

Prof. Giorgio Sartor

Trasporto dell'ossigeno

Copyright © 2001-2011 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

Versione 0.1 – oct 2011

Trasporto dell'ossigeno

- Negli organismi aerobi il trasporto dell'ossigeno avviene ad opera di

PIGMENTI RESPIRATORI

- Proteine coniugate con metalli che legano O_2 ,
 - lo trasportano attraverso i fluidi,
 - lo convogliano nei tessuti dove
 - viene rilasciato ed utilizzato.

I pigmenti respiratori

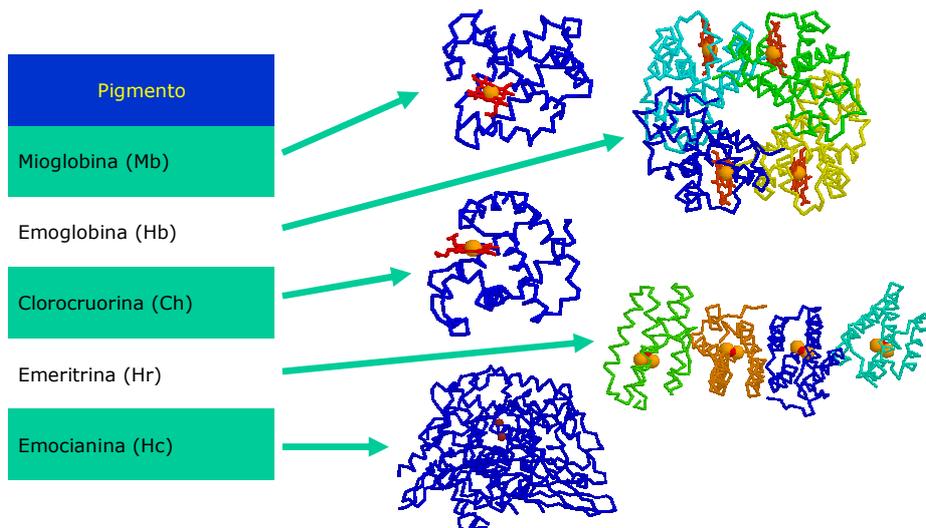
Pigmento	Colore	Struttura	Sito per O ₂	Localizzazione
Mioglobina (Mb)	-	Proteina Eme Fe ⁺⁺	1O ₂ /1Fe ⁺⁺	Muscolo
Emoglobina (Hb)	Rosso	Proteina Eme Fe ⁺⁺	1O ₂ /1Fe ⁺⁺	Globuli rossi Soluzione
Clorocruorina (Ch)	Verde	Proteina Eme Fe ⁺⁺	1O ₂ /1Fe ⁺⁺	Soluzione
Emeritrina (Hr)	Violetto Incolore	Proteina Fe ⁺⁺	1O ₂ /2Fe ⁺⁺	Soluzione (Globuli rossi)
Emocianina (Hc)	Blu Incolore	Proteina Cu ⁺⁺	1O ₂ /2Cu ⁺⁺	Soluzione

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

3

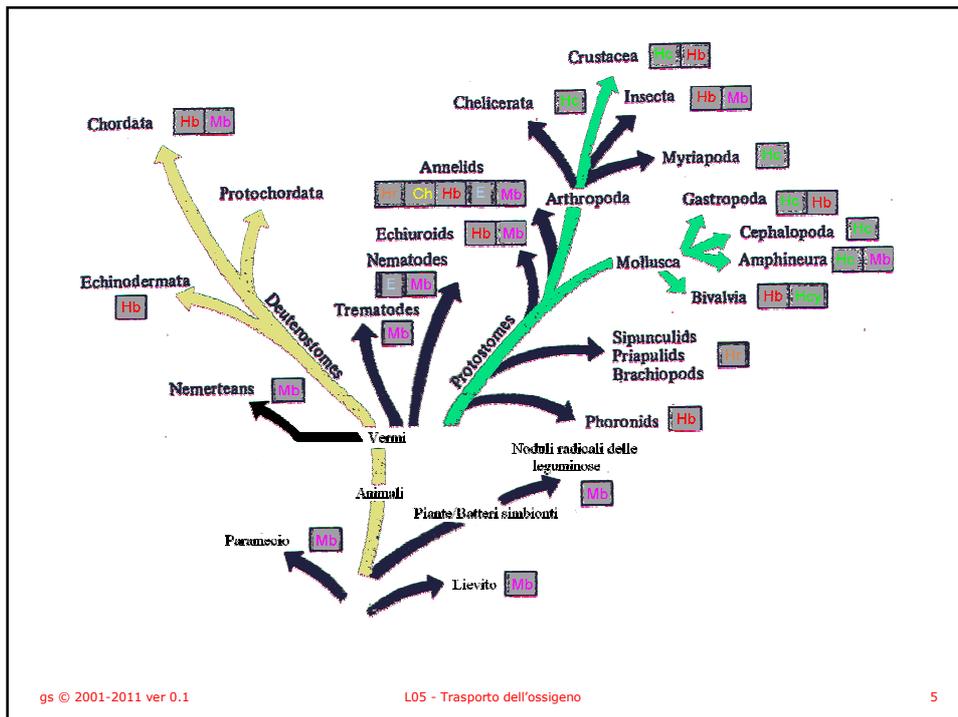
I pigmenti respiratori



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

4



Proteine multimeriche

- I pigmenti respiratori dedicati al trasporto dell'ossigeno sono formati da più subunità:
 - Mioglobina, immagazina O_2 , una subunità
 - Emoglobina, trasporta O_2 , da 2 a 10 subunità a secondo dell'organismo
 - Emocianina, trasporta O_2 , da 1×6 subunità a 8×6 subunità a secondo dell'organismo
- La presenza di più subunità rende il legame dell' O_2 cooperativo permettendone un trasporto efficiente.

Perché i pigmenti respiratori

- Aria
 - Volume occupato da 1 mole di gas: 22.4 litri (STP)
 - Contenuto di gas in 1 litro di aria: $1/22.4 = 0.045$ moli = 45 millimoli
 - Solo 21% dei gas dell'aria è O_2 , quindi $45 \times 21/100 = 9.5$ millimoli
- Acqua o plasma
 - Solubilità di O_2 in acqua (α): 1.4×10^{-6} moli/l/mmHg (a 37°C)
 - $[O_2] = \alpha \times PO_2 = 1.4 \times 10^{-6} \times 150 = 0.00021$ moli o 0.21 mmoli
- Emoglobina (160 g/L, globuli rossi concentrati)
 - PM = 16,000
 - $[Hb] = 160/16,000 = 10$ mM
- Sangue (50% plasma + 50% globuli rossi)
 - Plasma: $[O_2] = 0.21$ mM
 - Emoglobina: $[O_2] = 10$ mM
 - Sangue: $[O_2] = (0.21 \times 0.5) + (10 \times 0.5) = 0.105 + 5 = 5.105$ mmoli (2% + 98%)
- 98% dell' O_2 del sangue è legato a Hb, 2% è fisicamente disciolto nel plasma.

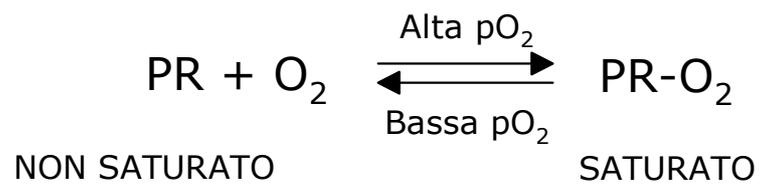
Cellule specializzate

- Globuli rossi
 - Prive di nucleo
 - Alto contenuto in Hb



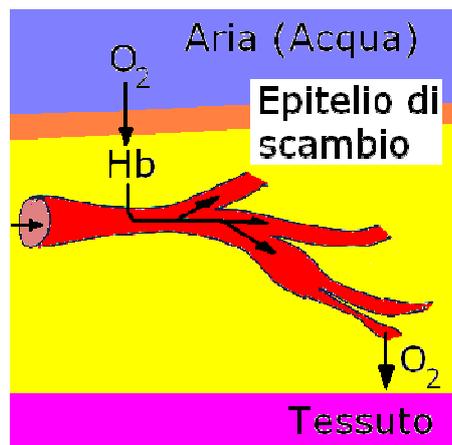
Legame con l'ossigeno

- Dipende da pO_2



Legame con l'ossigeno

- Dipende da pO_2



Mioglobina ed Emoglobina

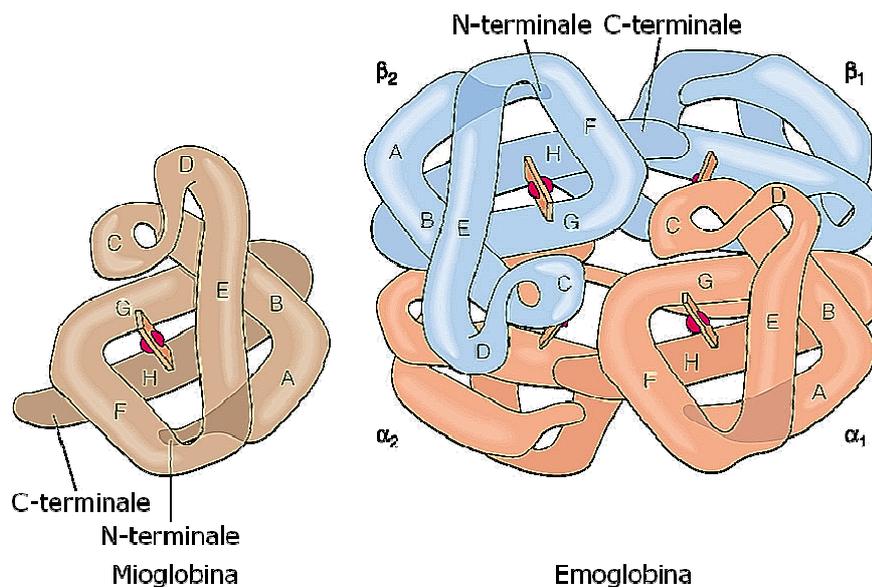
- Le funzioni biologiche delle due proteine sono diverse:
 - Mioglobina: lega strettamente l'O₂ e lo rende disponibile SOLO quando la pO₂ è **molto** bassa (muscolo, cetacei in immersione).
 - Emoglobina: lega l'O₂ quando la pO₂ è alta (polmoni, branchie) rilascia l'O₂ quando la pO₂ è bassa (tessuti, cellule).
- La struttura delle due proteine è diversa:
 - Mioglobina: monomero con gruppo prostetico (eme) che complessa uno ione Fe²⁺.
 - Emoglobina: tetramero (nei mammiferi) fatto di subunità (α₂β₂) ognuna delle quali è simile alla mioglobina e contiene un gruppo prostetico (eme) che complessa uno ione Fe²⁺.

