



1

## 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.

V 2.0 © gsartor 2001-2019 B07 - Il trasporto dell'ossigeno - 2 -

2

## I pigmenti respiratori

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

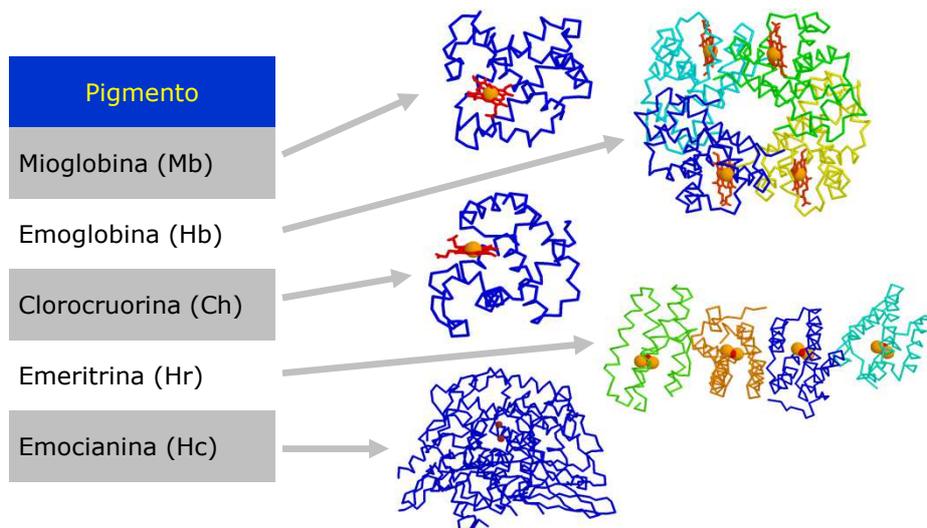
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 3 -

3

## I pigmenti respiratori



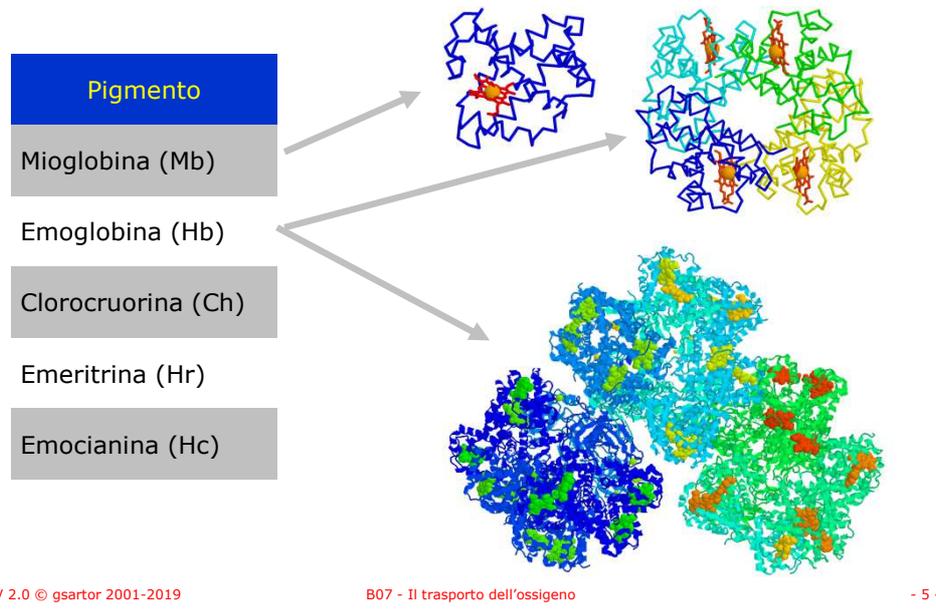
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 4 -

4

## I pigmenti respiratori



5

## Proteine multimeriche

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

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 6 -

6

## Perché i pigmenti respiratori

- Aria
  - Volume occupato da 1 mole di gas: 22.4 L (STP)
  - Contenuto di gas in 1 litro di aria:  $1/22.4 = 0.045$  moli = 45 mmoli
  - Solo 21% dei gas dell'aria è  $O_2$ , quindi  $45 \cdot 21/100 = 9.5$  mmoli
- Acqua o plasma
  - Solubilità di  $O_2$  in acqua ( $\alpha$ ):  $1.4 \times 10^{-6}$  moli  $\cdot$  L $^{-1}$   $\cdot$  mmHg $^{-1}$  (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:  $[O_2] = (0.21 \cdot 0.5) + (10 \cdot 0.5) = 0.105 + 5 = 5.105$  mmoli (2% + 98%)
- 98% dell' $O_2$  del sangue è legato a Hb, 2% è disciolto nel plasma.

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 7 -

7

## Cellule specializzate

- Globuli rossi
  - Prive di nucleo
  - Alto contenuto in Hb
  - Previene l'effetto osmotico



V 2.0 © gsartor 2001-2019

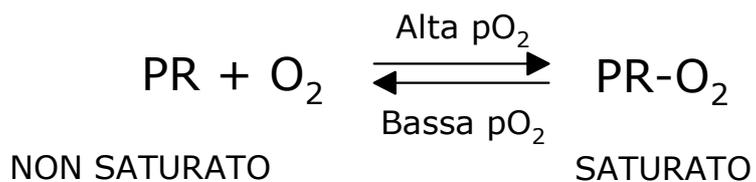
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 8 -

8

## Legame con l'ossigeno

- Dipende da  $pO_2$



V 2.0 © gsartor 2001-2019

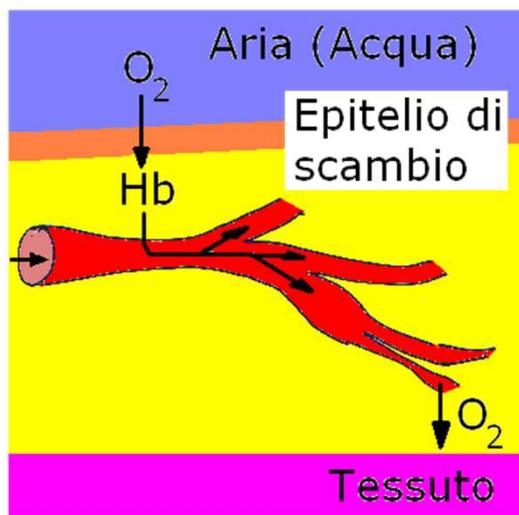
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 9 -

9

## Legame con l'ossigeno

- Dipende da  $pO_2$



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 10 -

10

## Mioglobina ed Emoglobina

- Le funzioni biologiche delle due proteine sono diverse:
  - Mioglobina: lega strettamente l'O<sub>2</sub> e lo rende disponibile SOLO quando la pO<sub>2</sub> è **molto** bassa (muscolo, cetacei in immersione).
  - Emoglobina: lega l'O<sub>2</sub> quando la pO<sub>2</sub> è alta (polmoni, branchie) rilascia l'O<sub>2</sub> quando la pO<sub>2</sub> è bassa (tessuti, cellule).
- La struttura delle due proteine è diversa:
  - Mioglobina: monomero con gruppo prostetico (eme) che complessa uno ione Fe<sup>2+</sup>.
  - Emoglobina: tetramero (nei mammiferi) fatto di subunità (α<sub>2</sub>β<sub>2</sub>) ognuna delle quali è simile alla mioglobina e contiene un gruppo prostetico (eme) che complessa uno ione Fe<sup>2+</sup>.

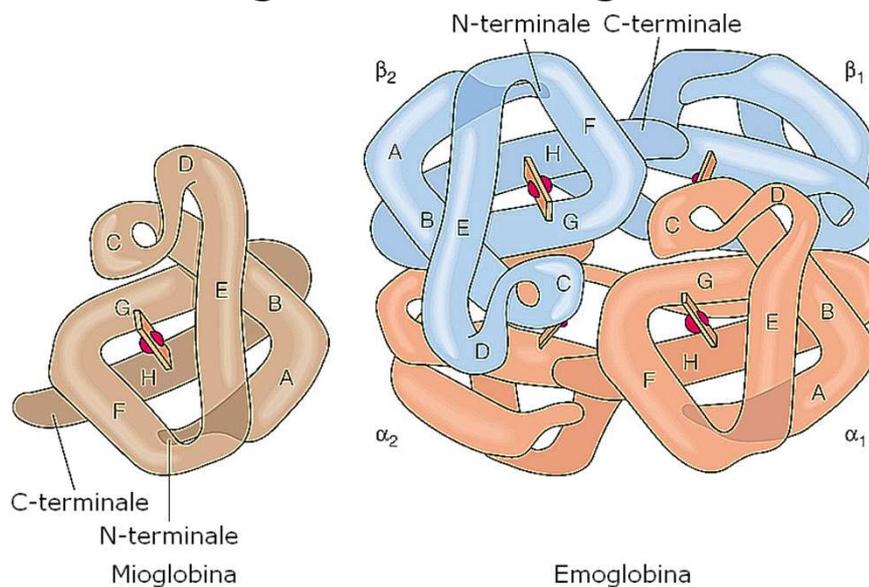
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 11 -

