dehydratase, PBGD: porphobilinogen deaminase, UROS: uroporphyrinogen synthase, UROD: uroporphyrinogen decarboxylase, PBR: peripheral-type benzodiazepine receptor, CPO: coproporphyrinogen III oxidase, PPO: protoporphyrinogen IX oxidase, FC: Ferrochelatase, IMM: inner mitochondrial membrane, IMS: intermembrane space, OMM: outer mitochondrial membrane.

Biosintesi dei cluster Fe-S nei mitocondri



Proteine dell'assorbimento e deposito del ferro

- **DMT1** (SLC11A2) è un co-trasportatore di cationi bivalenti e H^+ espresso in molti tessuti (enterociti, cellule eritroidi, rene, polmone, cervello...).
- Ha un ruolo nell'**assorbimento** del ferro nel duodeno e nel meccanismo di rilascio del ferro dalla transferrina.
- La **Ferritina** è la principale proteina di **deposito** intracellulare del ferro. E' formata da 24 subunità di tipo H e di tipo L ed è in grado di legare fino a 4500 atomi di ferro.



Il ciclo Transferrina-TfR per l'acquisizione cellulare del ferro

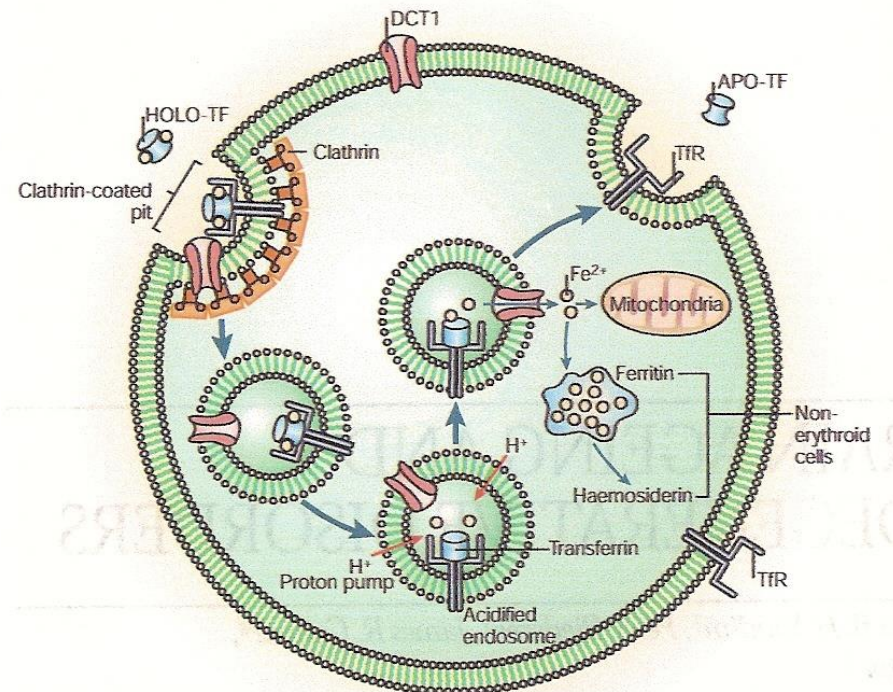
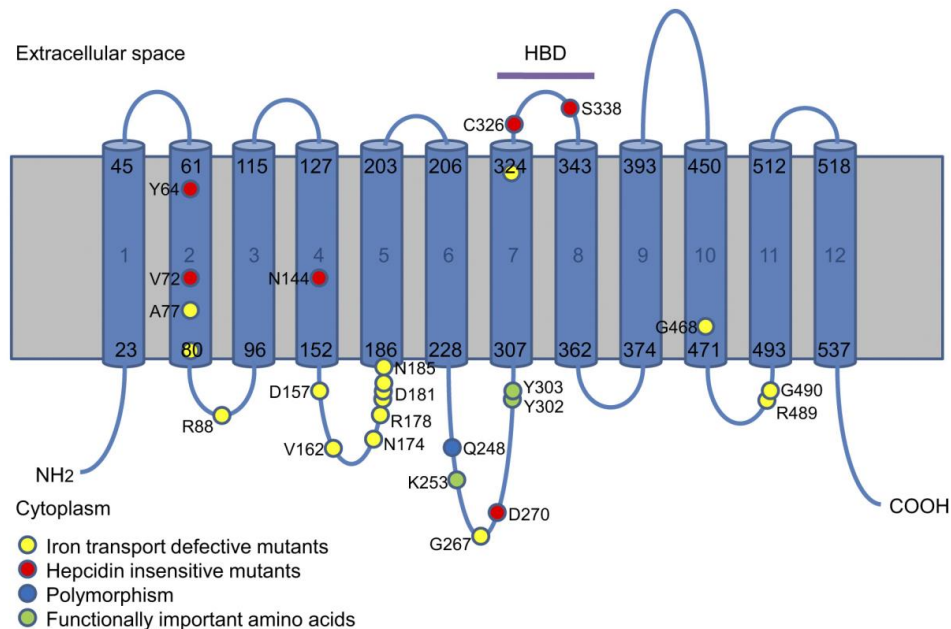


Figure 1 | **The Tf cycle.** Holotransferrin (HOLO-TF) binds to the transferrin receptor (TfR) at the cell surface. These complexes localize to clathrin-coated pits, which invaginate to initiate endocytosis. Specialized endosomes form, which are acidified by a proton pump. When the required acidic pH is reached, iron is released from transferrin (Tf) and is co-transported, with the protons, out of the endosomes by the divalent cation transporter DCT1. Apotransferrin (APO-TF) is returned to the cell membrane bound to TfR, where, at neutral pH, they dissociate to participate in further rounds of iron delivery. The iron can be targeted to the mitochondria. In non-erythroid cells, iron is stored in the form of ferritin and haemosiderin.

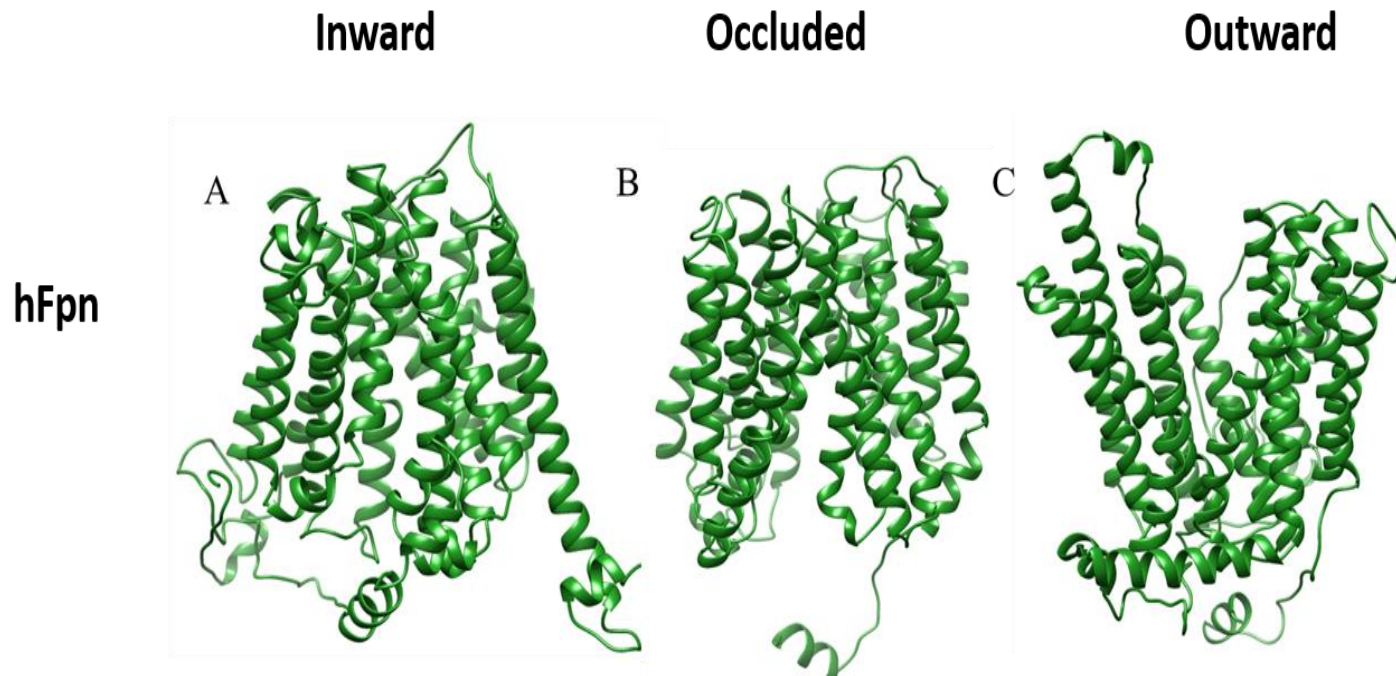
Esporto del ferro dalle cellule: la ferroportina

- La **Ferroportina** è l'unico esportatore del ferro dalle cellule finora identificato.
- È espressa sulla membrana basolaterale degli enterociti, nei macrofagi, negli astrociti e negli epatociti.
- Mutazioni della ferroportina causano accumulo di ferro nel fegato o nei macrofagi reticoloendoteliali.



Esporto del ferro dalle cellule: la ferroportina

La ferroportina appartiene alla Major Facilitator Superfamily, trasportatori di membrana che ciclano tra diverse conformazioni per traslocare il substrato attraverso la membrana.



Ferrossidasi: ceruloplasmina ed efestina

- Le ferrossidasi **ceruloplasmina** ed **efestina** appartengono alla famiglia delle ossidasi blu multinucleari a **rame** (MCO) e catalizzano l'ossidazione del Fe^{2+} a Fe^{3+} con riduzione dell' O_2 ad H_2O .
- Le ferrossidasi collaborano con la ferroportina ossidando il Fe^{2+} esportato da quest'ultima, facilitandone l'incorporazione nella transferrina.