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

11

Mioglobina e emoglobina



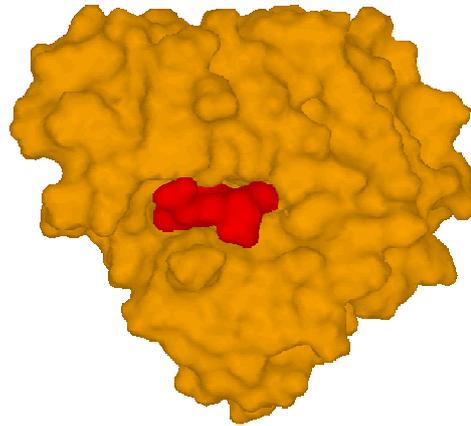
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

12

Mioglobina

- Trasporto dell'O₂, immagazzinamento nella cellula.
- Due parti:
 - proteina
 - gruppo prostetico
- Proteina:
 - 155 aminoacidi, ~ 17 kDa.
 - Compatta, globina.
 - 75% α -elica.



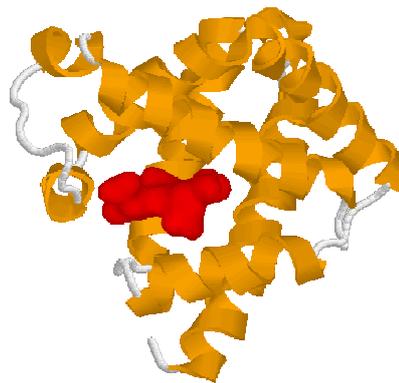
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

13

Mioglobina

- Trasporto dell'O₂, immagazzinamento nella cellula.
- Due parti:
 - proteina
 - gruppo prostetico
- Proteina:
 - 155 aminoacidi, ~ 17 kDa.
 - Compatta, globina.
 - 75% α -elica.



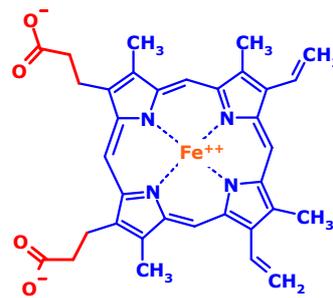
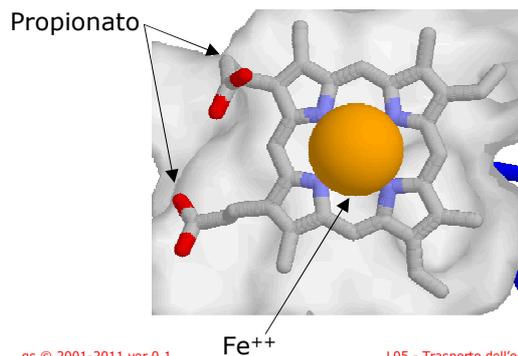
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

14

Gruppo eme

- Il gruppo eme è composta di **porfirina** e **Fe²⁺**.
- La porfirina è un gruppo non polare, ci sono inoltre due gruppi polari di **propionato**.
- La porfirina lega O₂, CO.
- CO è 10,000 volte più affine alla porfirina del O₂.



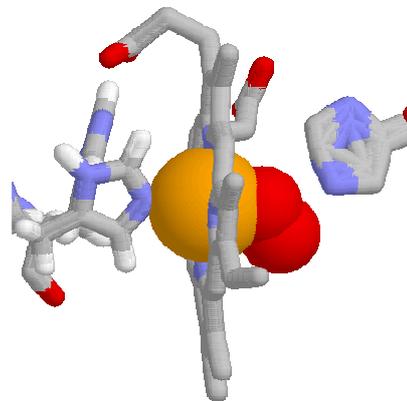
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

15

Ligandi al gruppo eme

- Lo ione Fe²⁺ coordina sei atomi.
 - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
 - Una molecola di ossigeno
 - Ossiemoglobina lega O₂
 - Deossiglobina lega H₂O
 - Carbossiglobina lega CO.
 - Un atomo di azoto dall'His prossimale.



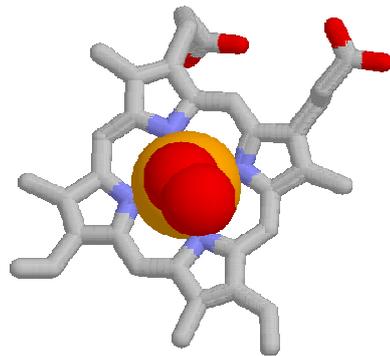
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

16

Ligandi al gruppo eme

- Lo ione Fe^{++} coordina sei atomi.
 - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
 - Una molecola di ossigeno
 - Ossiemoglobina lega O_2
 - Deossiglobina lega H_2O
 - Carbossiglobina lega CO .
 - Un atomo di azoto dall'His prossimale.



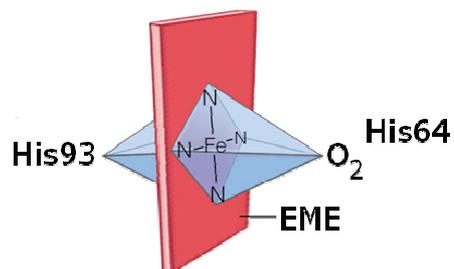
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

17

Ligandi al gruppo eme

- Lo ione Fe^{++} coordina sei atomi.
 - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
 - Una molecola di ossigeno
 - Ossiemoglobina lega O_2
 - Deossiglobina lega H_2O
 - Carbossiglobina lega CO .
 - Un atomo di azoto dall'His prossimale.



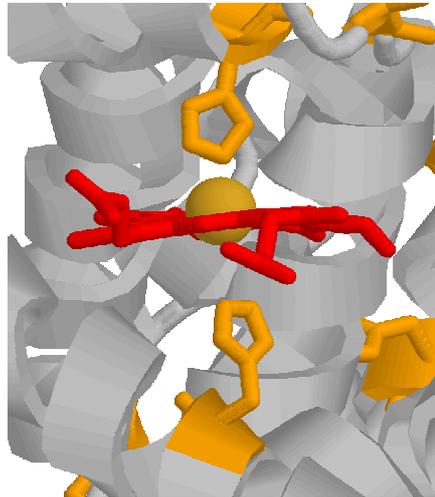
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

18

Ligandi al gruppo eme

- Lo ione Fe^{++} coordina sei atomi.
 - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
 - Una molecola di ossigeno
 - Ossiemoglobina lega O_2
 - Deossiglobina lega H_2O
 - Carbossiglobina lega CO .
 - Un atomo di azoto dall'His proximale.



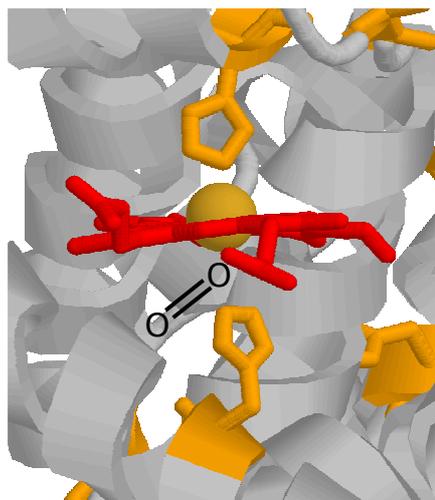
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

19

Ligandi al gruppo eme

- Lo spazio compreso tra il Fe^{++} His distale permette il legame di ligandi bimolecolari (O_2 , CO) solo con angoli di legame diversi da 180° .
- Il legame tra il Fe^{++} e il ligando con questo angolo è più labile di quello a 180° .



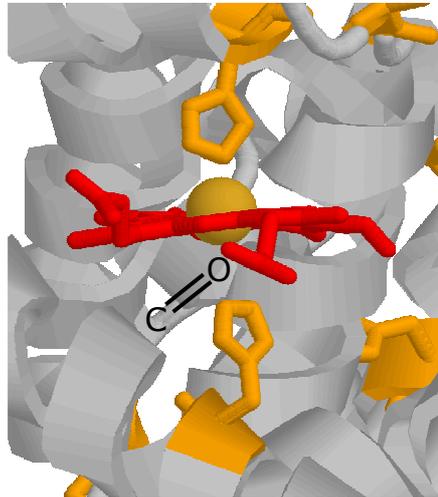
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

20

Ligandi al gruppo eme

- Lo spazio compreso tra il Fe^{++} His distale permette il legame di ligandi bimolecolari (O_2 , CO) solo con angoli di legame diversi da 180° .
- Il legame tra il Fe^{++} e il ligando con questo angolo è più labile di quello a 180° .



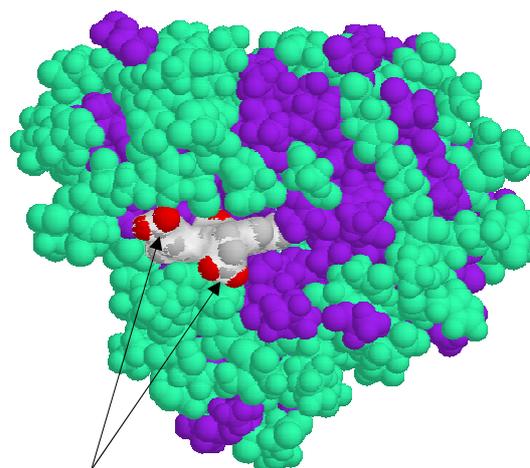
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

21

Interazione eme – proteina

- Il gruppo eme stabilizza il ripiegamento della proteina.
- Il legame è del tipo **interazione idrofobica**.
- I gruppi propionato sono presenti nella superficie.