11

## Mioglobina e emoglobina



V 2.0 © gsartor 2001-2019

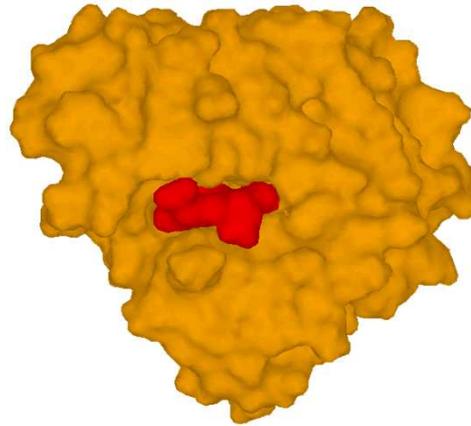
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 12 -

12

## Mioglobina

- Trasporto dell'O<sub>2</sub>, immagazzinamento nella cellula.
- Due parti:
  - proteina
  - gruppo prostetico
- Proteina:
  - 155 aminoacidi, ~ 17 kDa.
  - Compatta, globina.
  - 75%  $\alpha$ -elica.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

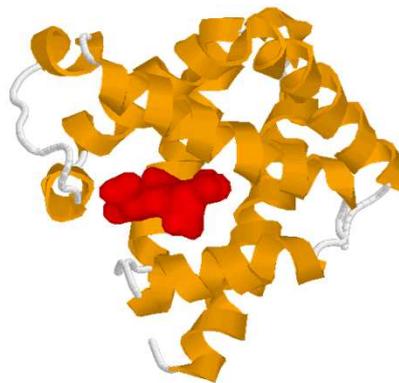
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 13 -

13

## Mioglobina

- Trasporto dell'O<sub>2</sub>, immagazzinamento nella cellula.
- Due parti:
  - proteina
  - gruppo prostetico
- Proteina:
  - 155 aminoacidi, ~ 17 kDa.
  - Compatta, globina.
  - 75%  $\alpha$ -elica.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

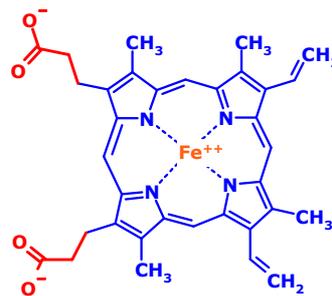
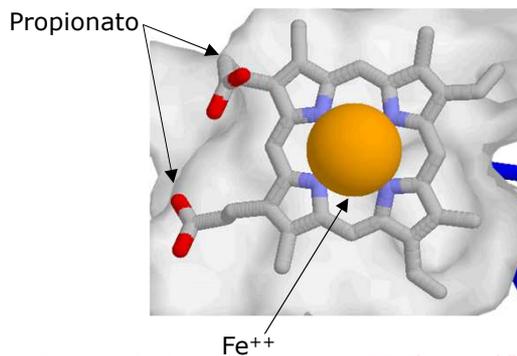
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 14 -

14

## Gruppo eme

- Il gruppo eme è composta di **porfirina** e **Fe<sup>2+</sup>**.
- La porfirina è un gruppo non polare, ci sono inoltre due gruppi polari di **propionato**.
- La porfirina lega O<sub>2</sub>, CO.
- CO è 10,000 volte più affine alla porfirina del O<sub>2</sub>.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

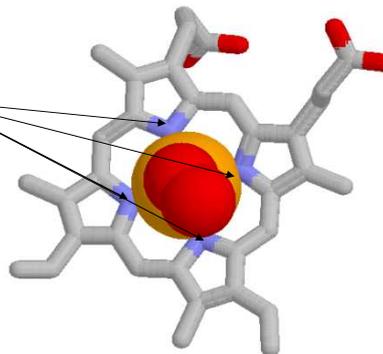
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 15 -

15

## Gruppo eme

- Lo ione Fe<sup>2+</sup> coordina sei atomi.
  - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
  - Una molecola di ligando
    - Ossiemoglobina lega O<sub>2</sub>
    - Deossiglobina lega H<sub>2</sub>O
    - Carbossiglobina lega CO.
  - Un atomo di azoto dall'His proximale.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

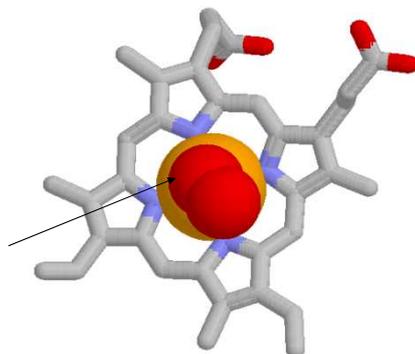
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 16 -

16

## Gruppo eme

- Lo ione  $\text{Fe}^{++}$  coordina sei atomi.
  - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
  - Una molecola di ligando
    - Ossiemoglobina lega  $\text{O}_2$
    - Deossiglobina lega  $\text{H}_2\text{O}$
    - Carbossiglobina lega  $\text{CO}$ .
  - Un atomo di azoto dall'His prossimale.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

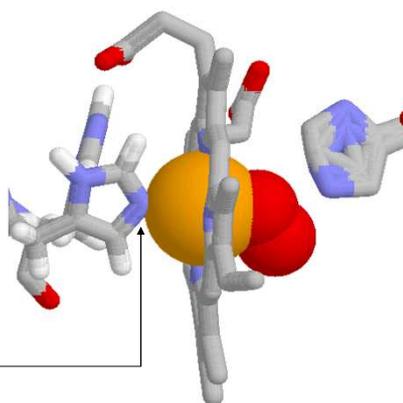
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 17 -

17

## Gruppo eme

- Lo ione  $\text{Fe}^{++}$  coordina sei atomi.
  - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
  - Una molecola di ligando
    - Ossiemoglobina lega  $\text{O}_2$
    - Deossiglobina lega  $\text{H}_2\text{O}$
    - Carbossiglobina lega  $\text{CO}$ .
  - Un atomo di azoto dall'His prossimale.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

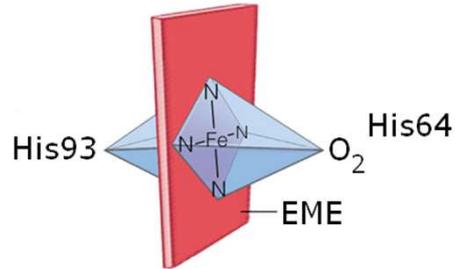
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 18 -

18

## Gruppo eme

- Lo ione  $\text{Fe}^{++}$  coordina sei atomi.
  - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
  - Una molecola di ligando
    - Ossiemoglobina lega  $\text{O}_2$
    - Deossiglobina lega  $\text{H}_2\text{O}$
    - Carbossiglobina lega  $\text{CO}$ .
  - Un atomo di azoto dall'His prossimale.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

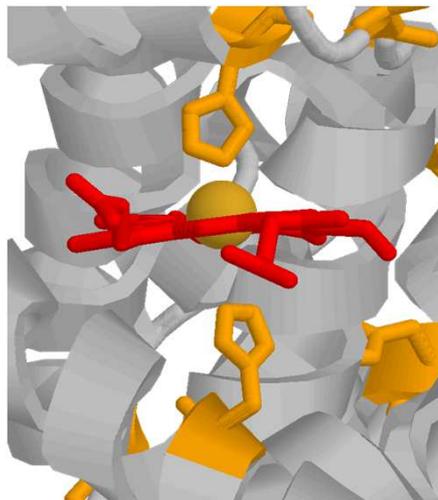
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 19 -

19

## Gruppo eme

- Lo ione  $\text{Fe}^{++}$  coordina sei atomi.
  - Quattro atomi di azoto del gruppo eme
  - Una molecola di ligando
    - Ossiemoglobina lega  $\text{O}_2$
    - Deossiglobina lega  $\text{H}_2\text{O}$
    - Carbossiglobina lega  $\text{CO}$ .
  - Un atomo di azoto dall'His prossimale.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

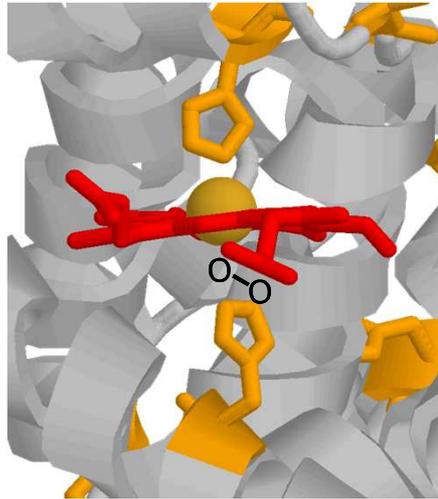
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 20 -