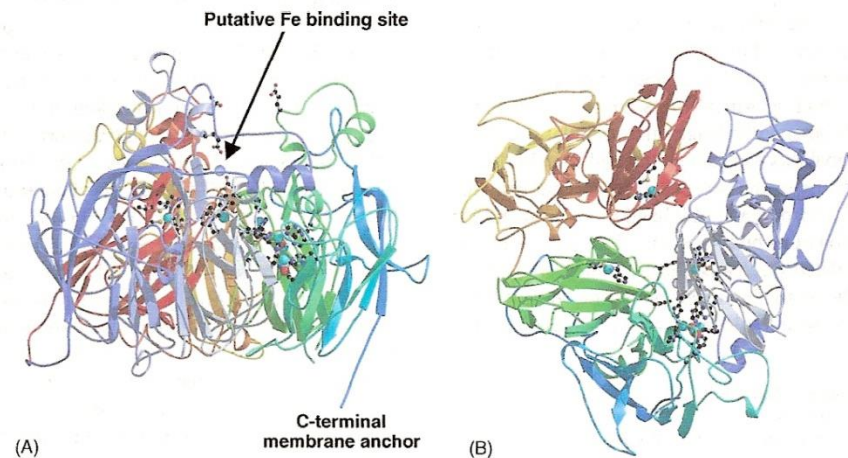
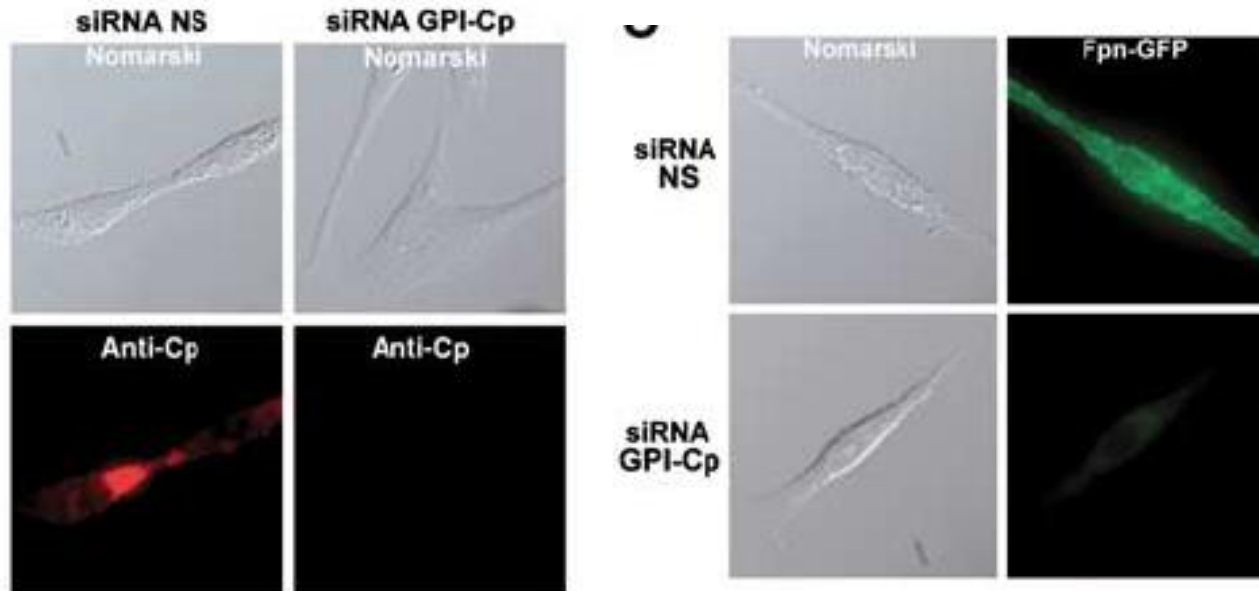


Fig. 1. Predicted molecular structure of hephaestin. Used with permission (Syed et al., 2002). (A) Side view of human hephaestin molecule. (B) Top view of the molecule. The copper atoms are represented as light blue spheres, oxygen atoms are red.

L'attività ferrossidasica della ceruloplasmina (e dell'efestina) è necessaria per mantenere la ferroportina sulla superficie della cellula

Una isoforma della ceruloplasmina è ancorata alla membrana mediante un'ancora GPI ed è espressa principalmente negli astrociti e nei macrofagi.

La mancanza di ceruloplasmina in queste cellule causa la scomparsa della ferroportina dalla superficie cellulare e ciò potrebbe spiegare l'accumulo di ferro riscontrato in pazienti affetti da aceruloplasminemia.



Omeostasi cellulare del ferro.

Il sistema IRE/IRP: regolazione post-trascrizionale

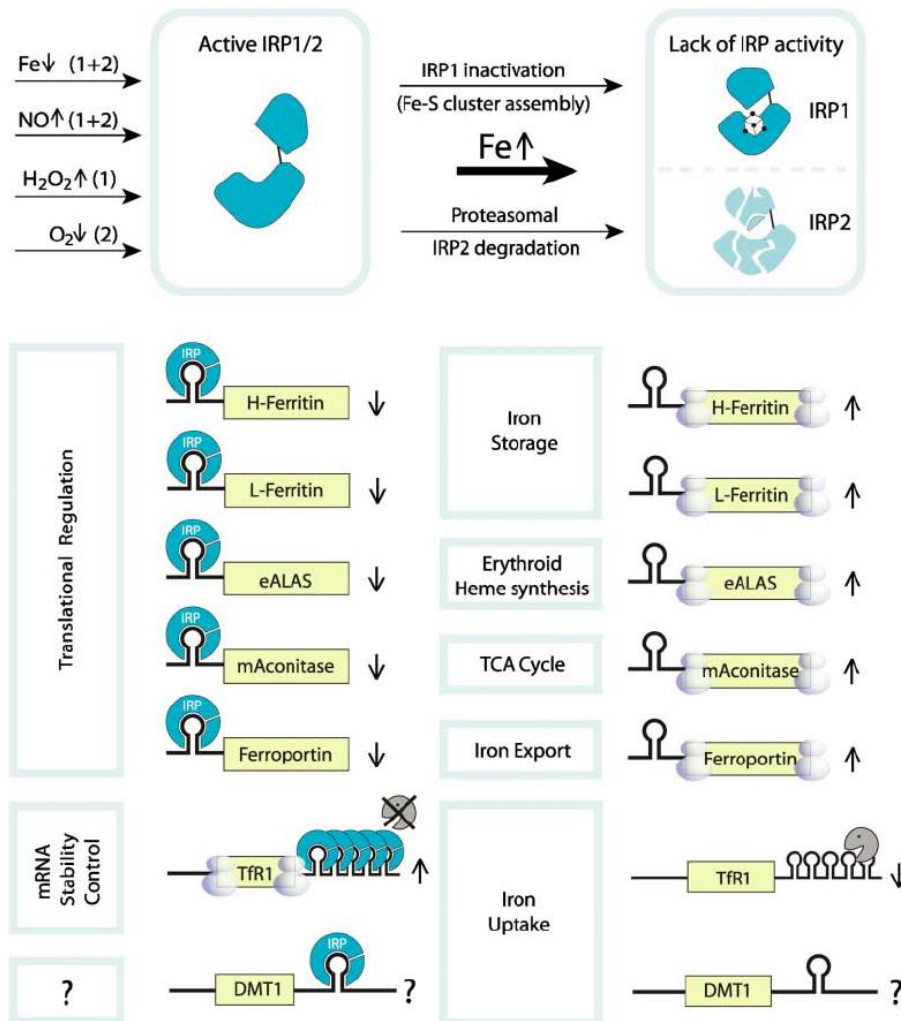


Figure 2. The IRE/IRP Regulatory System
 Proteins involved in iron storage, erythroid heme synthesis, the TCA cycle, iron export, and iron uptake are coordinately regulated by the interaction of the iron regulatory proteins (IRPs) with conserved RNA secondary structures, the iron-responsive elements (IREs). The binding of IRPs to single IREs in the 5'-untranslated regions (UTRs) of mRNAs blocks their translation, while IRP binding to multiple IREs in the 3' UTR stabilizes the TfR-1 mRNA. IRPs exist in two isoforms, IRP1 and IRP2. Increased iron levels favor the conversion of IRP1 from its active RNA binding form into an Fe-S cluster containing cytoplasmic aconitase that lacks IRE binding activity as well as the proteasomal degradation of IRP2. Low iron levels or the action of NO promote accumulation of the active apo-protein form of IRP1 and stabilize IRP2. In contrast, H₂O₂ only activates IRP1, while hypoxia interferes with IRP2 degradation.

Regolazione **sistemica** dell'omeostasi del ferro mediata dall'epcidina

L'**epcidina** è un peptide di 25 aminoacidi prodotto dal fegato. Si lega alla ferroportina causandone l'internalizzazione e la degradazione, in questo modo diminuisce l'esporto del ferro dagli enterociti e dai macrofagi nella circolazione sanguigna. L'espressione dell'epcidina è indotta da eccesso di ferro e infiammazione (IL-6), e repressa da anemia e ipossia.