Gruppi carbossilici del propionato

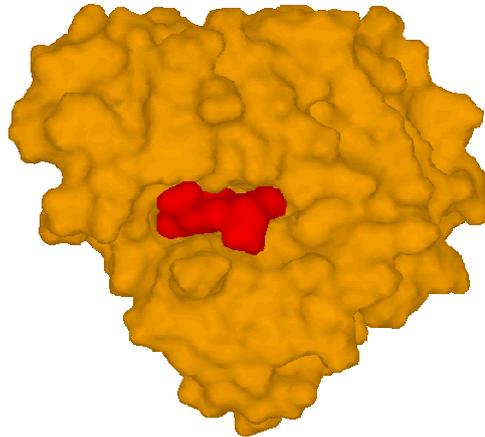
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

22

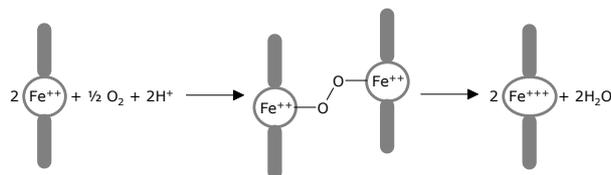
Mioglobina

- La proteina circonda completamente il gruppo eme.
- Funzione della proteina:
 - aumentare la solubilità del gruppo eme.
 - Impedisce l'ossidazione del gruppo eme ($\text{Fe}^{2+} \rightarrow \text{Fe}^{3+}$)
 - La metamioglobina (Fe^{3+}) è inattiva.
 - Diminuisce il legame di CO.



Ossidazione del Fe^{++}

- Il legame del Fe^{++} attraverso la proteina impedisce l'ossidazione a Fe^{+++} a seguito del legame con l'ossigeno:



Emoglobina, enzima *honoris causa*

- In tutti gli animali superiori il metabolismo è aerobico,
- Assunzione diretta di O₂ efficace solo in organismi unicellulari,
- Emoglobina (Hb): trasporta O₂ dai polmoni ai tessuti,
- Mioglobina (Mb): presente nei tessuti muscolari, funge da deposito di O₂,
- Se non ci fosse Hb, il cuore dovrebbe pompare sangue ad un flusso >100 maggiore.

Premio Nobel per la Chimica nel 1962

"for their studies of the structures of globular proteins"



Max Ferdinand Perutz

🏆 1/2 of the prize

United Kingdom

MRC Laboratory of Molecular
Biology
Cambridge, United Kingdom

b. 1914
(in Vienna, Austria)
d. 2002



John Cowdery Kendrew

🏆 1/2 of the prize

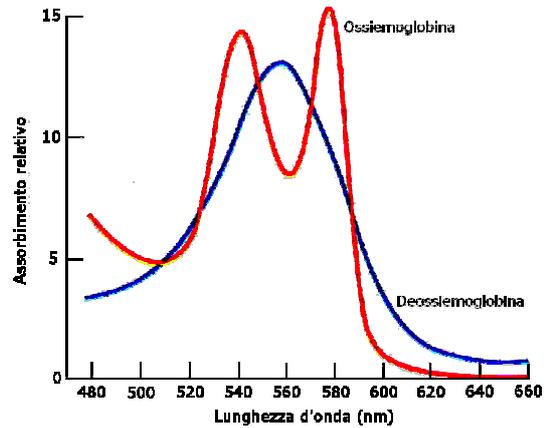
United Kingdom

MRC Laboratory of Molecular
Biology
Cambridge, United Kingdom

b. 1917
d. 1997

Il colore del sangue

- Il *colore* della proteina è diverso a seconda del fatto che l'ossigeno sia o no legato al Fe^{++} .



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

27

Il colore del sangue

- Deossiglobine
- Ossiglobine
- Carbossiglobine
- Metaglobine

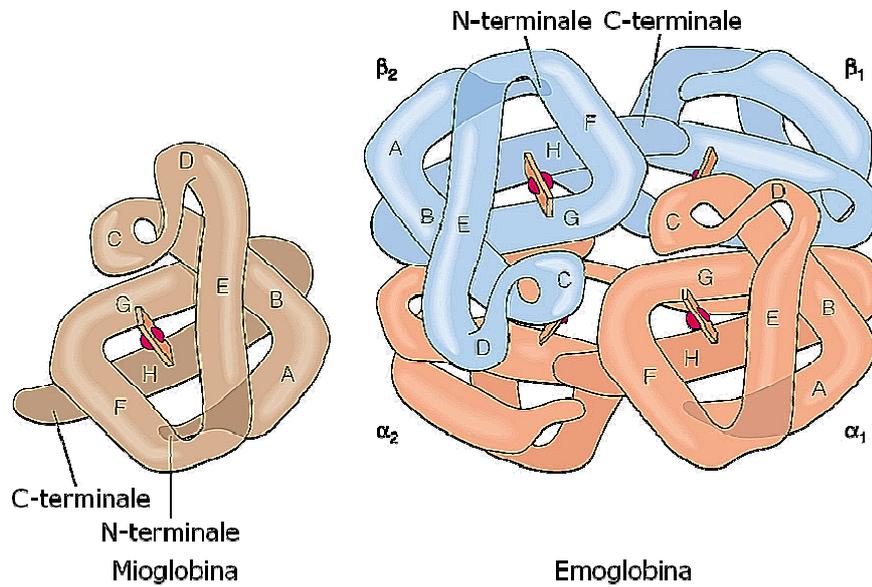


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

28

Mioglobina e emoglobina



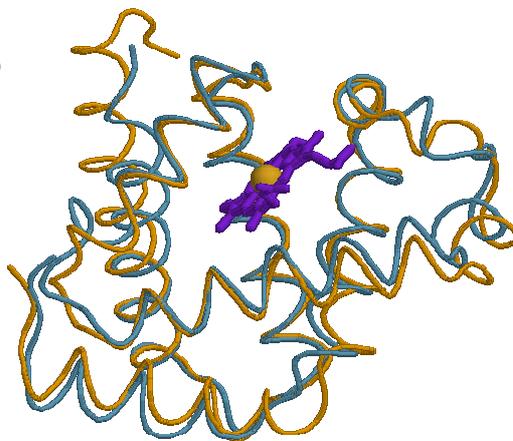
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

29

Similarità strutturale

- **Emoglobina e mioglobina**
 - Le quattro subunità della emoglobina sono strutturalmente simili alla mioglobina,
 - Il legame con l'ossigeno avviene sempre attraverso lo ione Fe^{2+} del gruppo eme



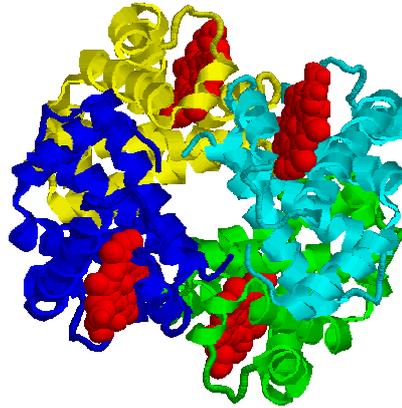
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

30

Emoglobina dei mammiferi

- Proteina tetrameric
- Dimero di dimeri, $(\alpha\beta)_2$
- Le catene α , β sono simili alla Mb.
- Ogni catena contiene un gruppo eme.
- Ogni gruppo eme lega un O_2 .
- L'interfaccia $\alpha\beta$ è diversa dall'interfaccia $\alpha\alpha$ e $\beta\beta$.
- Legami a ponte salino stabilizzano la struttura deossi.



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

31

Il legame con l'ossigeno

- Nella mioglobina



$$K_D = \frac{[Mb] [O_2]}{[MbO_2]}$$

- Si definisce la saturazione frazionale (γ_{O_2}) la frazione di siti che hanno ossigeno legato:

$$\gamma_{O_2} = \frac{[MbO_2]}{[Mb] + [O_2]} \quad \gamma_{O_2} = \frac{[O_2]}{K_D + [O_2]}$$

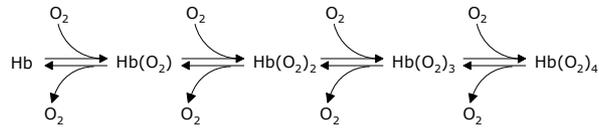
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

32

Il legame con l'ossigeno

- Nell'emoglobina



$$K_D = \frac{[\text{Hb}] [\text{O}_2]^n}{[\text{Hb}(\text{O}_2)_n]}$$

- Si definisce la saturazione frazionale (γ_{O_2}) la frazione di siti che hanno ossigeno legato:

$$\gamma_{\text{O}_2} = \frac{n[\text{Hb}(\text{O}_2)_n]}{n([\text{Hb}] + [\text{Hb}(\text{O}_2)_n])} \quad \gamma_{\text{O}_2} = \frac{[\text{O}_2]^n}{K_D + [\text{O}_2]^n}$$

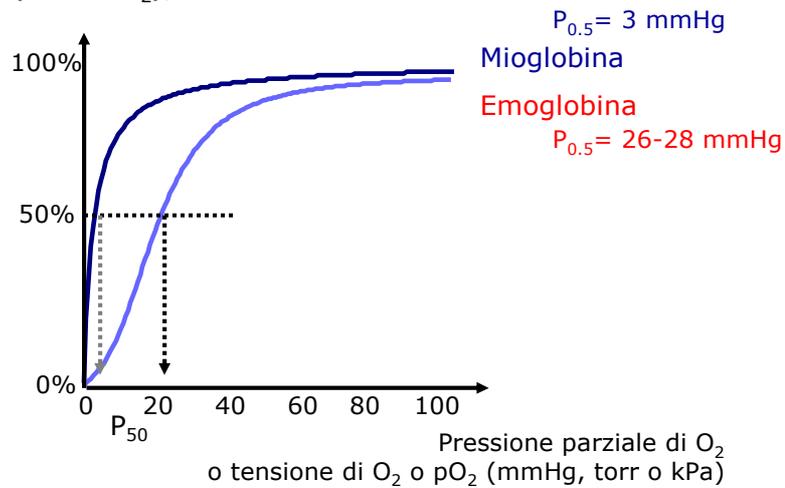
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

33

Saturazione e $p\text{O}_2$

$\text{HbO}_2/(\text{Hb}+\text{HbO}_2)$, % o unità



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

34

Cooperatività

$$\gamma_{O_2} = \frac{[O_2]^n}{K_D + [O_2]^n}$$

- n = costante di Hill
 - n = 1 nessuna cooperatività
 - n > 1 cooperatività positiva
- Per l'emoglobina n ≈ 2.5

Cooperatività

Legame dell'ossigeno a Hb:

- Il legame dell'ossigeno alla Hb nello stato deossi avviene con una data affinità (K_D)
- Le molecole di ossigeno che si legano successivamente hanno un'affinità maggiore per il sito di legame.
- Ciò viene definito come cooperatività positiva.
- Avviene solo in proteine multimeriche.
- Il coefficiente di Hill ha un valore vicino al numero delle subunità.
- Il vantaggio è che l'affinità del legame è sensibile a piccole variazioni in concentrazioni del ligando.