20

## Ligandi al gruppo eme

- Lo spazio compreso tra il  $\text{Fe}^{++}$  His distale permette il legame di ligandi bimolecolari ( $\text{O}_2$ , CO) solo con angoli di legame diversi da  $180^\circ$ .
- Il legame tra il  $\text{Fe}^{++}$  e il ligando con questo angolo è più labile di quello a  $180^\circ$ .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

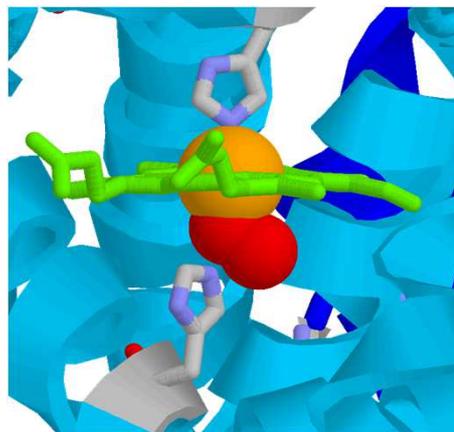
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 21 -

21

## Ligandi al gruppo eme

- Lo spazio compreso tra il  $\text{Fe}^{++}$  His distale permette il legame di ligandi bimolecolari ( $\text{O}_2$ , CO) solo con angoli di legame diversi da  $180^\circ$ .
- Il legame tra il  $\text{Fe}^{++}$  e il ligando con questo angolo è più labile di quello a  $180^\circ$ .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

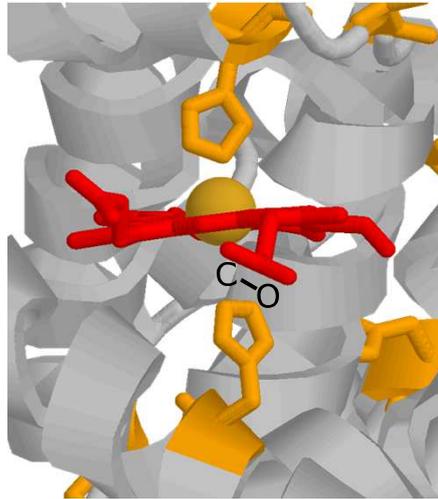
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 22 -

22

## Ligandi al gruppo eme

- Lo spazio compreso tra il  $\text{Fe}^{++}$  His distale permette il legame di ligandi bimolecolari ( $\text{O}_2$ , CO) solo con angoli di legame diversi da  $180^\circ$ .
- Il legame tra il  $\text{Fe}^{++}$  e il ligando con questo angolo è più labile di quello a  $180^\circ$ .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

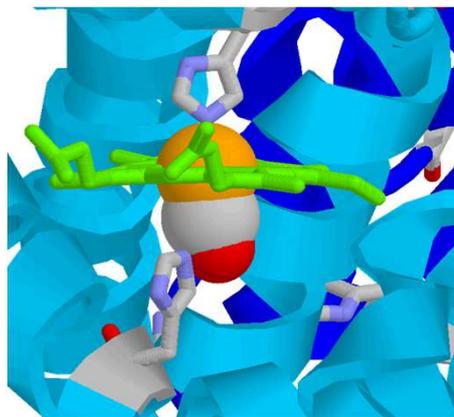
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 23 -

23

## Ligandi al gruppo eme

- Lo spazio compreso tra il  $\text{Fe}^{++}$  His distale permette il legame di ligandi bimolecolari ( $\text{O}_2$ , CO) solo con angoli di legame diversi da  $180^\circ$ .
- Il legame tra il  $\text{Fe}^{++}$  e il ligando con questo angolo è più labile di quello a  $180^\circ$ .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

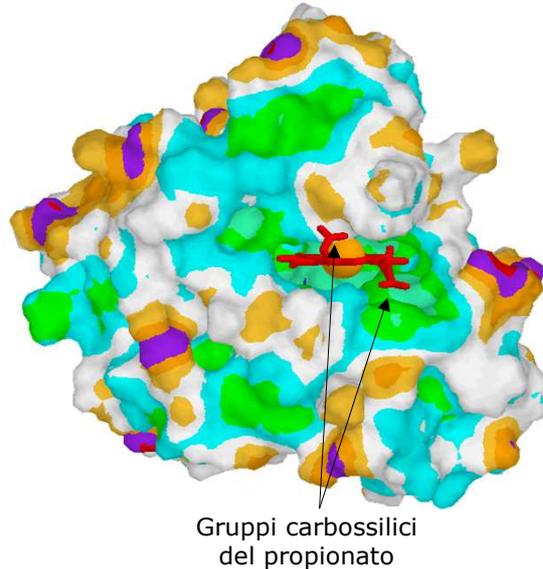
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 24 -

24

## 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.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

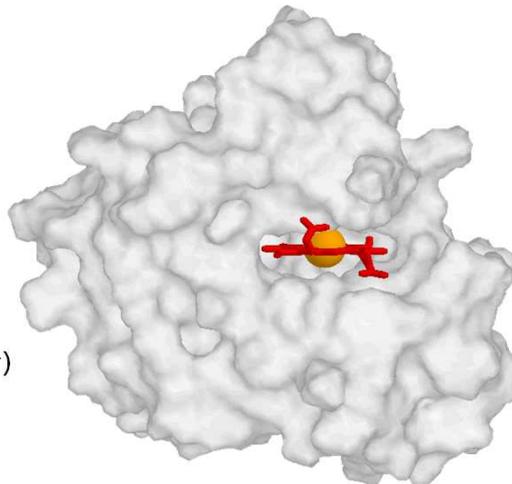
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 25 -

25

## 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 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) è inattiva.
  - Diminuisce il legame di CO.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

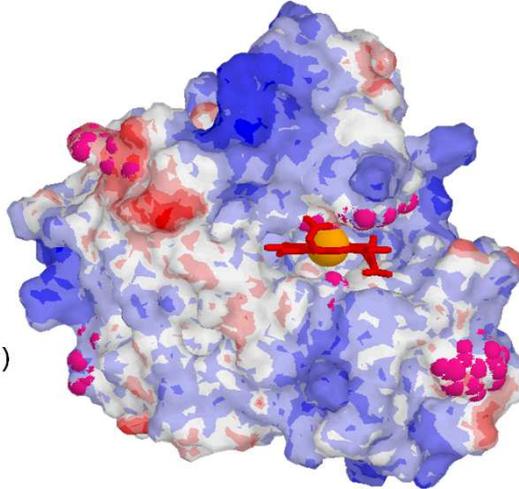
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 26 -

26

## 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 ( $\text{Fe}^{3+}$ ) è inattiva.
  - Diminuisce il legame di CO.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

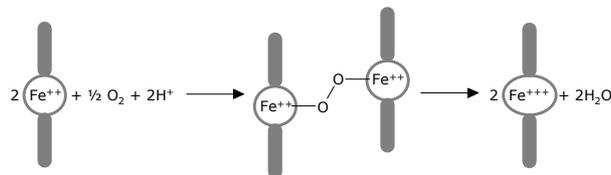
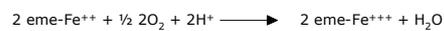
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 27 -

27

## Ossidazione del $\text{Fe}^{++}$

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

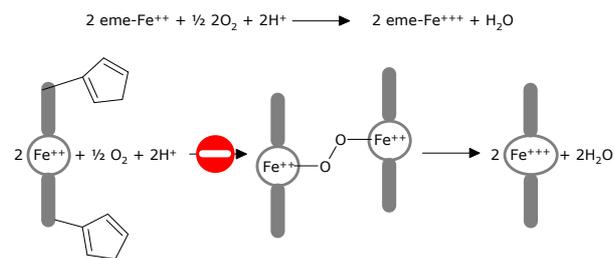
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 28 -

28

## Ossidazione del Fe<sup>++</sup>

- Il legame del Fe<sup>++</sup> attraverso la proteina impedisce l'ossidazione a Fe<sup>+++</sup> a seguito del legame con l'ossigeno:



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 29 -

29

## Emoglobina, enzima *honoris causa*

- In tutti gli animali superiori il metabolismo è aerobico,
- Assunzione diretta di O<sub>2</sub> efficace solo in organismi unicellulari,
- Emoglobina (Hb): trasporta O<sub>2</sub> dai polmoni ai tessuti,
- Mioglobina (Mb): presente nei tessuti muscolari, funge da deposito di O<sub>2</sub>,
- Se non ci fosse Hb, il cuore dovrebbe pompare sangue ad un flusso >100 maggiore.
  