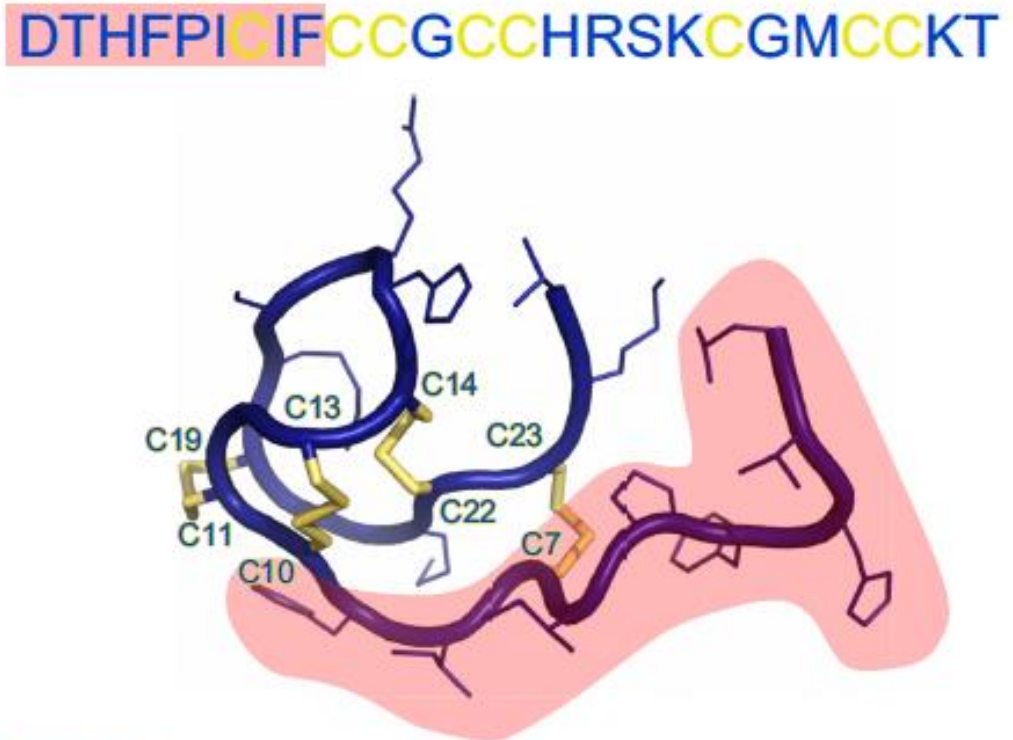
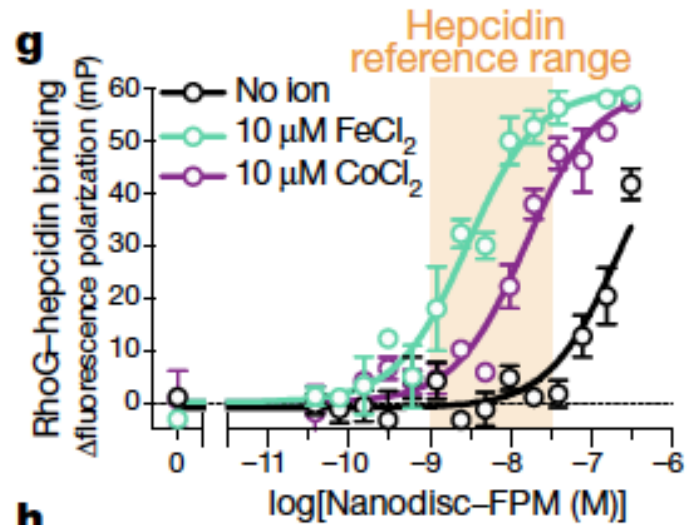


FIGURE 3. Hepcidin: the amino acid sequence and structure. The NH_2 -terminal segment known to interact with ferroportin [193] is shaded in light red. The characteristic cysteines and their disulfide bonds are shown in yellow.

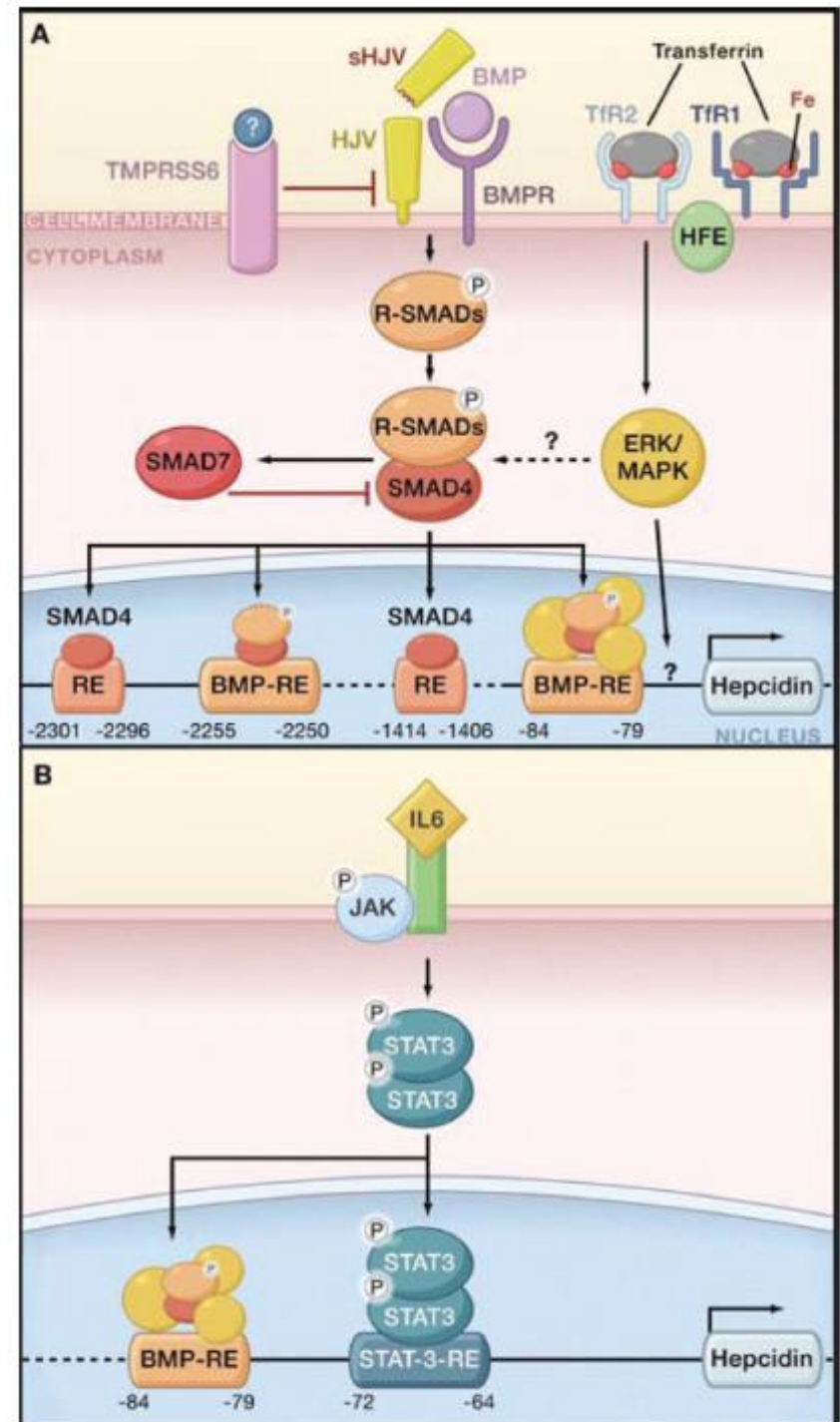
Epcidina lega ferroportina nel canale centrale occludendolo



La presenza di ferro o cobalto aumenta l'affinità di epcidina per ferroportina rendendola compatibile con i livelli fisiologici del peptide

Regolazione della sintesi dell'epcidina

Figure 3. Regulation of hepcidin by iron and inflammation. (A) Hepcidin regulation by iron. Binding of BMP6 to BMP receptor complex on the hepatocyte surface, in the presence of the coreceptor HJV, activates the receptor kinase to phosphorylate SMAD1, SMAD5, and SMAD8 proteins. Phosphorylated SMADs, together with SMAD4, translocate into the nucleus to induce transcription of hepcidin and of other target genes. HFE displaced from TFR1 by high circulating iron binds to TFR2 to activate hepcidin through uncertain mechanisms. Tmprss6 cleaves HJV from the cell membrane to dampen BMP receptor signaling. Relevant sequence motifs of the hepcidin promoter are shown. **(B)** IL-6 and other cytokines activate the JAK2 and STAT signaling pathway to activate hepcidin via a STAT-binding motif in the hepcidin promoter. Modified and used with permission from Hentze et al.¹