Immagazzinamento e trasporto

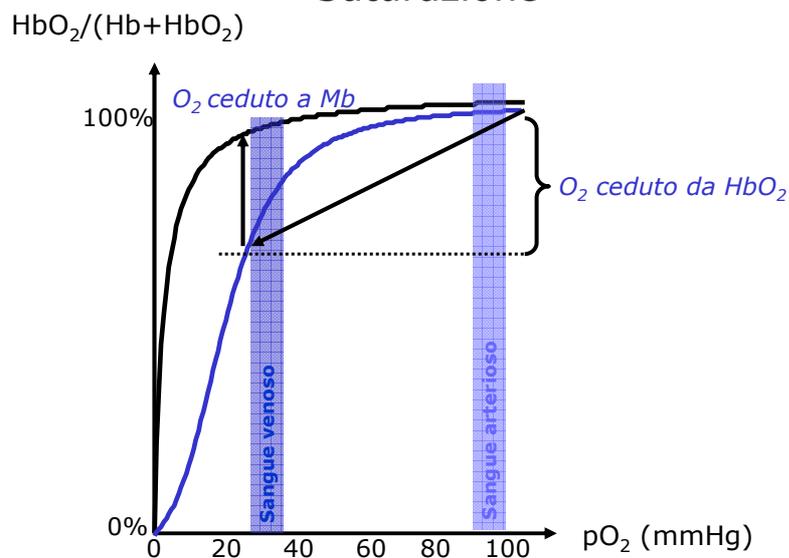
- La mioglobina è un ottimo sistema per immagazzinare O_2 :
 - riesce a "caricarsi" di ossigeno anche a bassi valori di pO_2 per tenerlo strettamente legato
 - $P_{0.5}(\gamma O_2 = 0.5)$ a $pO_2 = 2.8$ torr.
- L'emoglobina è un ottimo sistema per trasportare l' O_2 :
 - Si carica di O_2 quando pO_2 è alta, cede O_2 quando pO_2 è basso
 - $P_{0.5}(\gamma O_2 = 0.5)$ a $pO_2 = 26-28$ torr.

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

37

Saturazione



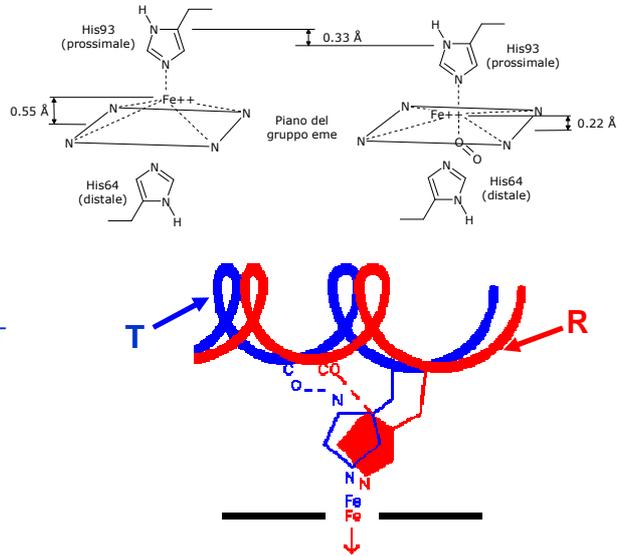
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

38

Modello Molecolare

- Nello stato deossi il Fe^{++} è fuori dal piano del gruppo eme.
- Il legame con O_2 , sposta il Fe^{++} .
- Trascina la His prossimale e l'elica.
- Il movimento altera l'interfaccia $\alpha\beta$.
- Stato deossi = stato T (Tense)
- Stato ossi = stato R (Relaxed)



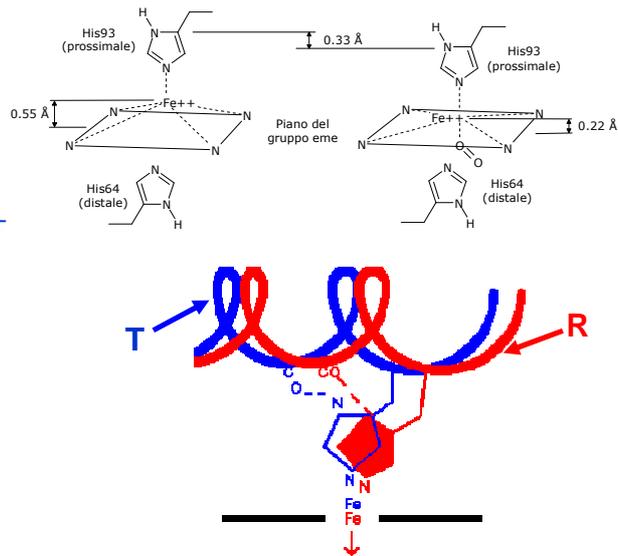
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

39

Modello Molecolare

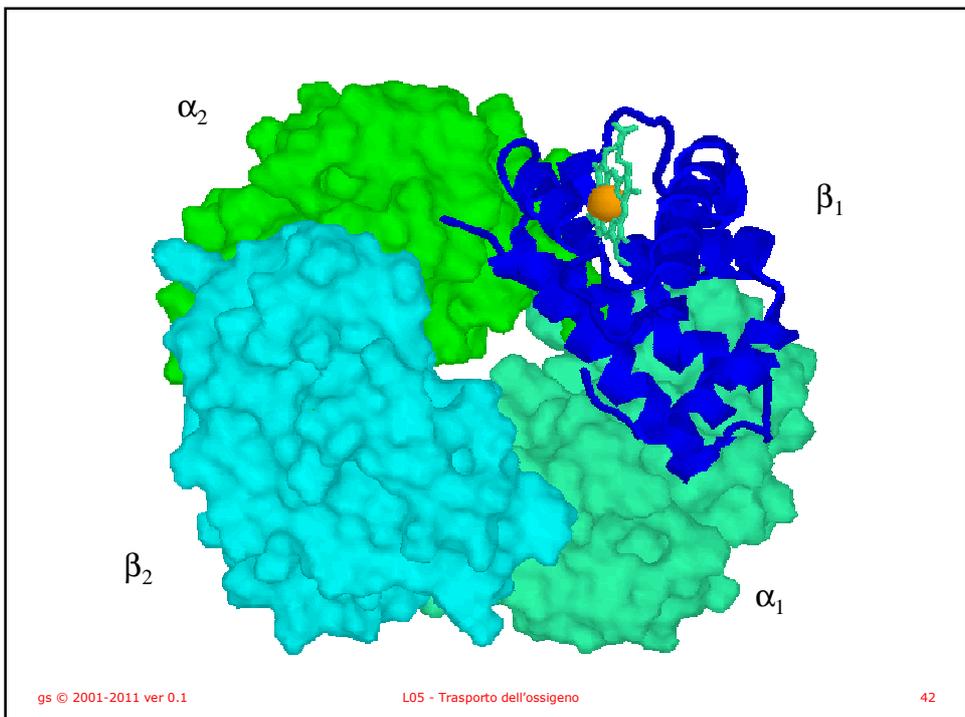
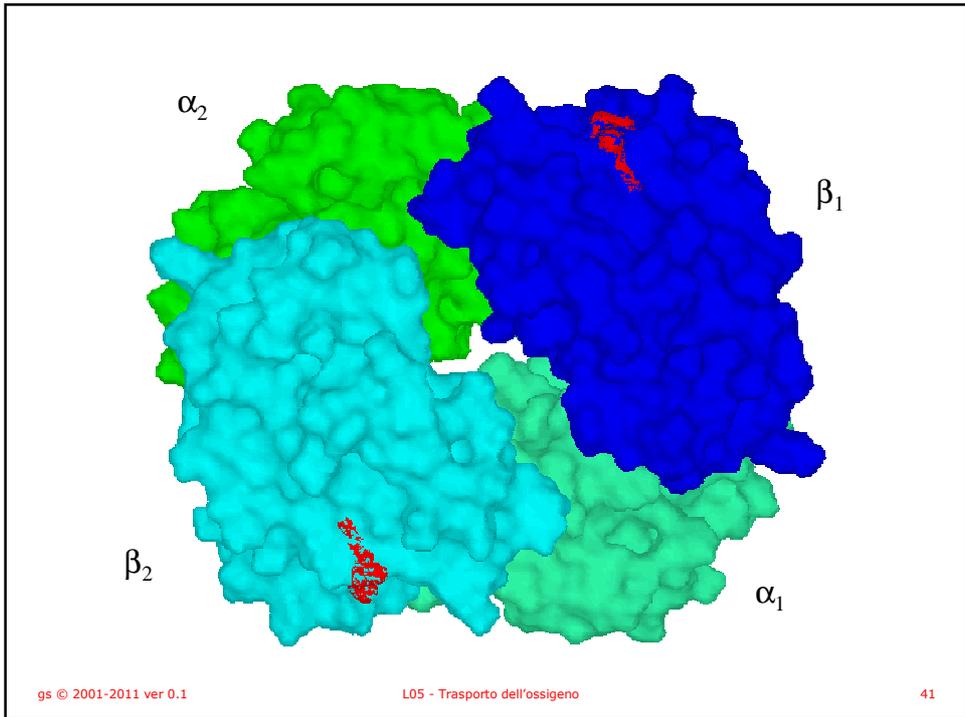
- L'alterazione dell'interfaccia $\alpha\beta$ provoca la variazione dell'affinità nelle subunità adiacenti.
- Stato deossi = stato T (Tense)
- Stato ossi = stato R (Relaxed)