- Ci sono organismi superiori che non hanno emoglobina?

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 30 -

30

# Pesci antartici

Temperatura corporea bassa  
(-1.7°C)

l'acqua salata congela a - 1.8°C

- Solubilità O<sub>2</sub> 0.3%
- Basso metabolismo
- Nessun pigmento respiratorio
  - Risparmio di sintesi proteica
- Bassa viscosità del "sangue"
  - Facile da pompare
  - Poca spesa energetica



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 31 -

31

# Nobel

"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

V 2.0 © gsartor 2001-2019

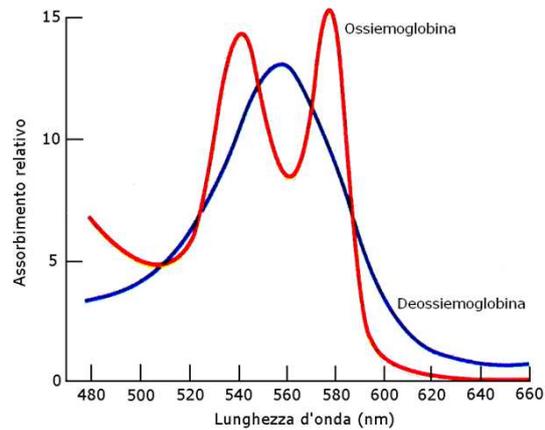
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 32 -

32

## Il colore del sangue

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 33 -

33

## Il colore del sangue

- Deossiglobine
- Ossiglobine
- Carbossiglobine
- Metaglobine



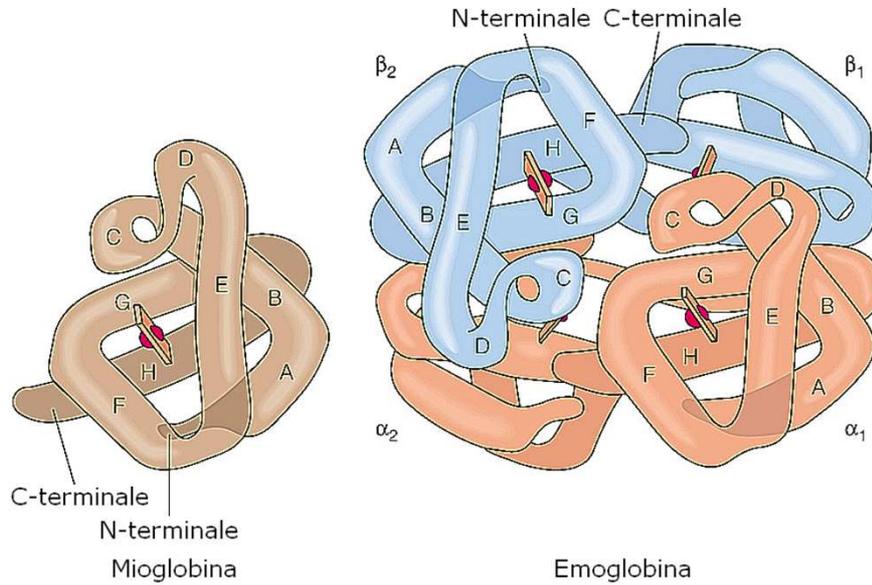
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 34 -

34

## Mioglobina e emoglobina



V 2.0 © gsartor 2001-2019

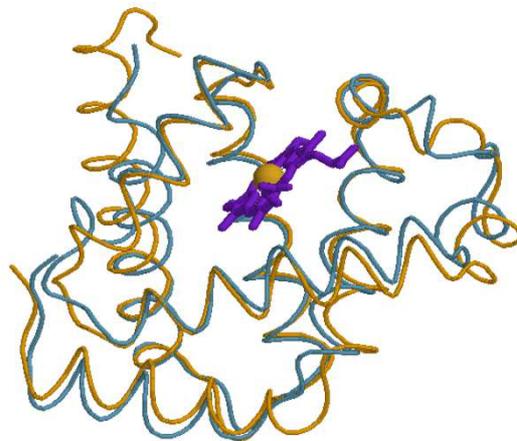
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 35 -

35

## 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  $Fe^{++}$  del gruppo eme



V 2.0 © gsartor 2001-2019

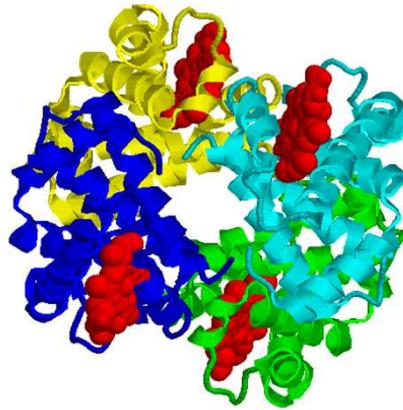
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 36 -

36

# Emoglobina

- Proteina tetrameric
- Dimero di dimeri,  $(\alpha\beta)_2$
- Le catene  $\alpha$ ,  $\beta$  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.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 37 -

37

# Il legame con l'ossigeno

- Nella mioglobina



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

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

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

V 2.0 © gsartor 2001-2019

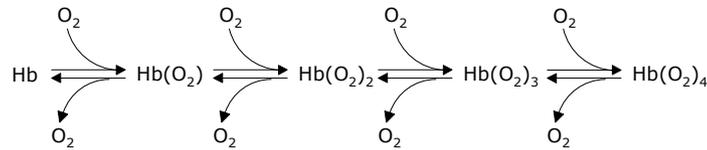
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 38 -

38

## 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 ( $\gamma_{\text{O}_2}$ ) la frazione di siti che hanno ossigeno legato:

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

V 2.0 © gsartor 2001-2019

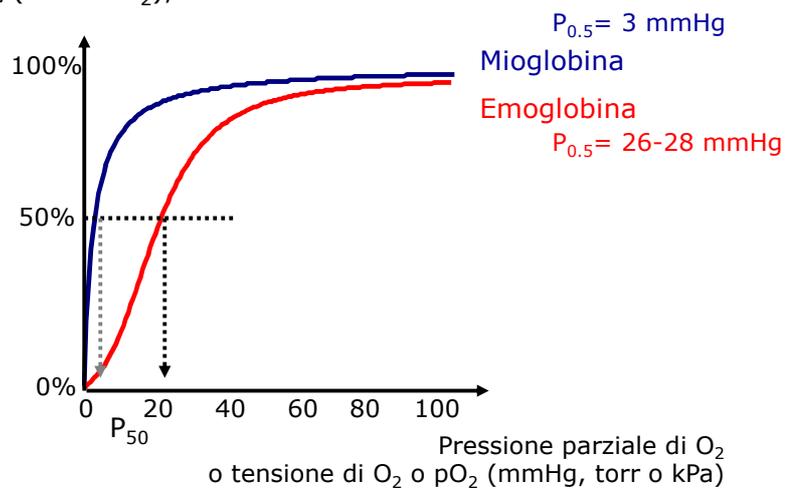
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 39 -

39

## Saturazione e $p\text{O}_2$

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 40 -

40

## 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
  - n < 1 cooperatività negativa
- 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

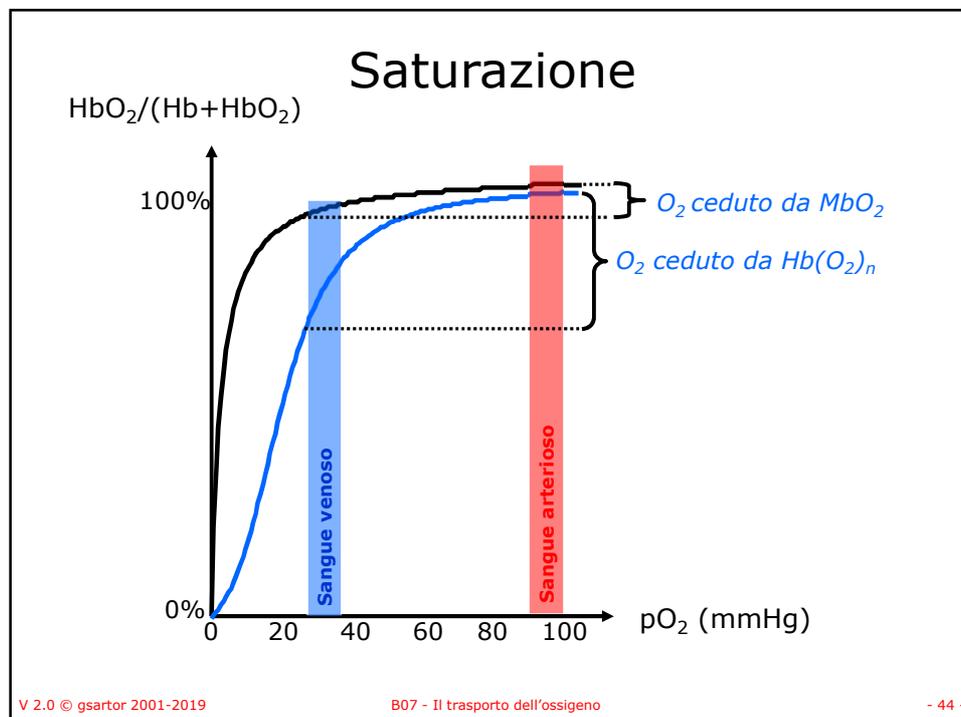
- La mioglobina è un ottimo sistema per immagazzinare  $O_2$ :
  - riesce a "caricarsi" di ossigeno anche a bassi valori di  $pO_2$  per tenerlo strettamente legato
  - $P_{0.5} (\gamma O_2 = 0.5)$  a  $pO_2 = 2.8$  torr.
- L'emoglobina è un ottimo sistema per trasportare l' $O_2$ :
  - Si carica di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