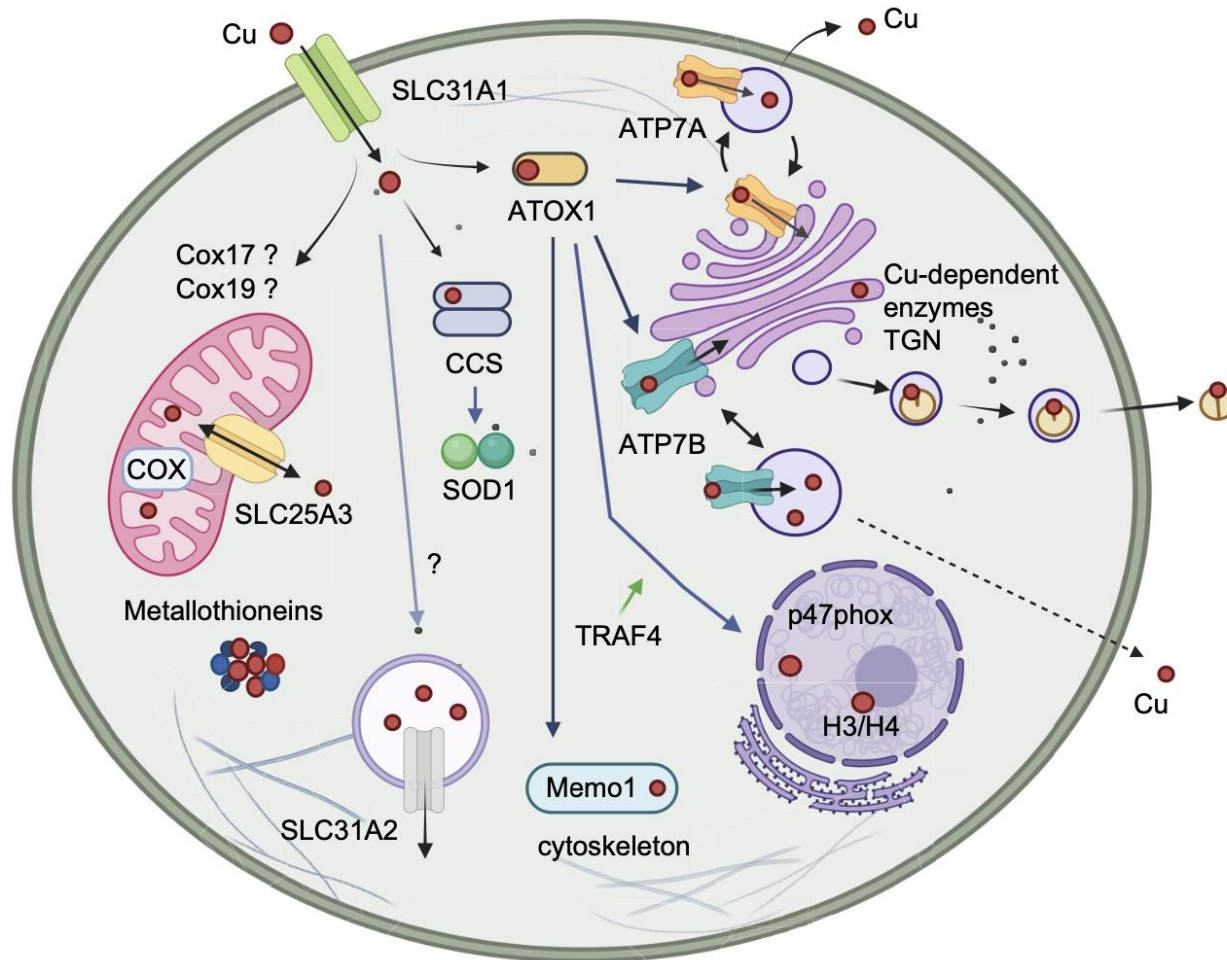


Mutazioni nei geni **HFE**, **HAMP** e **HJV** causano una riduzione della sintesi di epcidina ed emocromatosi ereditaria a trasmissione autosomica recessiva

Metabolismo del rame

- I meccanismi alla base dell'omeostasi cellulare del rame sono conservati in batteri (in parte), in lievito e negli eucarioti superiori.
- Gli studi in lievito si sono rivelati particolarmente utili per identificare e/o caratterizzare proteine umane strutturalmente o funzionalmente omologhe.
- Il metabolismo del rame negli eucarioti è strettamente connesso con il metabolismo del ferro attraverso le **ferrossidasi Cu-dipendenti**: difetti nell'incorporazione del rame nelle ferrossidasi provocano dismetabolismo del ferro.

Metabolismo cellulare del rame in eucarioti



Il trasportatore di membrana Ctr1 (SLC31A1)

- Ctr1 è il principale trasportatore di Cu^+ nella cellula (K_m 1-5 μM).
- Ctr1 possiede tre domini transmembrana e una serie di sequenze ‘Met’ (MX_{1-3}M) necessarie per il legame del Cu^+ .
- La complementazione funzionale in ceppi di lievito *ctr1ctr3Δ* ha permesso di isolare Ctr1 umano. L’importanza di Ctr1 è dimostrata dal fatto che topi knock-out per Ctr1 muoiono allo stadio embrionale.
- L’espressione di Ctr1 è regolata a livello trascrizionale in lievito dal fattore Mac1 e a livello post-traduzionale attraverso endocitosi e degradazione mediata dal rame (in lievito e nei mammiferi).

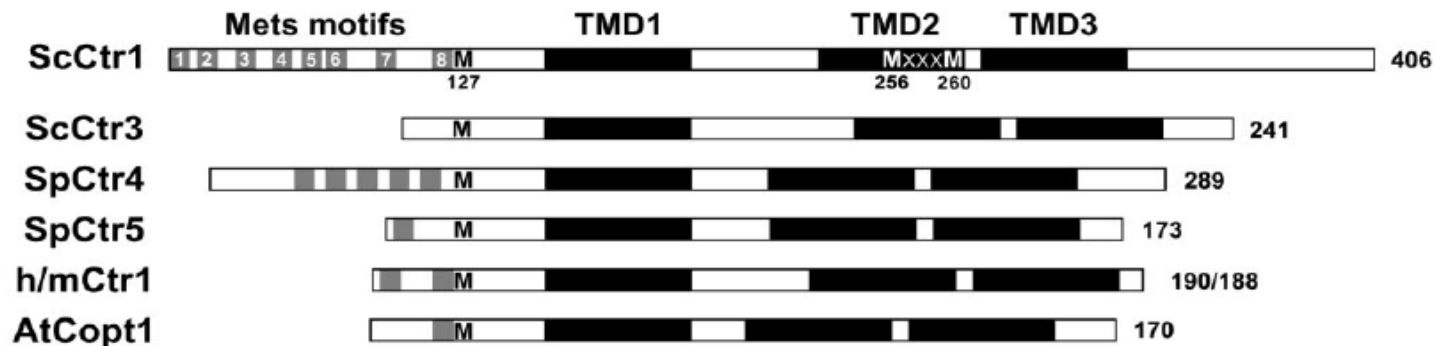
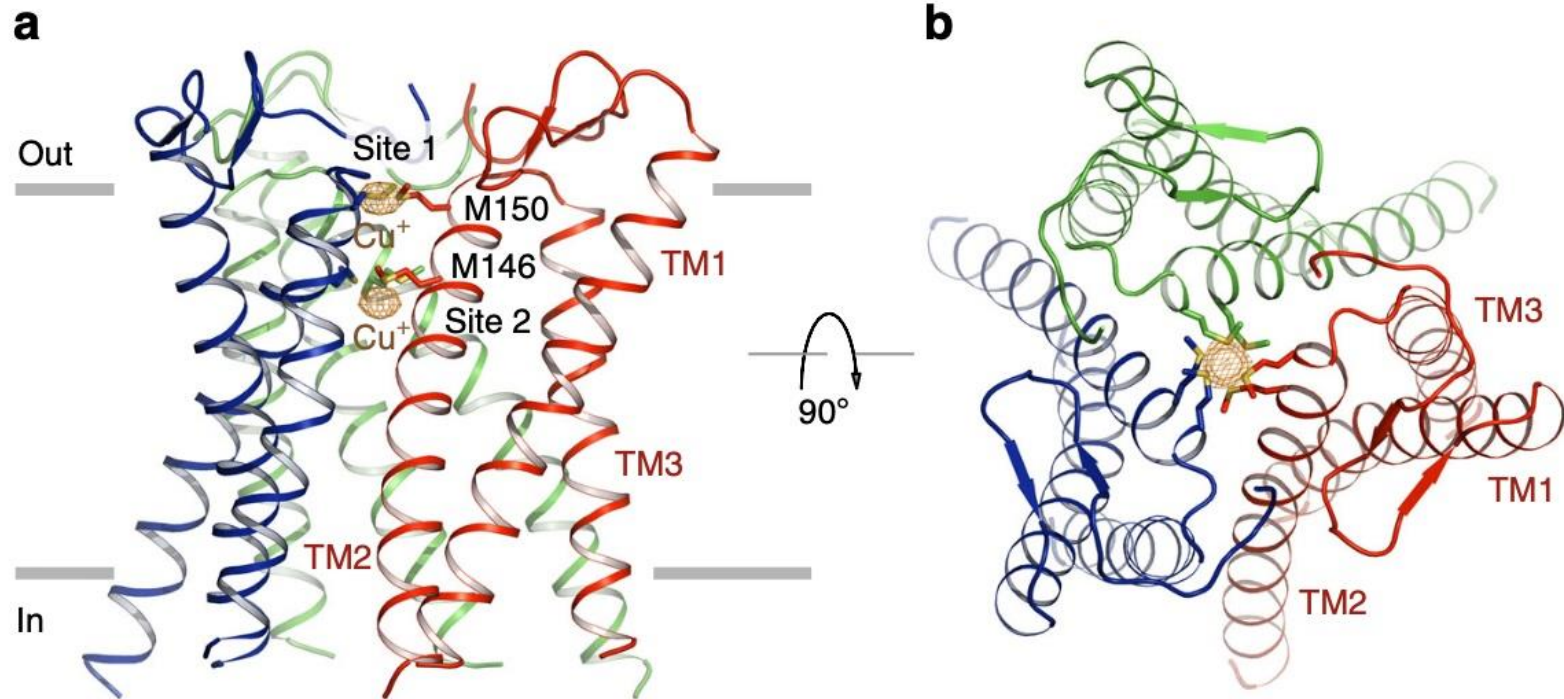


FIG. 1. Model for the primary structure of Ctr high affinity copper transport proteins. Alignment of copper transport proteins from *S. cerevisiae* (ScCtr1, ScCtr3), *S. pombe* (SpCtr4, SpCtr5), human and mouse (h/mCtr1), and *A. thaliana* (AtCopt1). Conserved features in the primary structure are represented from the amino terminus (left) to carboxyl terminus (right). All proteins contain three putative transmembrane domains (TMD1–3) shown in black. With the exception of yeast Ctr3, all members of the Ctr family of copper transporters contain putative copper binding motifs, called Mets motifs (gray boxes), consisting of 3–5 methionine residues arranged as MXXXM and/or MXM. Yeast and human Ctr1 proteins contain eight and two Mets motifs, respectively. Other conserved features, Ctr1 Met-127 and the MXXXM motif in TMD2, are represented in black and white characters, respectively. The length of each protein in amino acids is shown on the right.