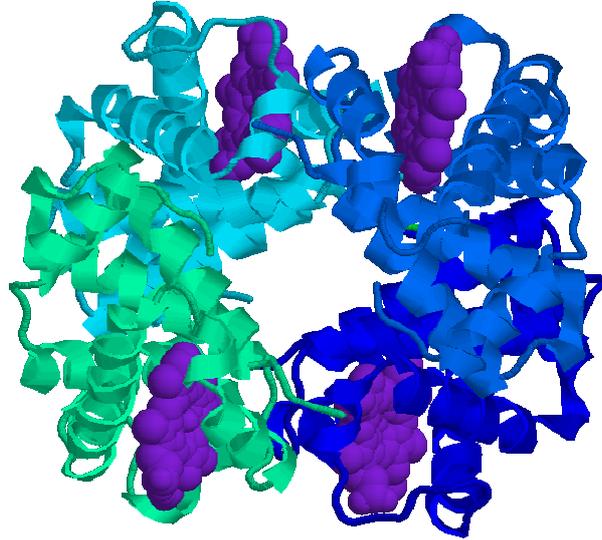
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

40



Deossioglobinina

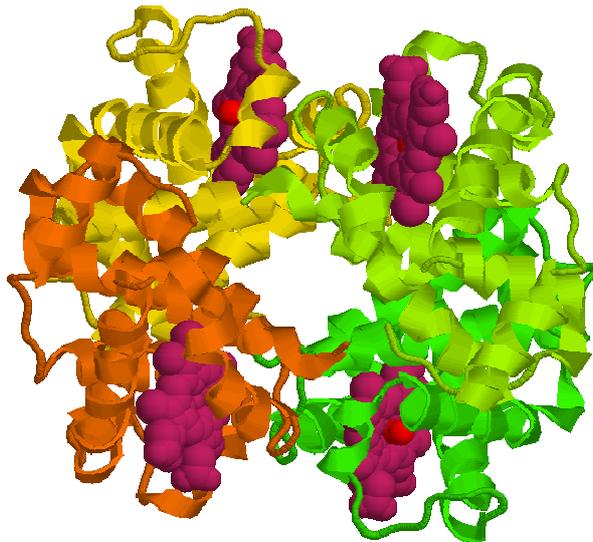


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

43

Ossiemoglobinina



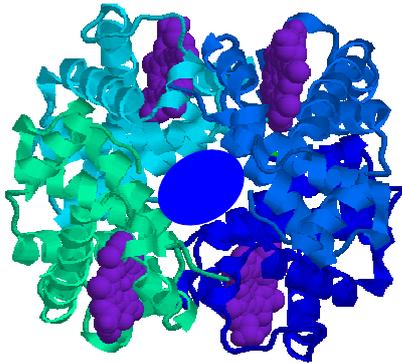
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

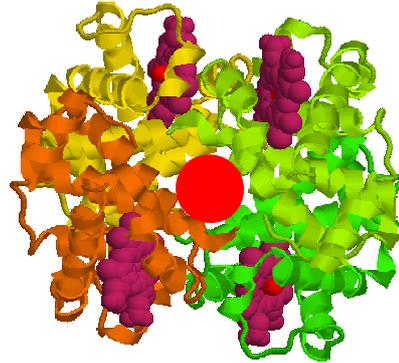
44

Emoglobina

DEOSSI



OSSI

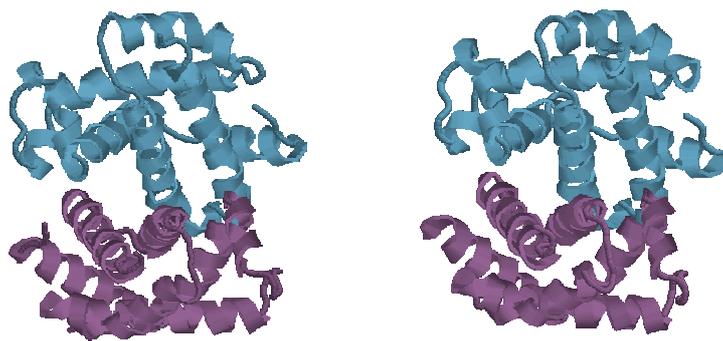


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

45

Transizione T → R



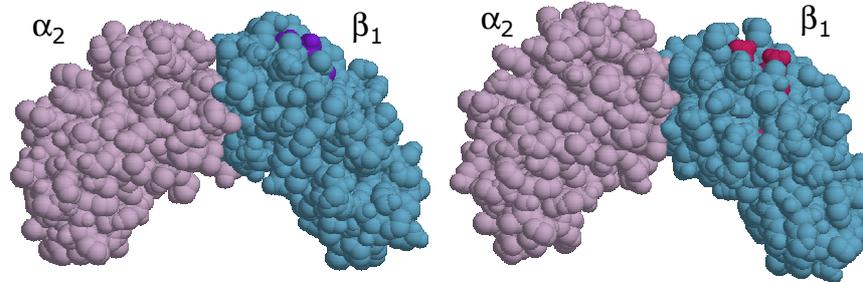
- Nella transizione fra lo stato T (deossigenata) e lo stato R (ossigenata) la coppia di subunità $\alpha_1\beta_1$ si comporta come un'unica subunità.

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

46

Transizione T → R



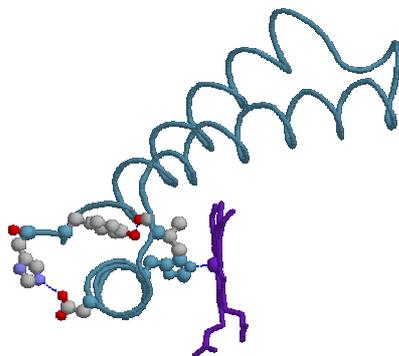
- I maggiori riarrangiamenti avvengono all'interfaccia tra i due dimeri α_2/β_1 e α_1/β_2 .

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

47

Transizione T → R



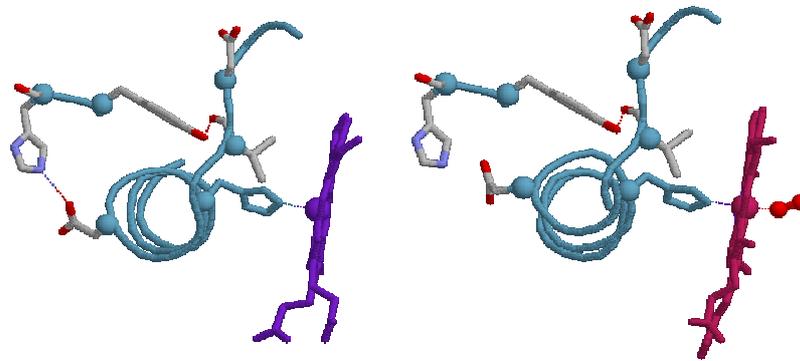
- Nella proteina deossigenata esiste un legame idrogeno tra Asp nell'elica e His amino terminale.
- Il piccolo movimento causato dal legame con l'ossigeno viene "amplificato" attraverso una redistribuzione dei legami idrogeno all'interfaccia α_2/β_1

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

48

Transizione T → R



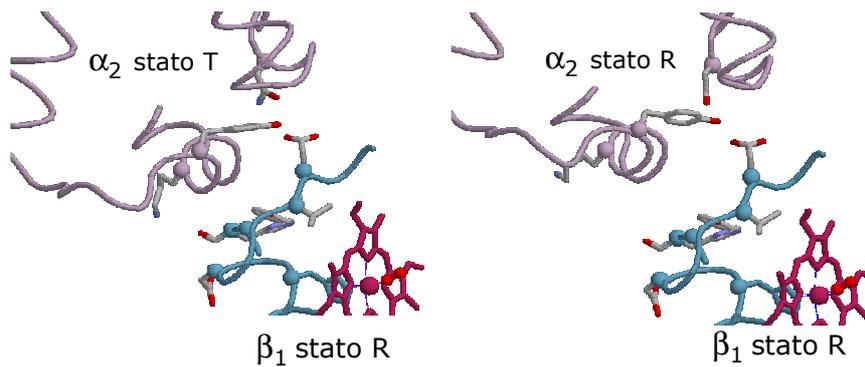
- Il legame dell'ossigeno sposta lo ione Fe^{2+} il quale si trascina l'elica e si rompe il legame idrogeno tra Asp e His.

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

49

Transizione T → R



- Cambia quindi la distribuzione dei legami idrogeno all'interfaccia α/β e cambia quindi lo stato della subunità adiacente che passa da T a R con aumento dell'affinità per O_2 .

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

50

Regolazione

- pH
 - Effetto Bohr
 - Effetto Root
- CO_2
 - Formazione di bicarbonato, (anidrasi carbonica)
 - Formazione di carbammati
- Cl^-
 - Scambio $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$
 - Formazione di ponti salini
- Composti fosforilati
 - 2,3 bifosfoglicerato
 - Inositoli fosfati
 - ATP, GTP

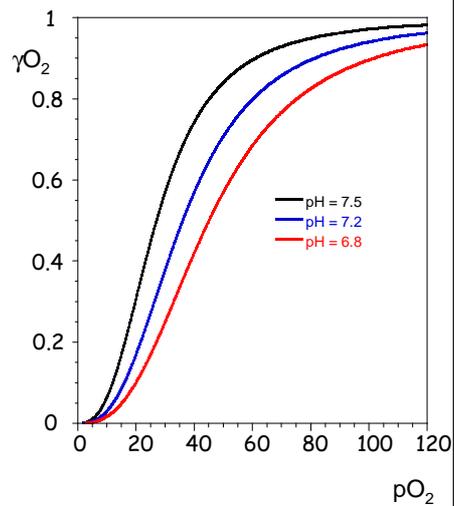
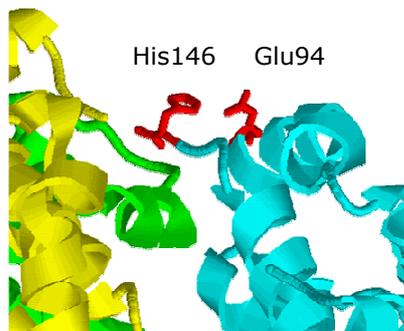
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

51

Effetto Bohr

- L'affinità per l' O_2 è sensibile al pH.
- pH acido; diminuzione dell'affinità.
- Il ponte salino tra Glu94 e His146 si forma solo nello stato T.
- L'eccesso di H^+ forma il ponte salino e favorisce lo stato deossi.