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 43 -

43



V 2.0 © gsartor 2001-2019

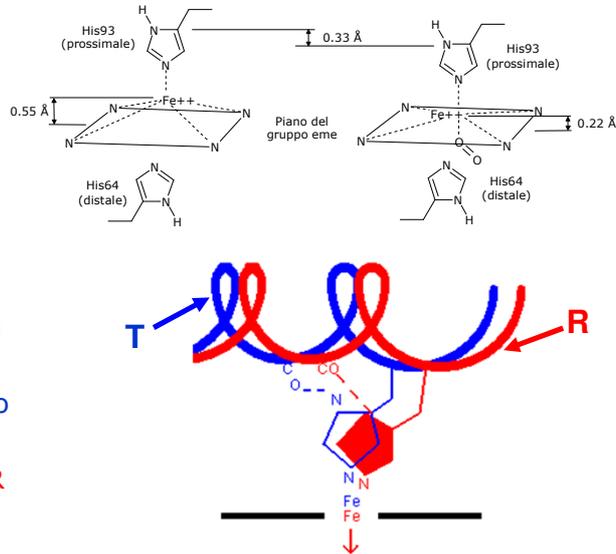
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 44 -

44

## Modello Molecolare

- Nello stato deossi il  $\text{Fe}^{++}$  è fuori dal piano del gruppo eme.
- Il legame con  $\text{O}_2$ , sposta il  $\text{Fe}^{++}$ .
- Trascina la His prossimale e l'elica.
- Il movimento altera l'interfaccia  $\alpha/\beta$ .
- Stato deossi = stato T (Tense)
- Stato ossi = stato R (Relaxed)



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

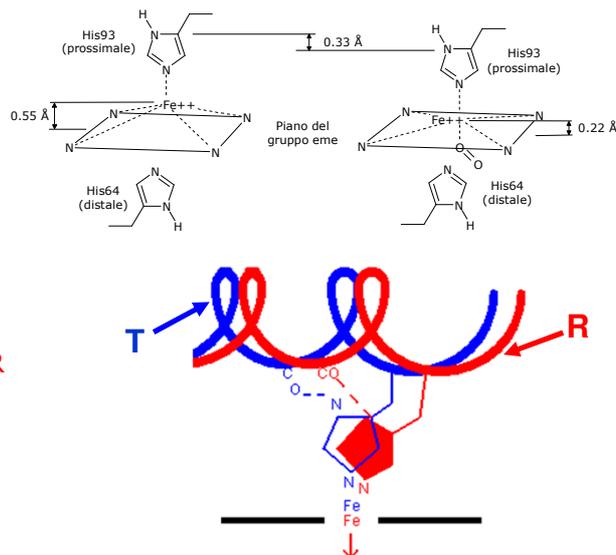
- 45 -

45

## 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)

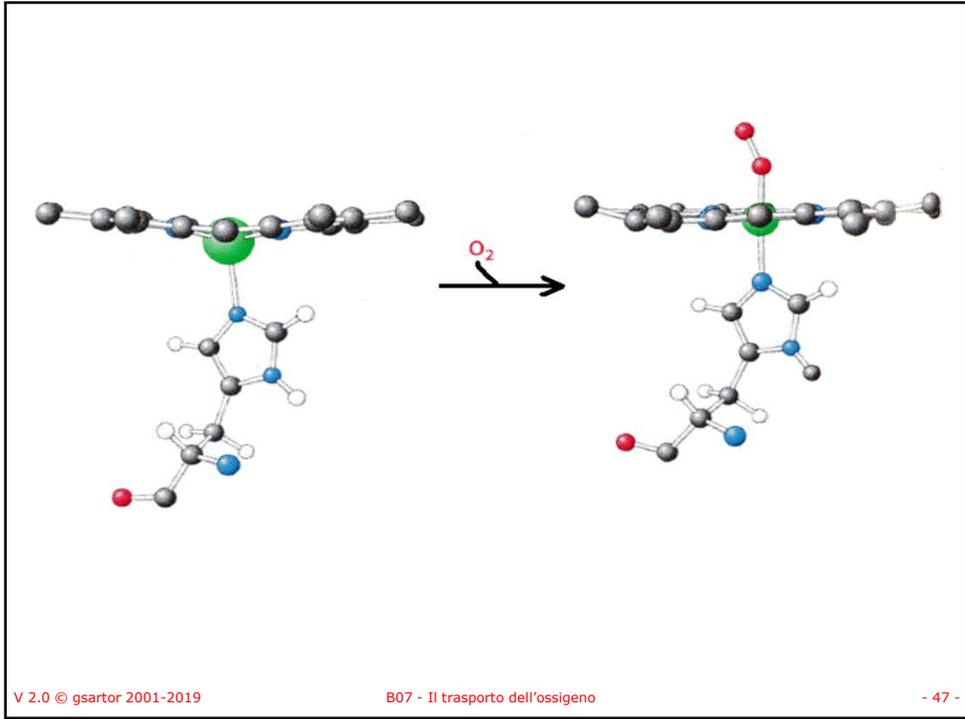


V 2.0 © gsartor 2001-2019

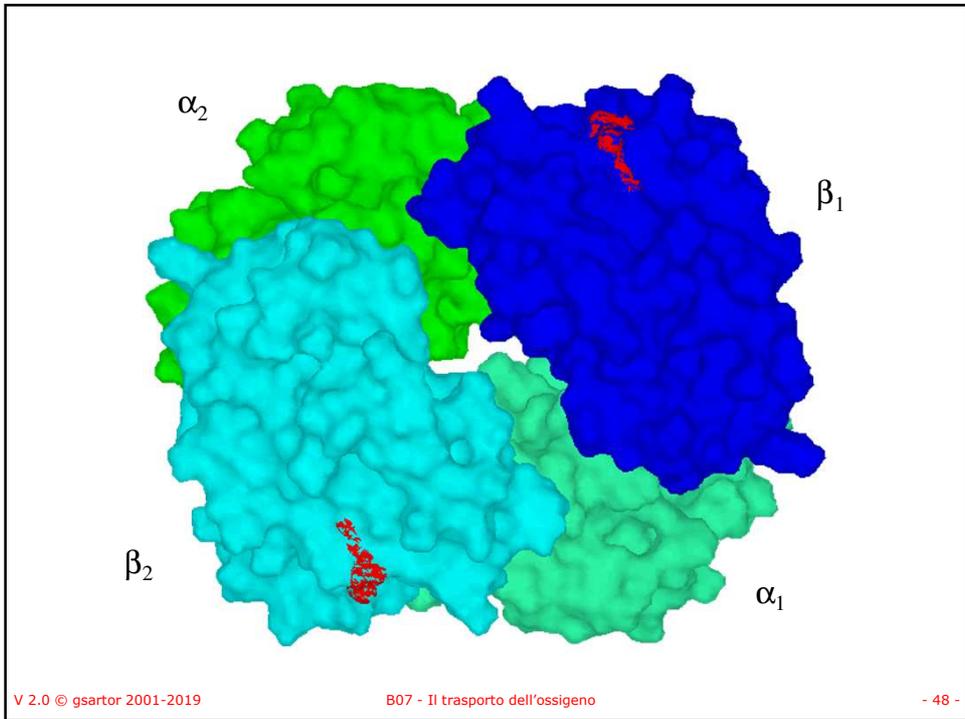
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 46 -