Struttura trimerica del trasportatore Ctr1



Met146 e Met150 su TM2 formano il filtro di selettività per il Cu⁺

Trasporto intracellulare del rame in epatociti e neuroni. Chaperoni e pompe per lo smistamento del metallo

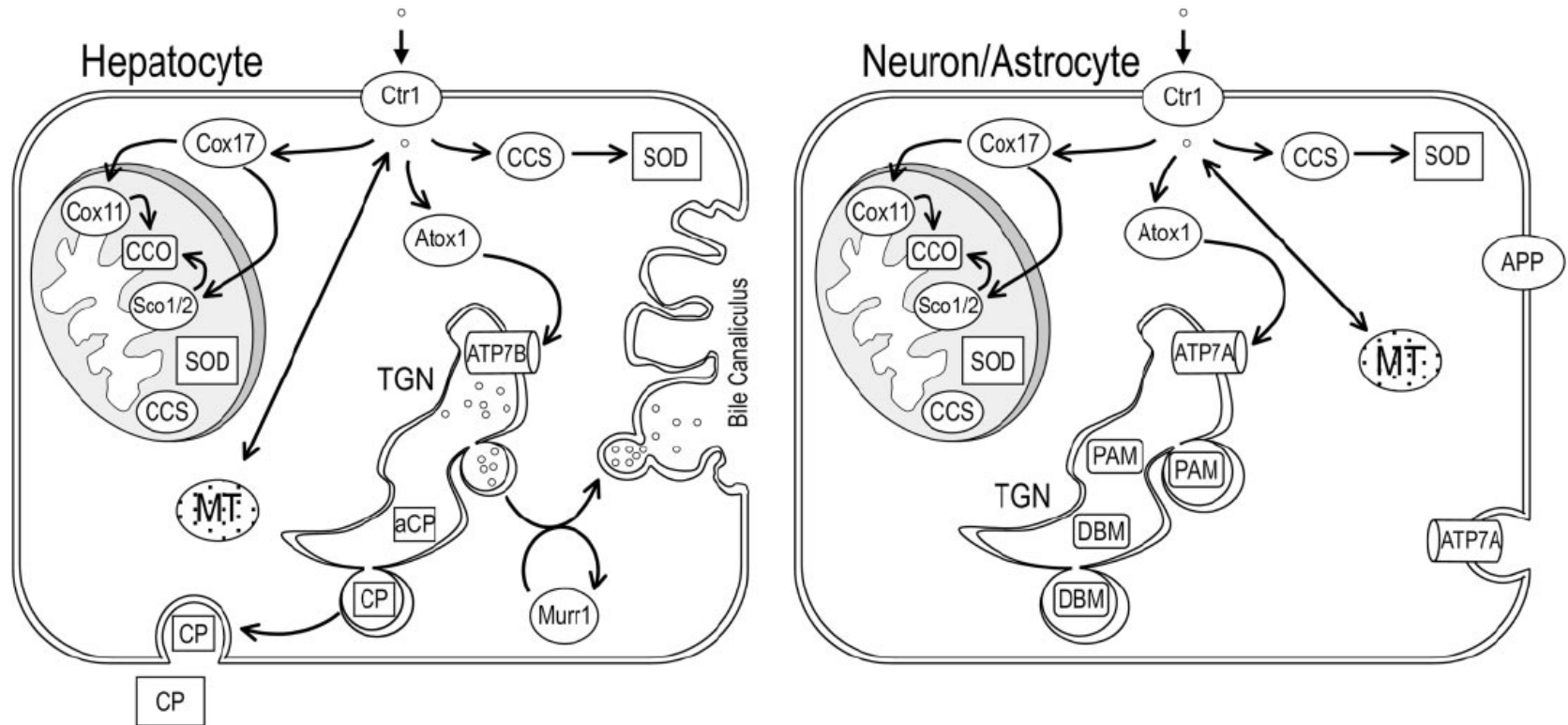


FIGURE 1 Copper transport in hepatocytes, neurons, and astrocytes. Cuproenzymes (rectangles) are dependent on copper chaperones (ellipses) and copper-transporting ATPases (ATP7A and ATP7B) for the delivery of imported copper to biosynthesis and metal-transfer sites. Chaperones and ATPases, which normally reside in the transgolgi network (TGN), are also necessary for the transport of copper to the bile (hepatocytes) or the plasma membrane for copper efflux from the cell (neurons and astrocytes).

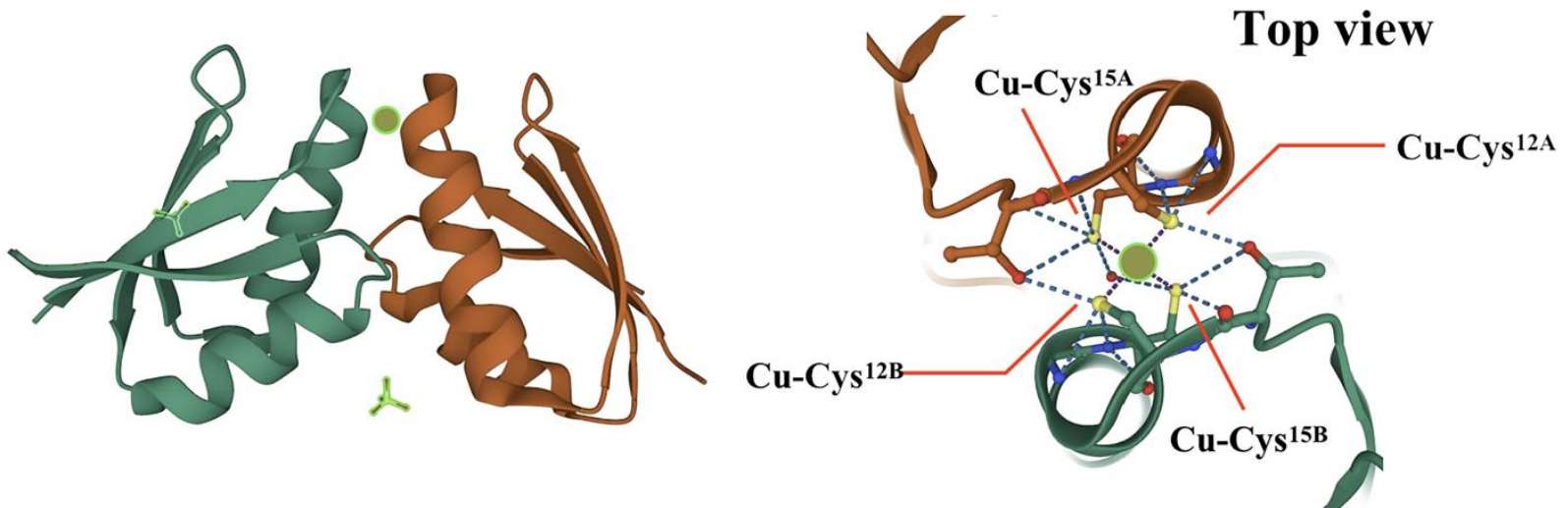
Enzimi che ricevono rame nel Golgi

Table 1 Mammalian enzymes, which receive Cu in the Golgi, and their suggestive relationship with symptoms in Menkes or Wilson disease

Enzymes	Biological activity	Symptoms
Dopamine β -hydroxylase	Catecholamine production	Ataxia, Hypothermia, Hypotension
Peptidylglycine α -amidating monooxygenase	Activation of peptide hormones	Widespread aberrations in nervous and endocrine system
Lysyl oxidase	Collagen and elastin cross-linking	Loose skin and joints, Emphysema, Hernias, Bladder diverticula, Arterial aneurysms, Loose skin and joints, Osteoporosis, Petechial hemorrhage, Poor wound healing
Tyrosinase	Pigment formation	Hypopigmentation
Ceruloplasmin	Iron and copper transport	Anemia
Hephaestin	Iron transport	Anemia
Peptidylglycine α -amidating monooxygenase	Activation of peptide hormones	Widespread aberrations in nervous and endocrine system
Sulfhydryl oxidase	Cross-linking of keratin	Abnormal hair, Dry skin

Chaperoni del rame

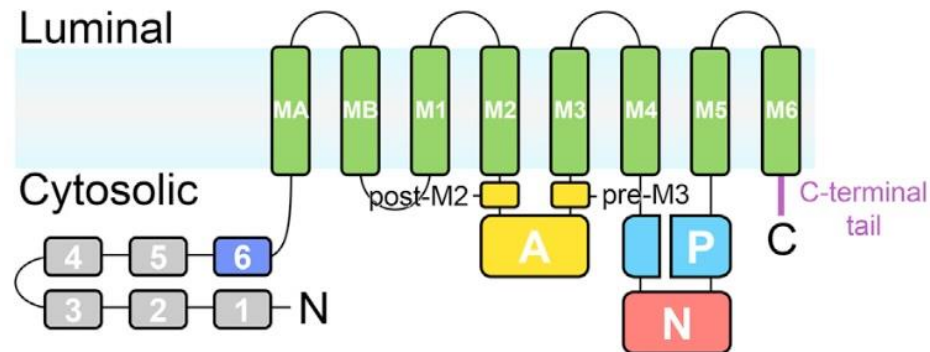
Gli chaperoni del rame sono proteine di piccole dimensioni (circa 70-80 amminoacidi) conservate dai batteri all'uomo. Il rame viene legato come Cu^+ da due residui di cisteina con una coordinazione atipica.



ATPasi di trasporto del rame

Le pompe per il trasporto del rame appartengono alla famiglia delle ATPasi di tipo P o CPx e si trovano in batteri, lievito ed eucarioti superiori. Accoppiano il trasporto del metallo all'idrolisi dell'ATP con formazione di un intermedio acil-fosfato su un residuo di aspartato.