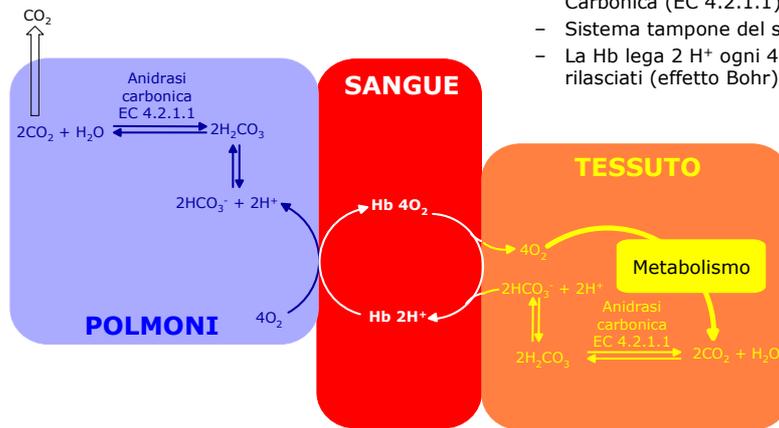
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

52

CO₂ ed effetto Bohr

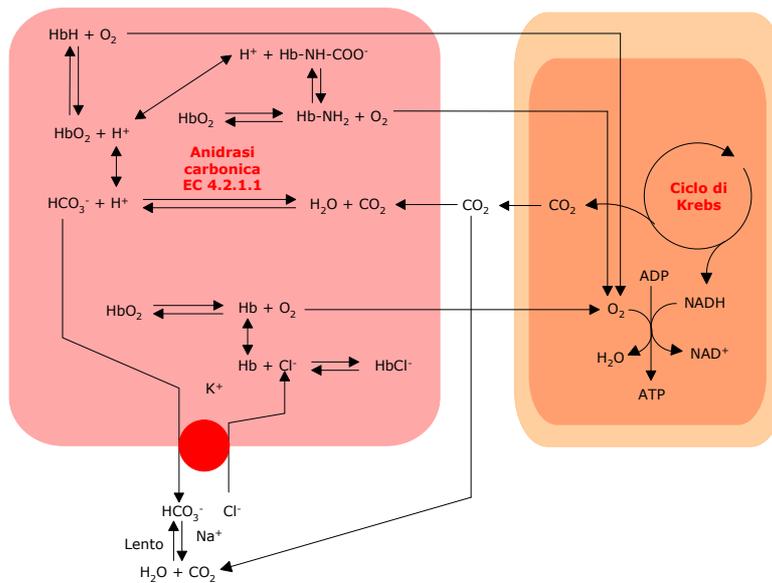
- Nei polmoni
 - Bassa pCO₂ la reazione avviene in senso opposto
 - CO₂ e H⁺ rilasciati da Hb
 - Aumenta l'affinità per O₂



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

53

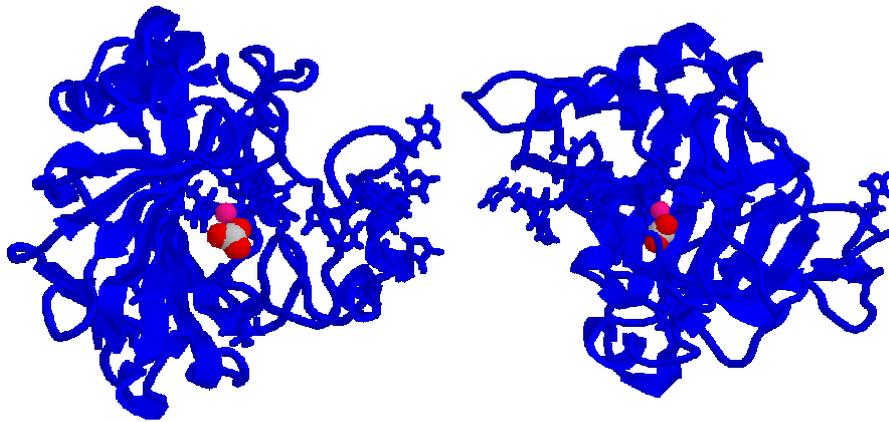


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

54

Anidraasi carbonica



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

55

Effetto Root

- Nei mammiferi l'aumento di acidità provoca l'effetto Bohr con una diminuzione di affinità per O_2 attraverso un aumento della K_m apparente,
- Nei pesci l'aumento di acidità provoca **anche** l'effetto Root con una diminuzione della massima quantità di O_2 che si può legare (varia la V_{max} apparente).
- L'acidosi, metabolica (acido lattico) o respiratoria (CO_2) porta ad una riduzione dell'affinità dell'Hb per O_2 ,
- IMPORTANTE PER IL RIEMPIMENTO DELLA VESCICA NATATORIA.

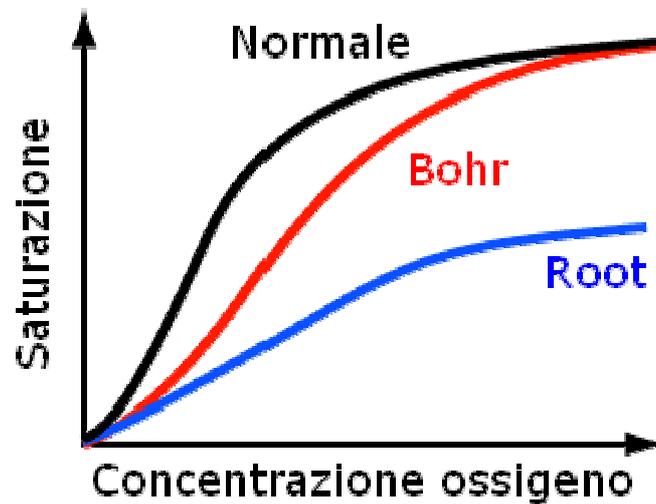
Root RW. The respiratory function of the blood of marine fishes. *Biol Bull* 61: 427-456, 1931.

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

56

Effetto Borh ed effetto Root



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

57

Emoglobine di pesci

- Al contrario dei mammiferi nei pesci c'è una grande varietà di emoglobine e nel meccanismo di modulazione del legame con l'ossigeno per adattarsi alle differenti condizioni ambientali
- Convenzionalmente le emoglobine dei pesci si dividono in due categorie elettroforetiche:
 - **Emoglobine "catodiche" con punto isoelettrico alto ($pI \geq 8$)**
 - **Emoglobine "anodiche" con punto isoelettrico basso ($pI \leq 8$)**
- Con differenti proprietà di modulazione del legame con l'O₂

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

58

Emoglobine di pesci

- L'anguilla europea (*Anguilla anguilla*) viene considerata come specie modello con due distinte emoglobine:
- Una Hb catodica la cui affinità con l'O₂ è debolmente influenzata dal pH (piccolo effetto Bohr)
- Una Hb anodica che ha una minore affinità per l'O₂ e con un grande effetto Bohr e Root.
- Oltre a nuotare, striscia.



Effetto Root e galleggiamento

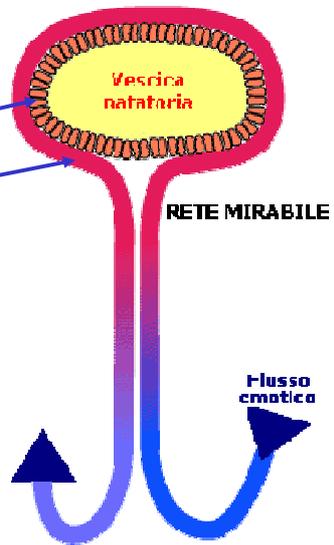
- Il gas che riempie la vescica natatoria è principalmente O₂
- La Hb dei pesci è estremamente sensibile all'acidità, l'ambiente acido a causa della produzione di acido lattico o CO₂
- Il valore della costante di Hill, n

$$\gamma_{O_2} = \frac{[O_2]^n}{K_D + [O_2]^n}$$

- diminuisce fino a valori al disotto dell'unità (cooperatività negativa) con rilascio (fino al 80%) dell'ossigeno legato all'Hb in prossimità della vescica natatoria.

Vescica natatoria

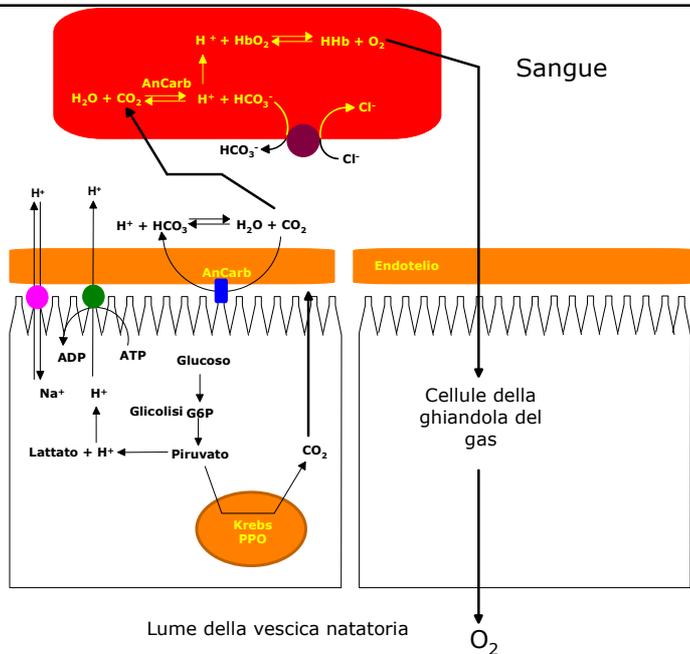
- Le cellule producono acido lattico da glucoso
- L'acidità generata dall'acido lattico provoca l'effetto Root



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

61



Adattato da: *The Generation of Hyperbaric Oxygen Tensions in Fish*. Bernd Pelster. *News Physiol. Sci.* (2001), 16, 287-291.