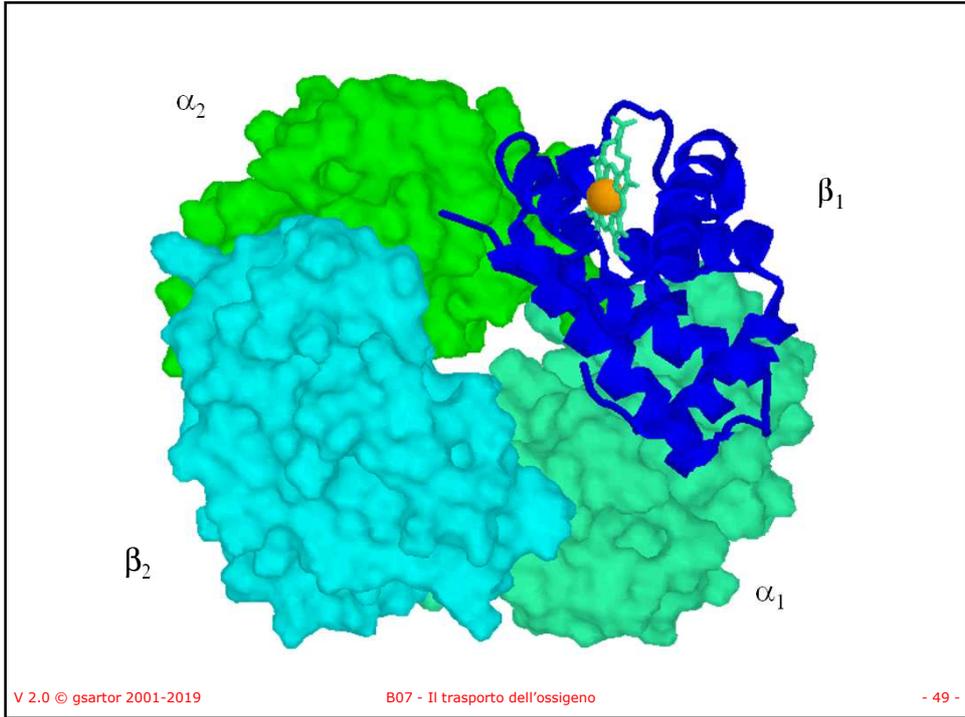
46



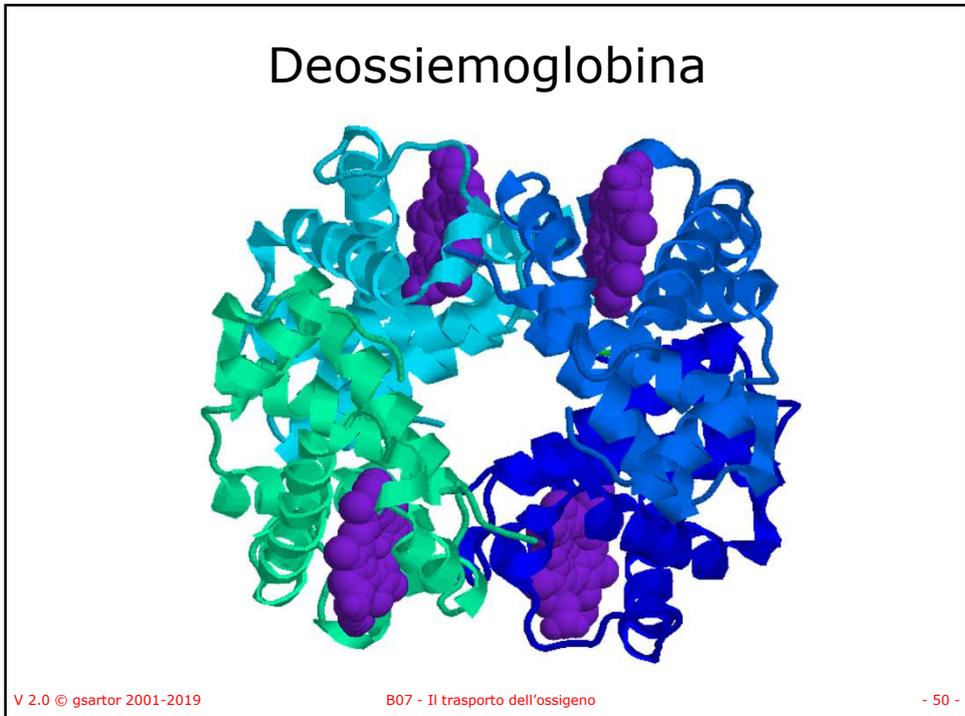
47



48

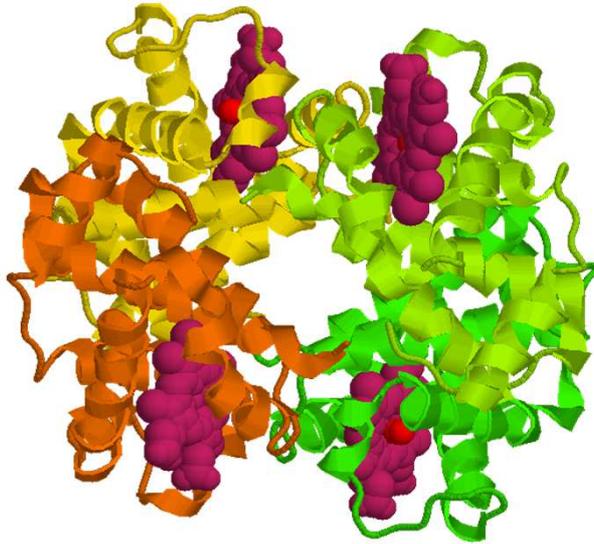


49



50

## Ossiemoglobina



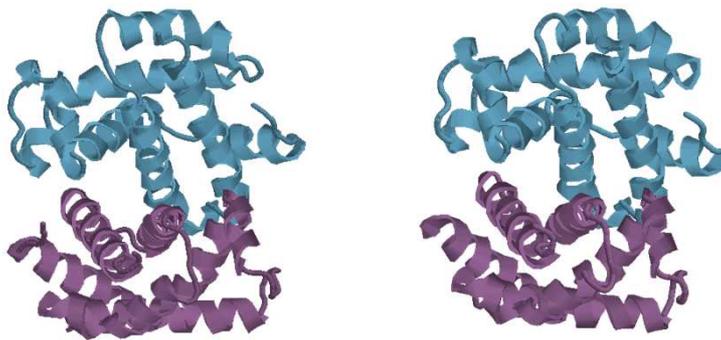
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 51 -

51

## Transizione $T \rightarrow R$



- 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.

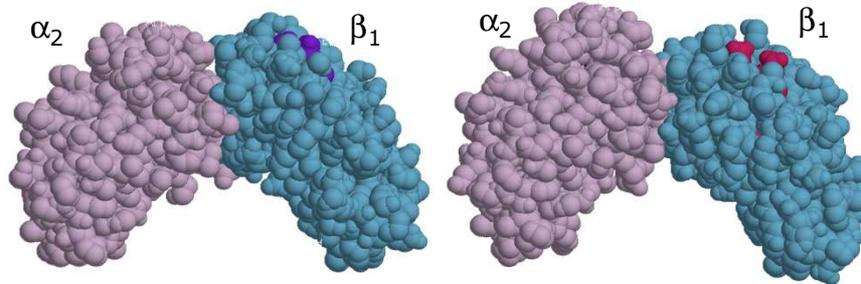
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 52 -

52

## Transizione T $\rightarrow$ R



- I maggiori riarrangiamenti avvengono all'interfaccia tra i due dimeri  $\alpha_2/\beta_1$  e  $\alpha_1/\beta_2$ .

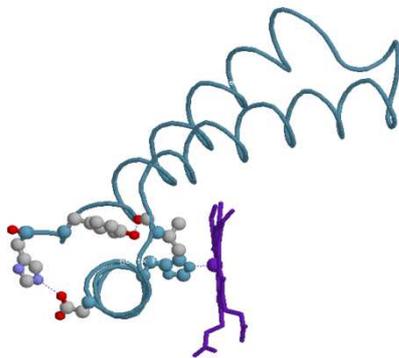
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 53 -

53

## Transizione T $\rightarrow$ 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  $\alpha_2/\beta_1$

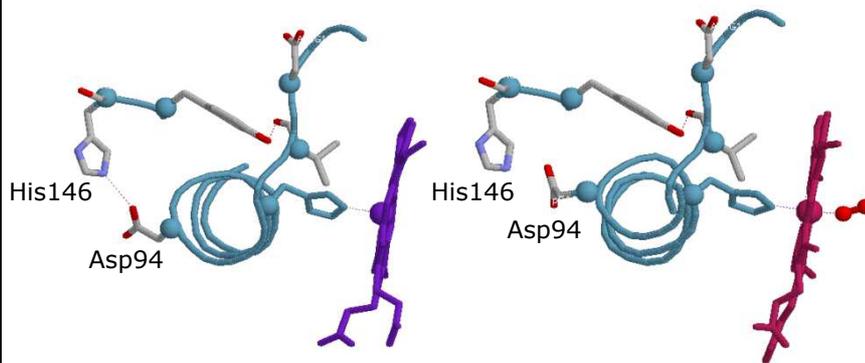
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 54 -

54

## Transizione T → R



- Il legame dell'ossigeno sposta lo ione  $Fe^{++}$  il quale si trascina l'elica e si rompe il legame idrogeno tra Asp94 e His146.