Presentano 8 regioni transmembrana e una regione N-terminale di legame del rame in domini che contengono sequenze conservate MXCXXC.



Batteri

CopA, copB

Lievito

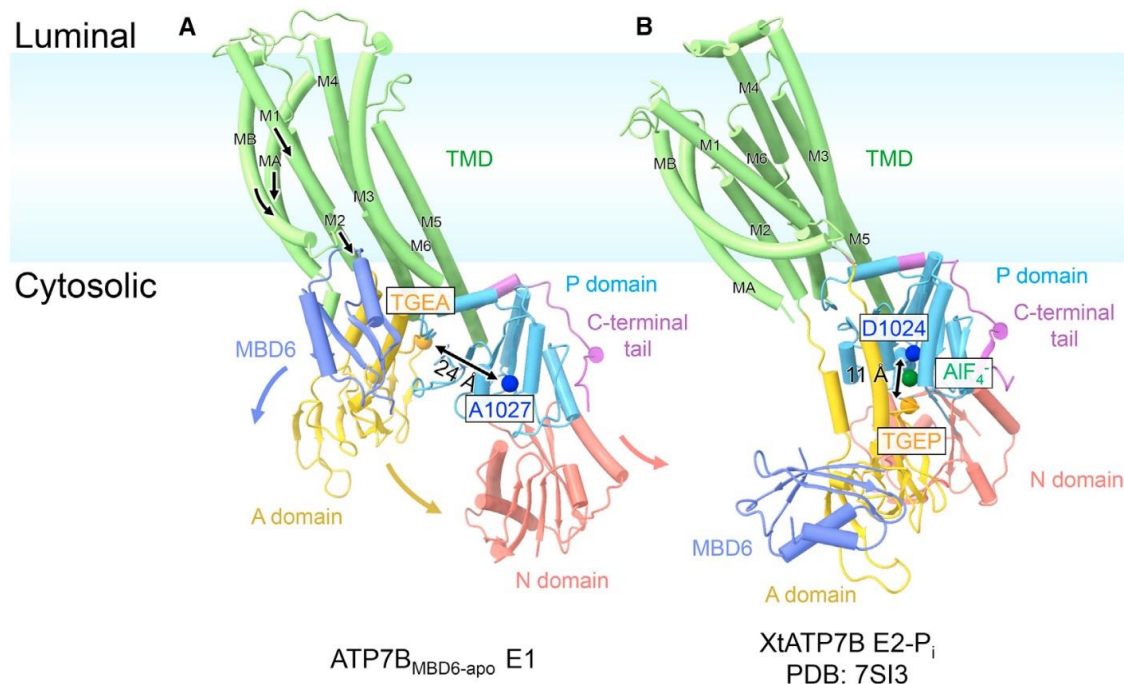
Ccc2

Mammiferi

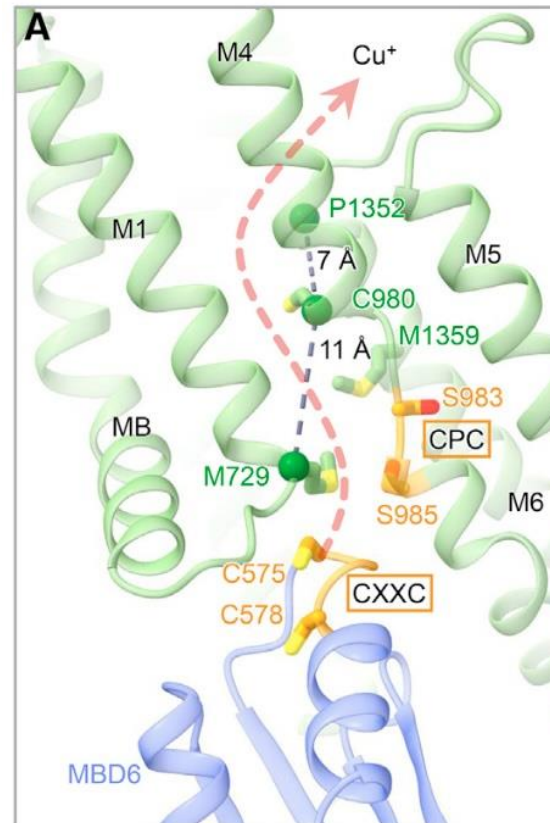
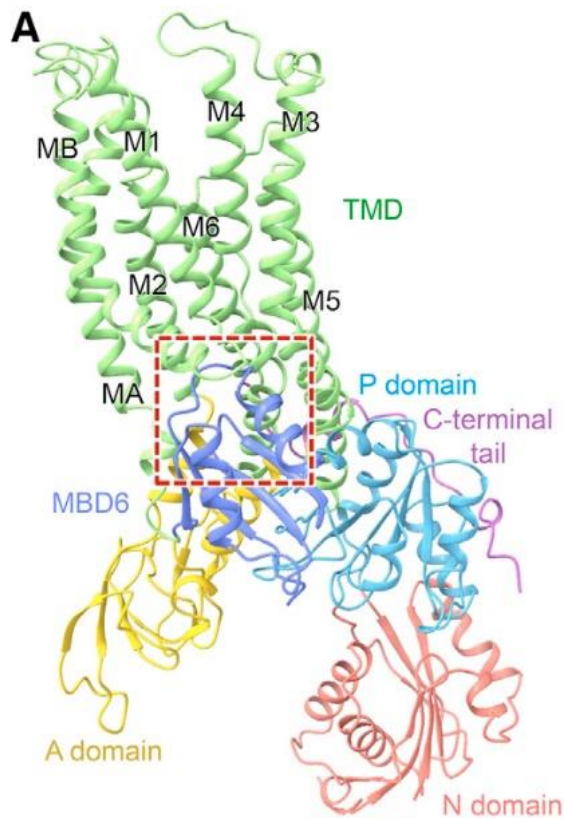
ATP7A, ATP7B

Efflusso del rame dalle cellule: Proteine di Menkes (ATP7A) e Wilson (ATP7B)

- ATP7A e ATP7B possiedono sei domini di legame del rame e sono localizzate nel trans-Golgi
- ATP7A è espressa in **enterociti**, nell'endotelio della barriera emato-encefalica e numerosi altri tessuti.
- ATP7B è espressa nel **fegato** e a bassi livelli nel rene, placenta, cervello e cuore.



ATP7B: la via di traslocazione del Cu (e del Pt)

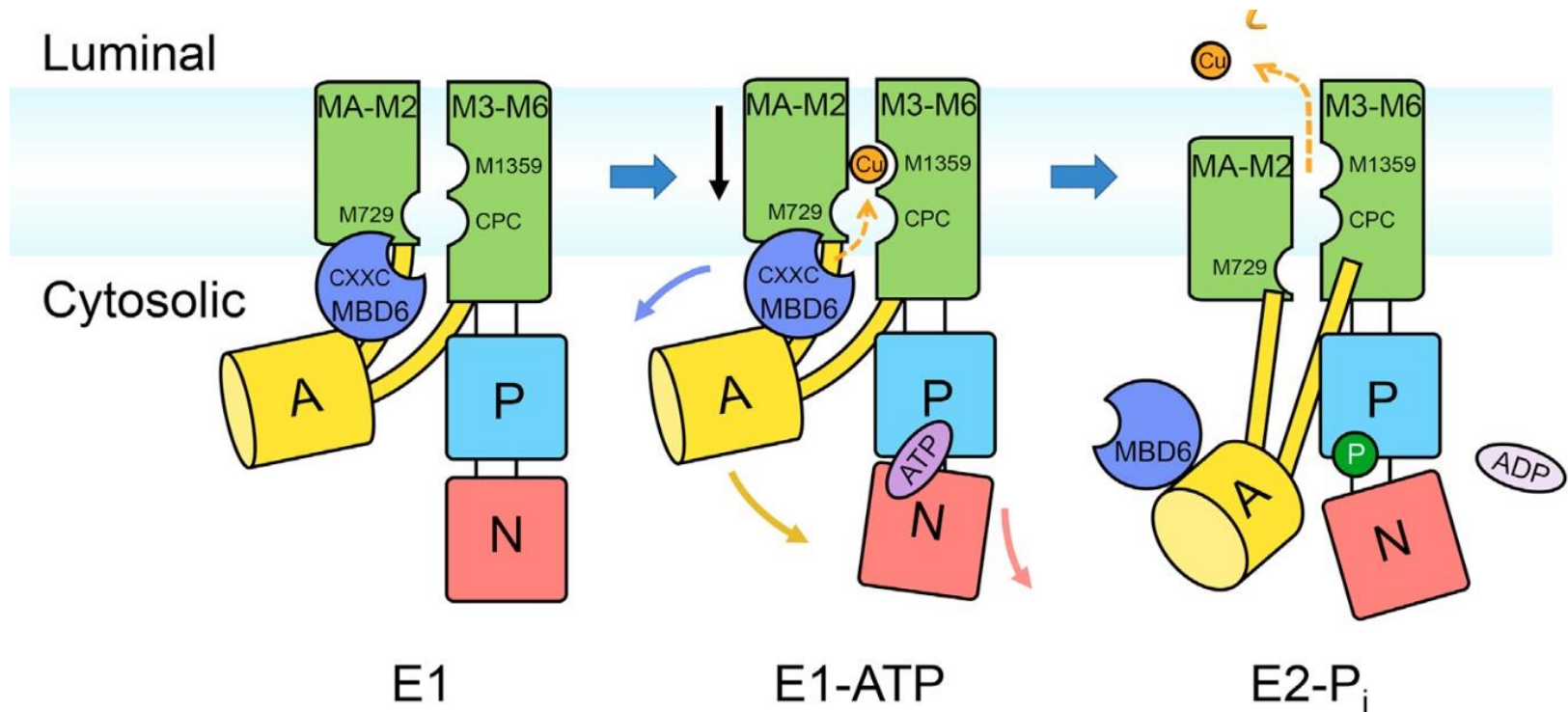


Cisplatin



Il cisplatino è usato
in terapia anticancro

Meccanismo delle ATPasi di trasporto del rame



- Nel dominio N e nel dominio P avvengono il legame del nucleotide e la fosforilazione dell'aspartato.
- Nel dominio A avviene la defosforilazione dell'aspartato.