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

62

Altri pigmenti respiratori

- Clorocruine **OSSI** - **DEOSSI**
 - Utilizzate fundamentalmente dagli anellidi.
 - Proteine con gruppo eme,
 - Formano dimeri e trimeri di trimeri
- Emocianine **OSSI** - **DEOSSI**
 - Utilizzata da bivalvi, cefalopodi, gasteropodi, crostacei...
 - Proteine con due ioni Cu^{2+} per subunità.
 - Formano insiemi di trimeri (esameri, dodecameri, 24-meri)
- Emeritrine **OSSI** - **DEOSSI**
 - Utilizzata fundamentalmente dagli anellidi.
 - Proteine con due ioni Fe^{2+} tenuti insieme da un atomo di ossigeno per subunità.

gs © 2001-2011 ver 0.1

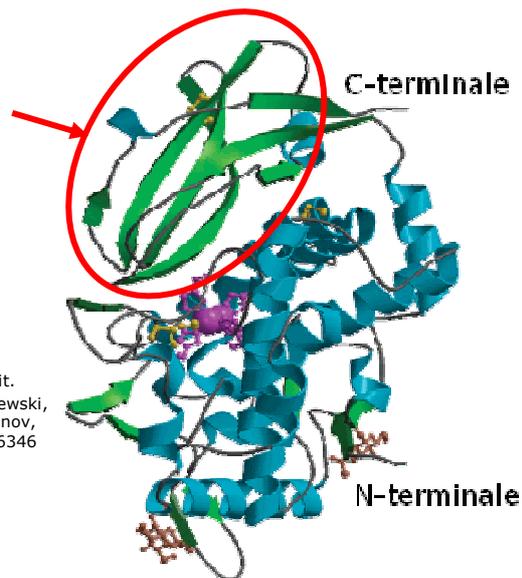
L05 - Trasporto dell'ossigeno

63

Emocianina da *Rapana thomasiana*

- Monomero

- Struttura β -sandwich



Structure of a Hemocyanin Functional Unit.
M. Perbandt, E.W. Guthöhrlein, W. Rypniewski,
K. Idakieva, S. Stoeva, W. Voelter, N. Genov,
C. Betzel. *Biochemistry* **2003**, *42*, 6341-6346

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

64

Rapana thomasiana

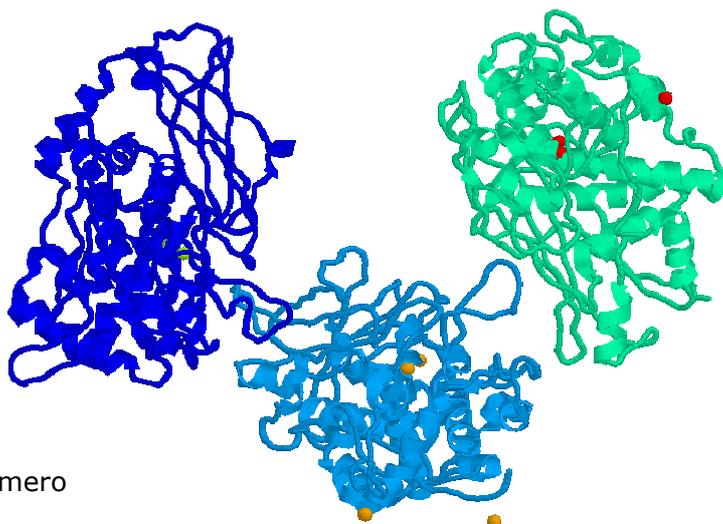


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

65

Emocianina da *Rapana thomasiana*



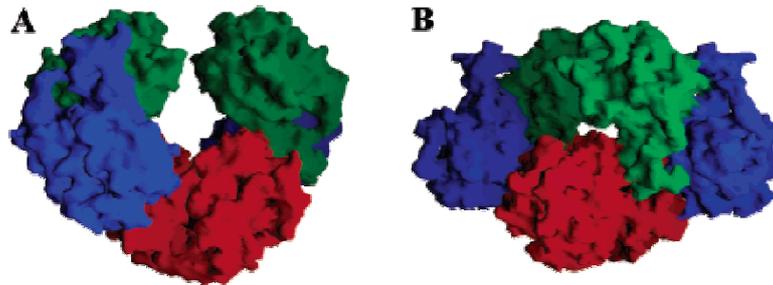
- Trimero

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

66

Emocianina da *Rapana thomasi*



- Superficie molecolare di due trimeri di emocianina di *R. thomasi* colorati in differenti colori.
- L'interazione è testa-coda formando una struttura esamerica cilindrica.

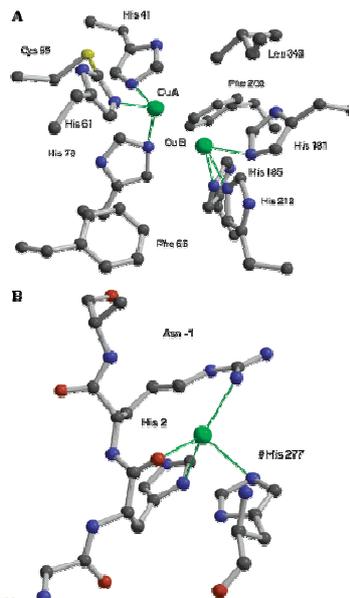
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

67

Emocianina da *Rapana thomasi*

- A. Residui coinvolti nella formazione del sito attivo che comprende un legame tioestere tra Cys59 e His61.
- B. Legami di coordinazione dello ione Cu^{2+} nelle vicinanze della porzione N-terminale coordinato a His277 del protomero vicinale.

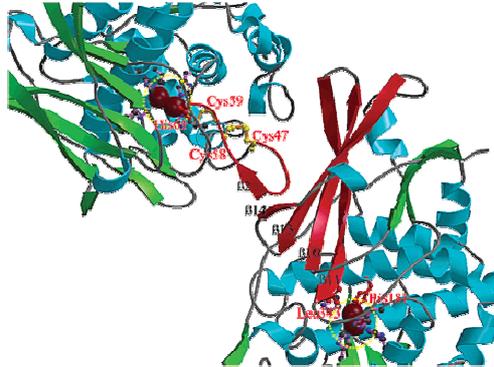


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

68

Emocianina da *Rapana thomasiana*



- Il meccanismo alla base della cooperatività del legame con l'ossigeno è stato postulato sulla base del trasferimento del cambiamento conformazionale da un sito attivo alla subunità vicina. Le regioni coinvolte sono colorate in rosso.

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

69

Panulirus Interruptus

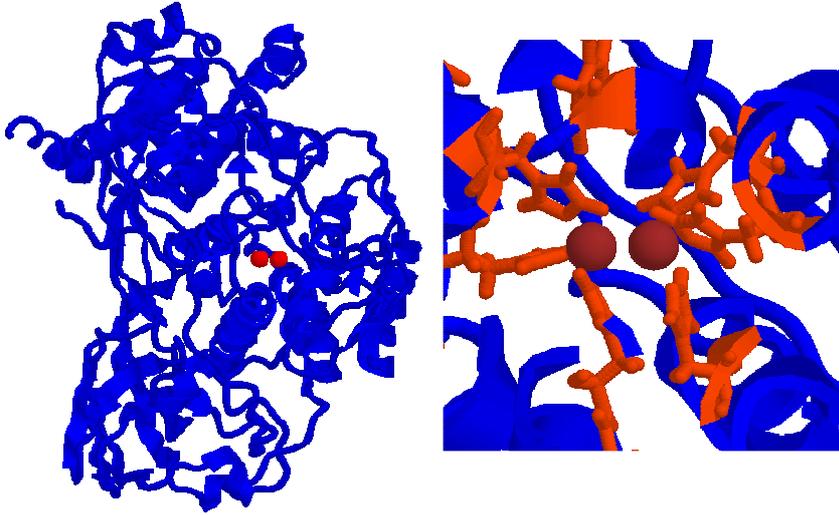


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

70

Emocianina da *Panulirus Interruptus*
(monomero)

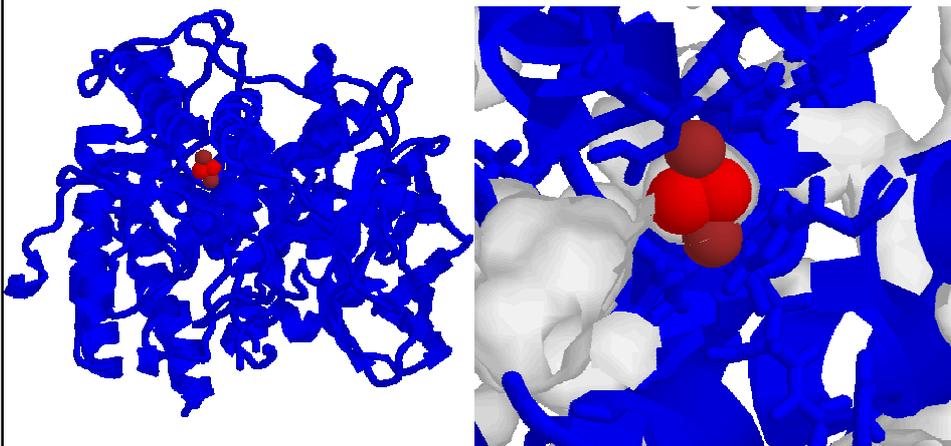


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

71

Emocianina da *Panulirus Interruptus*
(monomero)