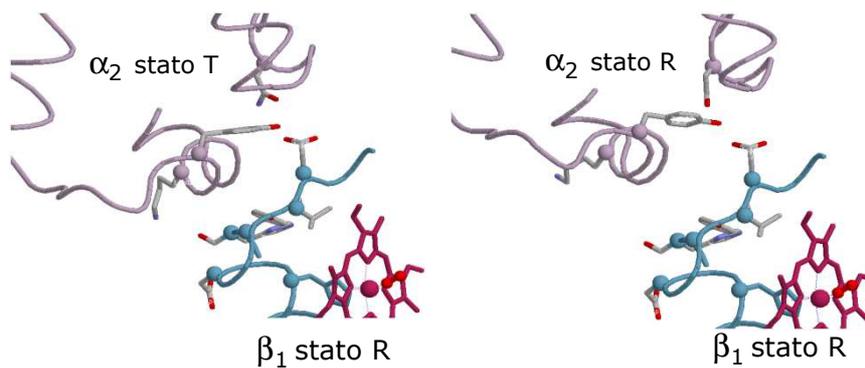
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 55 -

55

## Transizione T → R



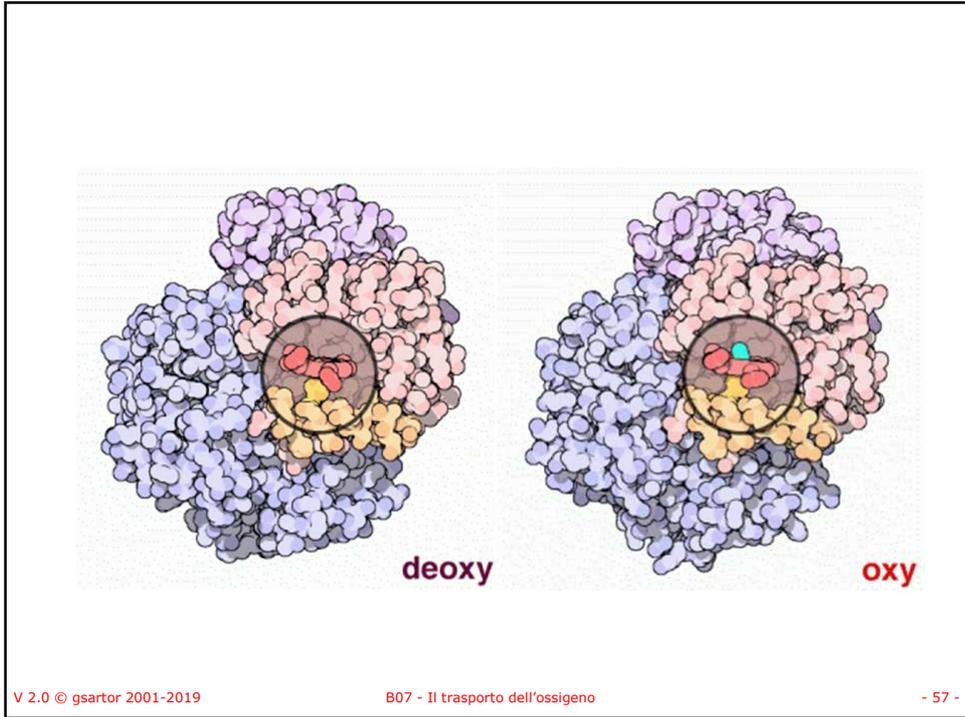
- Cambia quindi la distribuzione dei legami idrogeno all'interfaccia  $\alpha/\beta$  e cambia quindi lo stato della subunità adiacente che passa da T a R con aumento dell'affinità per  $O_2$ .

V 2.0 © gsartor 2001-2019

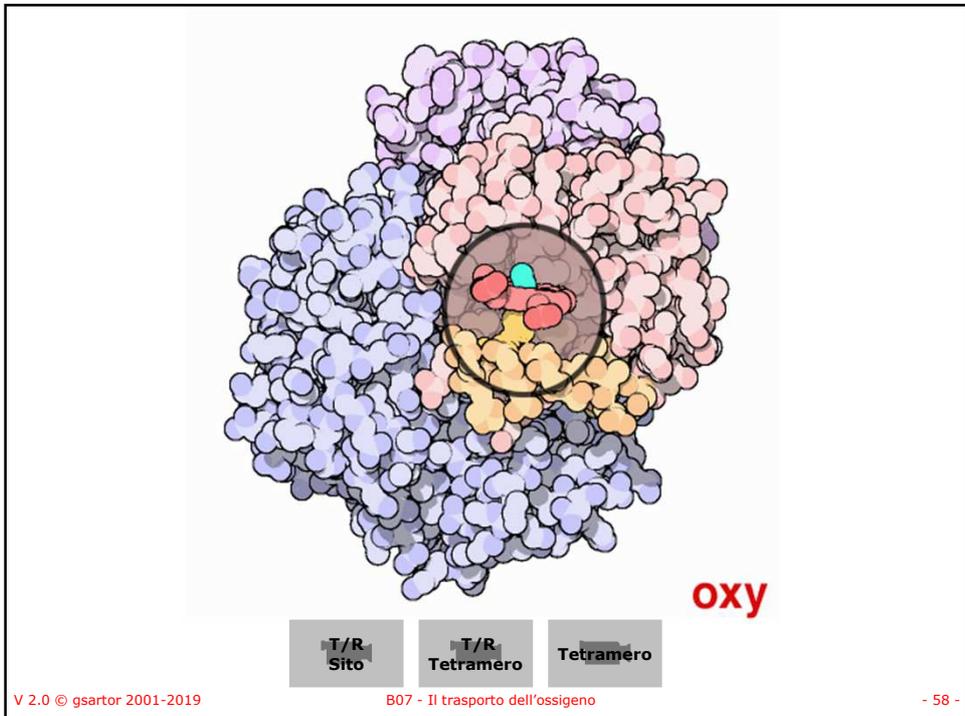
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 56 -

56



57



58

## Regolazione

- pH
  - Effetto Bohr
  - Effetto Root
- CO<sub>2</sub>
  - Formazione di bicarbonato, (anidrasi carbonica)
  - Formazione di carbammati
- Cl<sup>-</sup>
  - Scambio Cl<sup>-</sup>/HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>
  - Formazione di ponti salini
- Composti fosforilati
  - 2,3 bifosfoglicerato
  - Inositoli fosfati
  - ATP, GTP

V 2.0 © gsartor 2001-2019

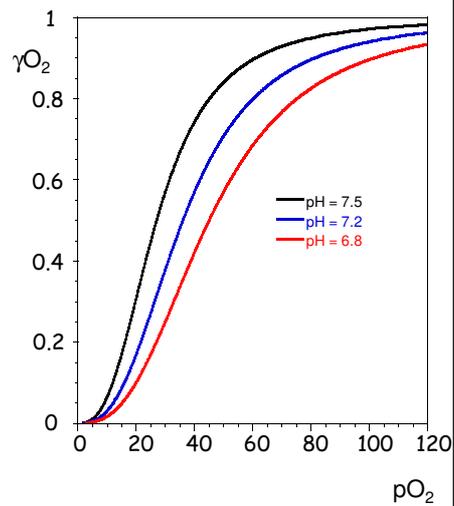
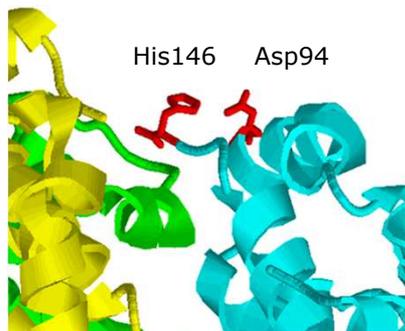
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 59 -

59

## Effetto Bohr

- L'affinità per l'O<sub>2</sub> è sensibile al pH.
- pH acido; diminuzione dell'affinità.
- Il ponte salino tra Asp94 e His146 si forma solo nello stato T.
- L'eccesso di H<sup>+</sup> forma il ponte salino e favorisce lo stato deossi.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

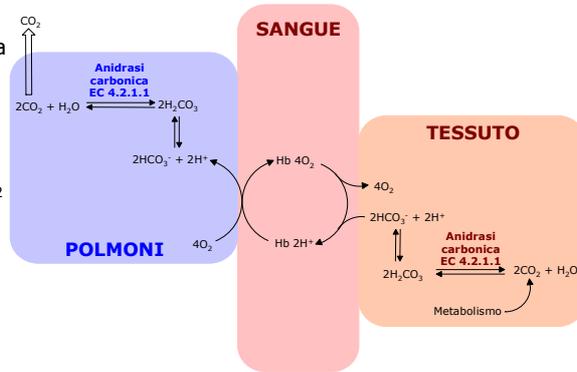
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 60 -