La localizzazione subcellulare di ATP7A e ATP7B cambia in funzione della concentrazione di rame

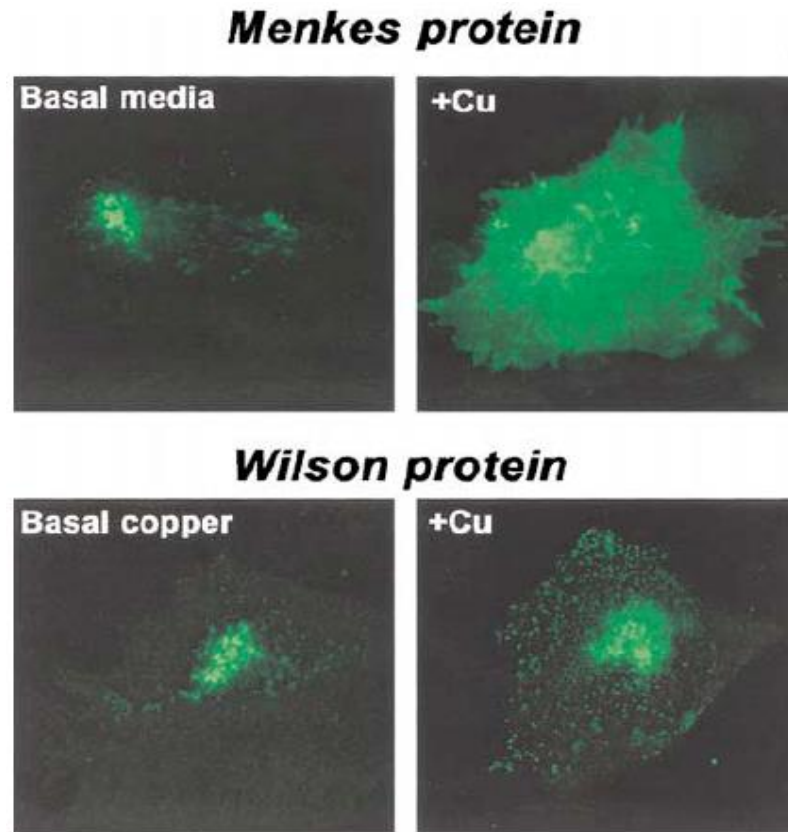
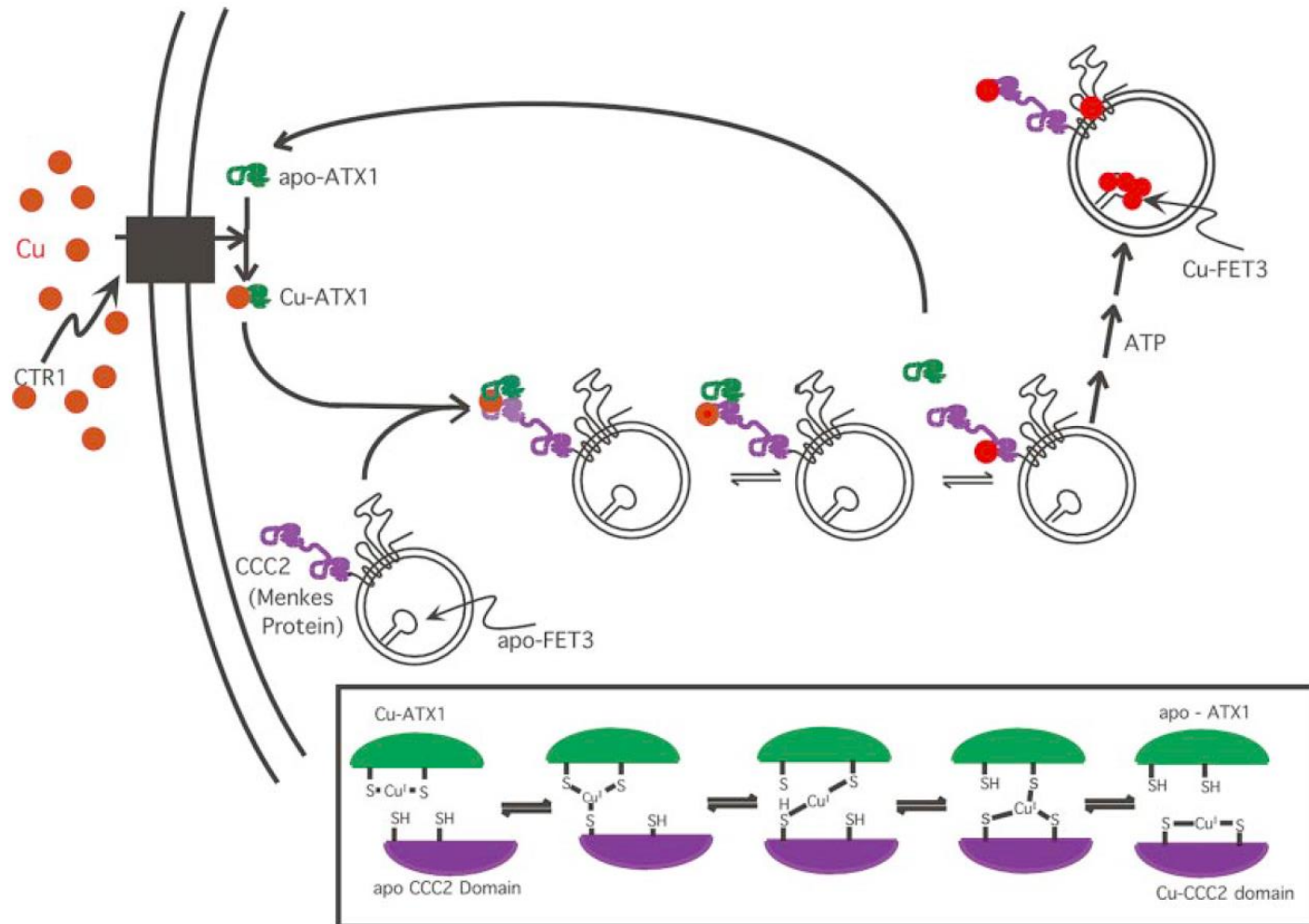


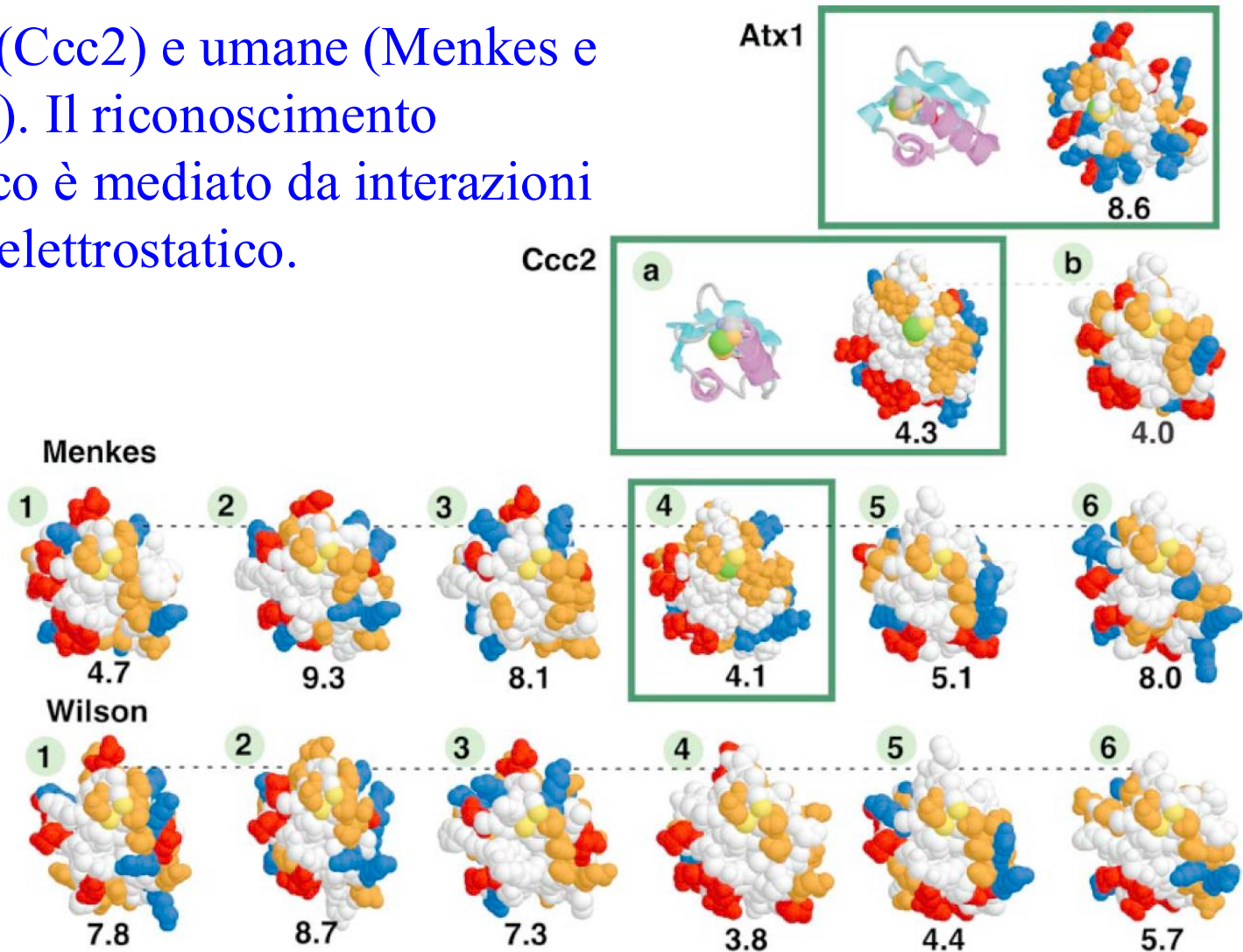
Fig. 5. Copper-dependent localization of the MNKP and WNDP. Immunostaining with specific antibody and fluorescence microscopy demonstrates typical perinuclear localization of MNKP and WNDP in the trans-Golgi network of CHO cells cultured in basal minimal media (*left photos*). Under elevated copper conditions, 2 hr 100 μM CuCl_2 (+ Cu), both proteins traffic to post-TGN compartments. MNKP relocates to the plasma membrane (*top right*), whereas WNDP is recruited to the vesicles (*bottom right*).