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

72

Themiste Dyscrita

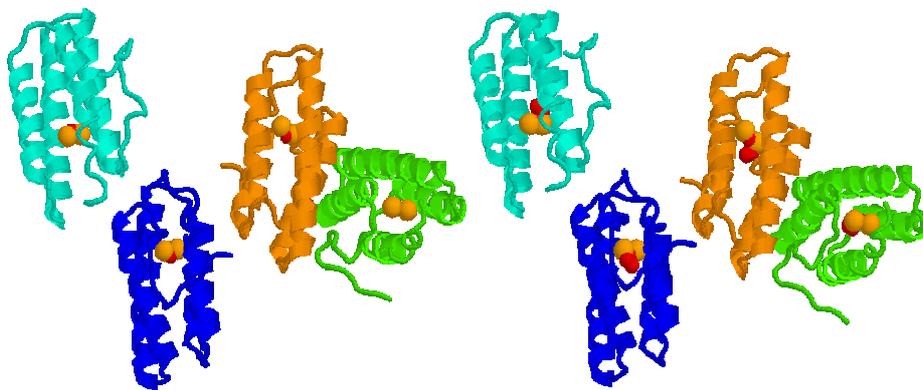


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

73

Emeritina di *Themiste Dyscrita*

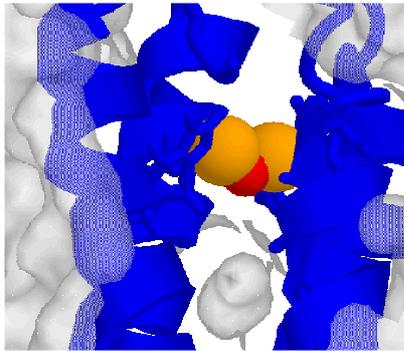


gs © 2001-2011 ver 0.1

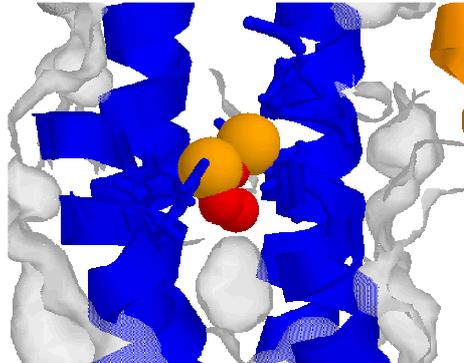
L05 - Trasporto dell'ossigeno

74

Emeritina di *Themiste Dyscrita*



DEOSSI



OSSI

gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

75

Phascolopsis Gouldii

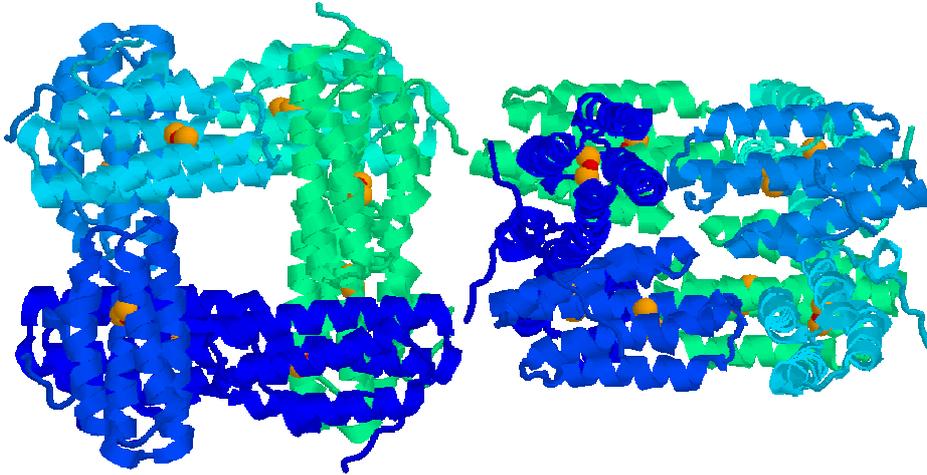


gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

76

Emeritina da *Phascolopsis Gouldii* (deossigenata)



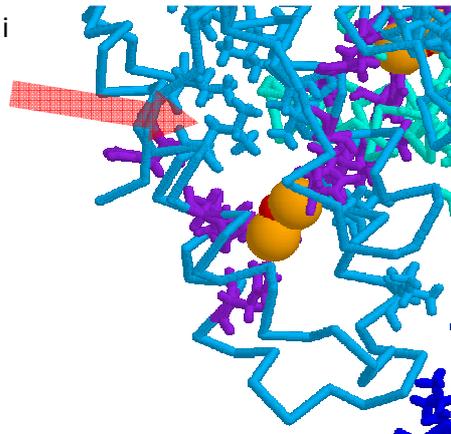
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

77

Emeritina da *Phascolopsis Gouldii* (deossigenata)

- Le dimensioni del sito di legame con l'ossigeno vengono definite da un residuo di Leucina.



gs © 2001-2011 ver 0.1

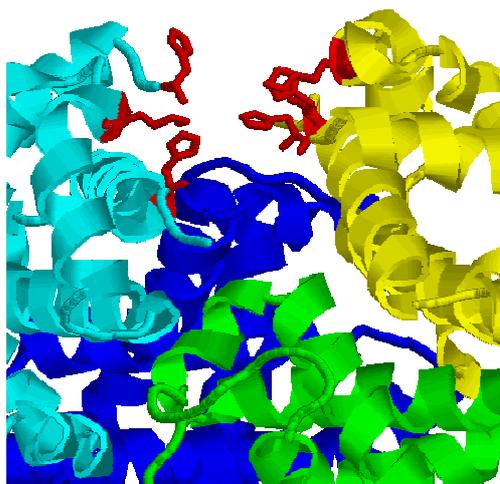
L05 - Trasporto dell'ossigeno

78

Adattamento a lungo termine

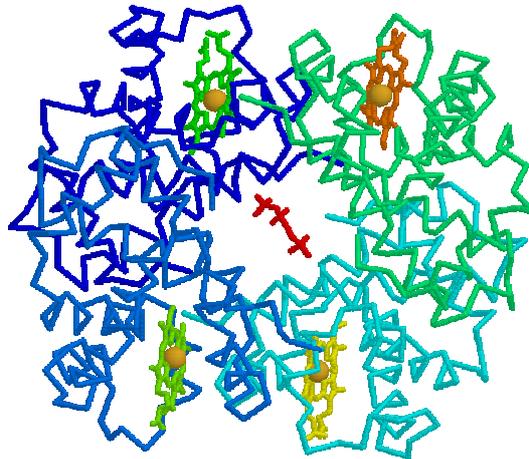
Composti fosforilati

- Il 2,3 bifosfoglicerato (2,3-BPG) è un sottoprodotto della glicolisi.
- La sua presenza è un segnale di necessità di O_2 .
- Si lega alla forma T nella "regione cationica".
- Una volta legato favorisce la forma deossi, favorisce quindi il rilascio di O_2 al tessuto.



Altra vista del 2,3-BPG

- Nei mammiferi il 2,3-BPG funziona come una "zeppa" che favorisce lo stato T dell'emoglobina.
- Forza il rilascio di O_2 nel tessuto.
- È largamente responsabile dell'adattamento all'altitudine.



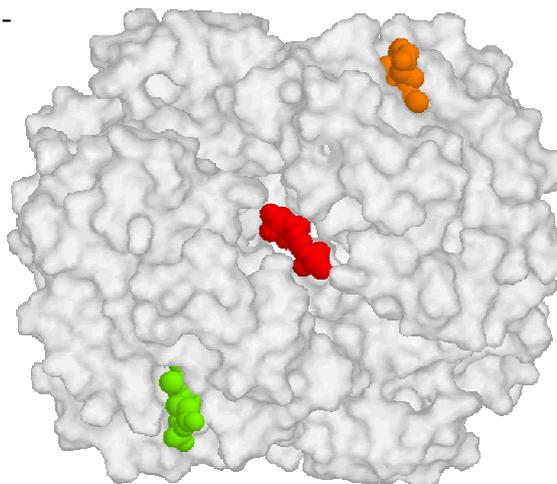
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

81

Altra vista del 2,3-BPG

- Nei mammiferi il 2,3-BPG funziona come una "zeppa" che favorisce lo stato T dell'emoglobina.
- Forza il rilascio di O_2 nel tessuto.
- È largamente responsabile dell'adattamento all'altitudine.



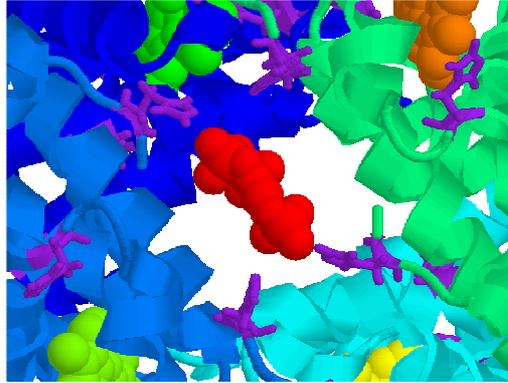
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

82

Composti fosforilati

- Il 2,3 bifosfoglicerato (2,3-BPG) è un sottoprodotto della glicolisi.
- La sua presenza è un segnale di necessità di O_2 .
- Si lega alla forma T nella "regione cationica".
- Una volta legato favorisce la forma deossi, favorisce quindi il rilascio di O_2 al tessuto.



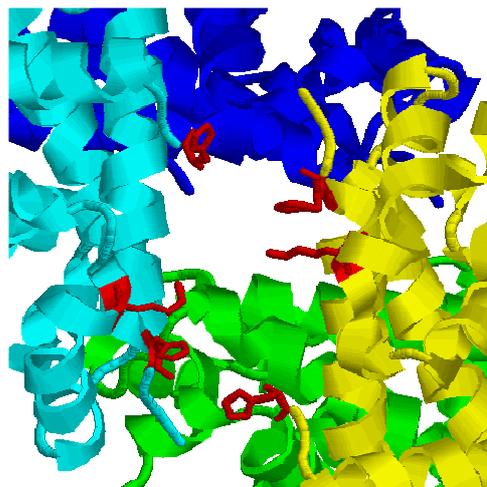
gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

83

Modulazione

- In altri organismi (Pesci teleostei, elasmobranchi, rettili ecc.) tale effetto viene provocato da altri composti fosforilati:
 - Inositoli fosfati,
 - ATP,
 - GTP.



gs © 2001-2011 ver 0.1

L05 - Trasporto dell'ossigeno

84

Emoglobina? **NO** grazie!

Pesci antartici

Temperatura corporea bassa
(-1.7°C)

l'acqua salata congela a -1.8°C

- Solubilità O_2 0.3%
- Basso metabolismo
- Nessun pigmento respiratorio
 - Risparmio di sintesi proteica
- Bassa viscosità del "sangue"
 - Facile da pompare
 - Poca spesa energetica



Tutorial

- Per visualizzare un tutorial su mioglobina ed emoglobina visitare il sito:
<http://www.worthpublishers.com/lehninger3d/index.html>



- Utilizzando la versione 4.7 di NETSCAPE completo di plugin CHIME.
- Entrambi sono scaricabili da:

<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/software.html>



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/>
 - Expsy (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>

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