Gli chaperoni e le pompe del rame.

Meccanismo di trasferimento del metallo



Struttura di Atx1 e dei domini che legano il rame delle ATPasi di lievito (*Ccc2*) e umane (Menkes e Wilson). Il riconoscimento specifico è mediato da interazioni di tipo elettrostatico.



Complementarietà di carica tra chaperoni e pompe

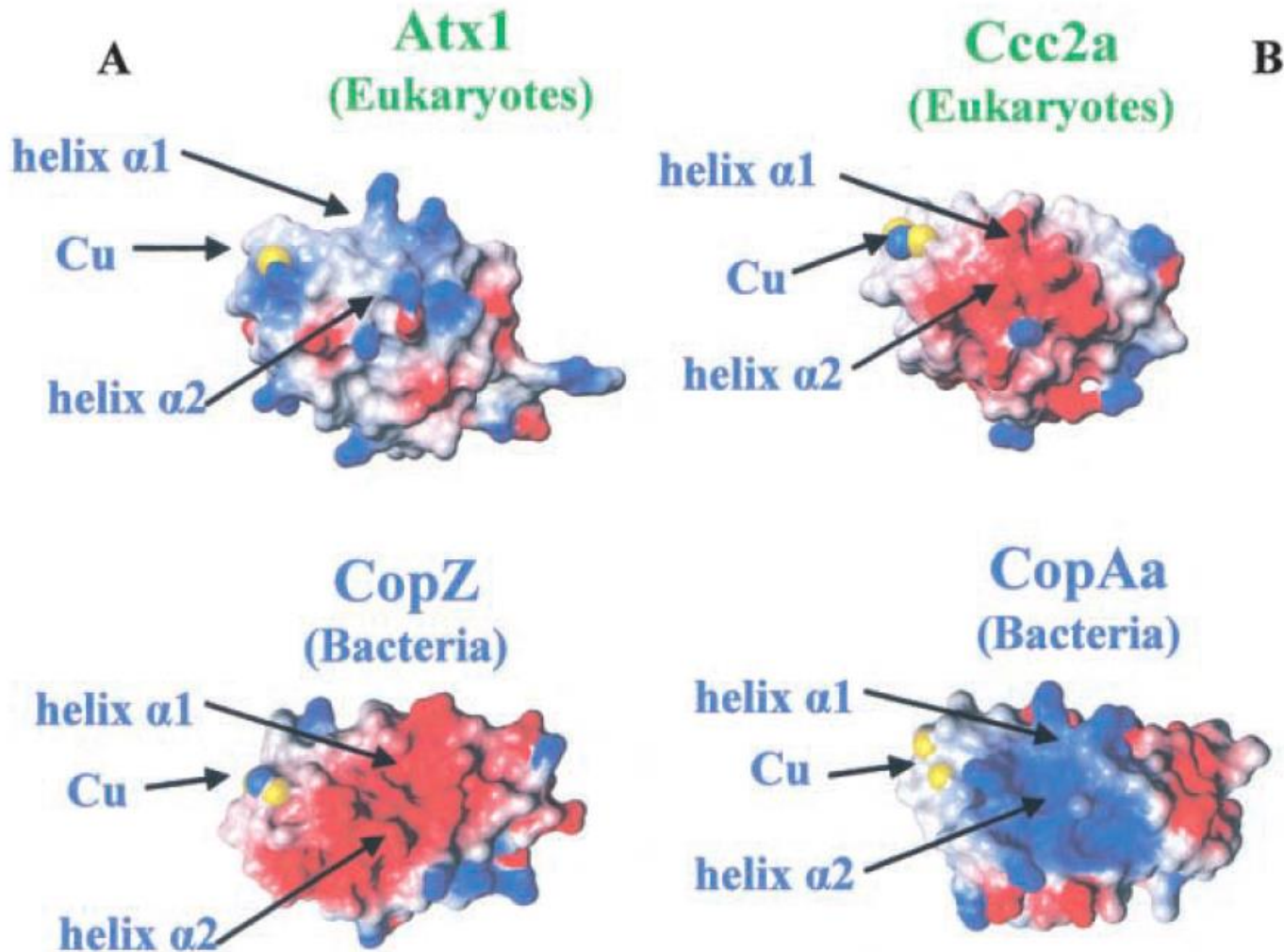
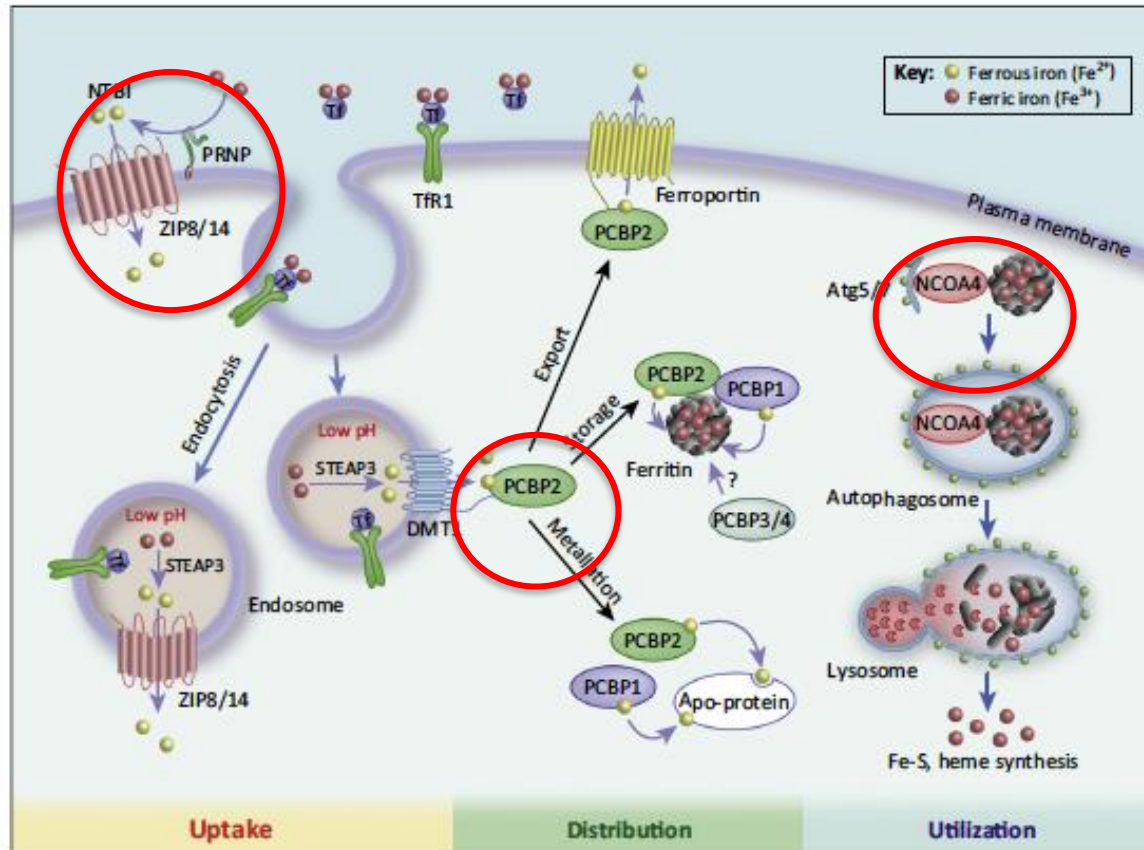


Figure 9 Surface potentials of *S. cerevisiae* Atx1 and *B. subtilis* CopZ structures (A). Surface potentials of *S. cerevisiae* Ccc2a and *B. subtilis* CopAa structures (B).

Nuove proteine coinvolte nel metabolismo intracellulare del ferro



Trends in Biochemical Sciences

Figure 1. New Mechanisms Regulating Intracellular Iron Metabolism. The ZRT/IRT-like protein (ZIP) family transporters, ZIP8 and ZIP14, were recently identified as crucial for transporting non-transferrin bound iron (NTBI) after reduction of NTBI by prion protein (PRNP). In the acidic endosome, Fe^{3+} is released from transferrin (Tf) and free Fe^{3+} is reduced to Fe^{2+} by six-transmembrane epithelial antigen of prostate 3 (STEAP3) and transported to the cytoplasm by divalent metal transporter 1 (DMT1) and ZIP8/14. Poly-(rC)-binding protein 1 (PCBP1) and PCBP2 are cytosolic iron chaperones that deliver Fe^{2+} to apo-proteins (metalation), such as hypoxia-inducible factor (HIF) prolyl hydroxylases, ferroportin (iron export), and ferritin (oxidation to Fe^{3+} and storage). Nuclear receptor coactivator 4 (NCOA4)-mediated autophagy of iron-loaded ferritin releases iron for utilization in cellular processes (see text).