60

# CO<sub>2</sub> ed effetto Bohr

- Nel tessuto
  - La CO<sub>2</sub> è legata alla Hb per formare un carbammato o convertita in bicarbonato dall'enzima Anidrasi Carbonica (EC 4.2.1.1).
  - Sistema tampone del sangue
  - La Hb lega 2 H<sup>+</sup> ogni 4 O<sub>2</sub> rilasciati (effetto Bohr).
- Nei polmoni
  - Bassa pCO<sub>2</sub> la reazione avviene in senso opposto
  - CO<sub>2</sub> e H<sup>+</sup> rilasciati da Hb
  - Aumenta l'affinità per O<sub>2</sub>

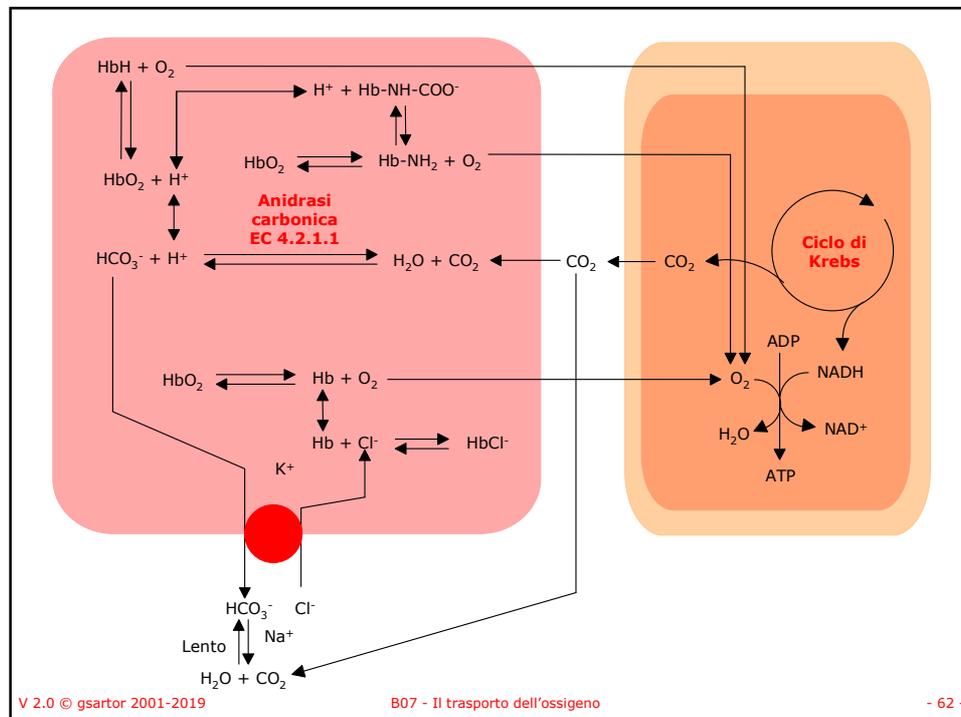


V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 61 -

61



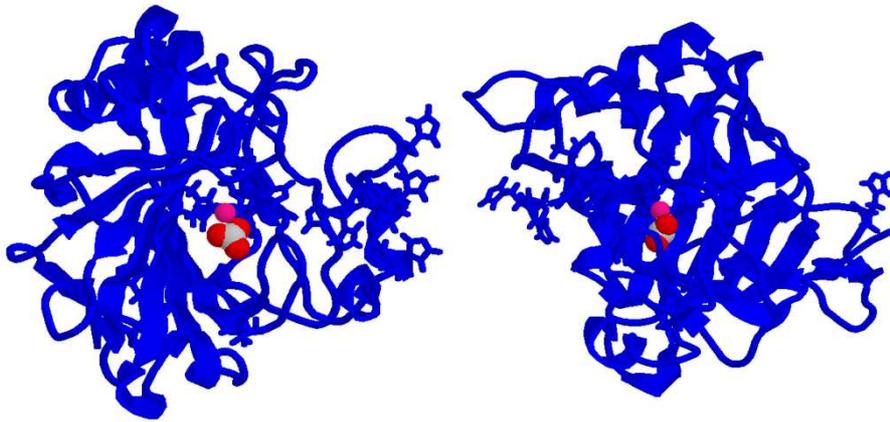
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 62 -

62

## Anidraasi carbonica



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 63 -

63

## 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.

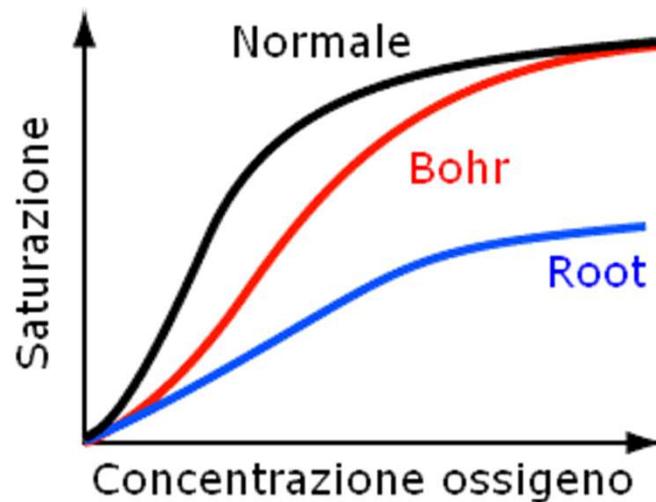
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 64 -

64

## Effetto Bohr ed effetto Root



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 65 -

65

## 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'O<sub>2</sub>

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 66 -

66

## 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'O<sub>2</sub> è debolmente influenzata dal pH (piccolo effetto Bohr)
- Una Hb anodica che ha una minore affinità per l'O<sub>2</sub> e con un grande effetto Bohr e Root.
- Oltre a nuotare, striscia.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 67 -

67

## Effetto Root e galleggiamento

- Il gas che riempie la vescica natatoria è principalmente O<sub>2</sub>
- La Hb dei pesci è estremamente sensibile all'acidità, l'ambiente acido a causa della produzione di acido lattico o CO<sub>2</sub>
- Il valore della costante di Hill,  $n$

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

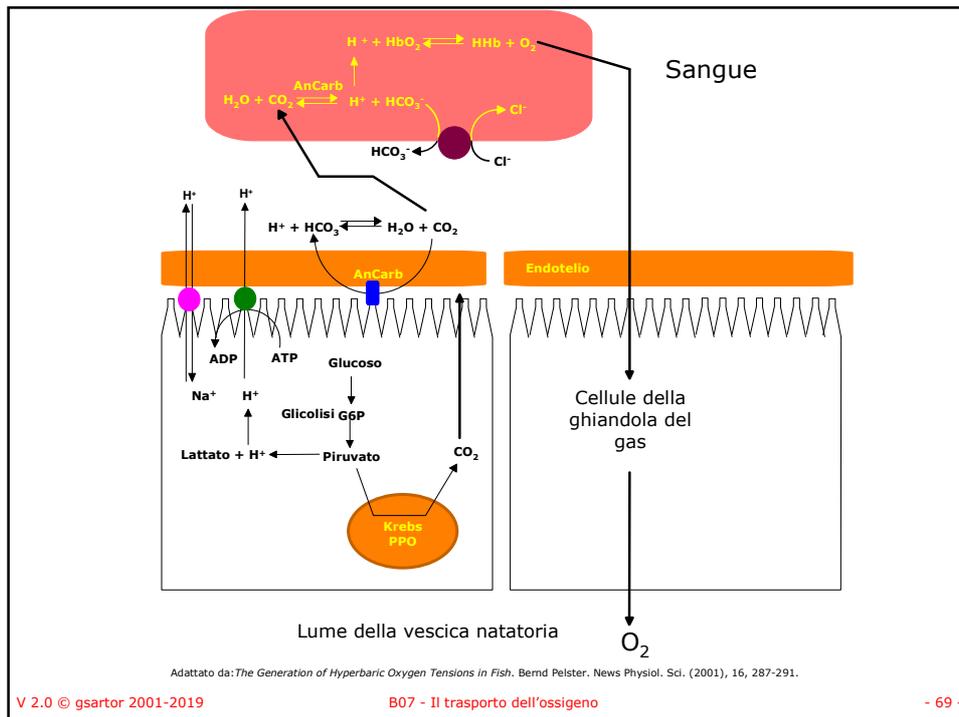
- diminuisce fino a valori al disotto dell'unità (cooperatività negativa) con rilascio (fino al 80%) dell'ossigeno legato all'Hb in prossimità della vescica natatoria.

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 68 -

68



69

## Effetto Bohr ed effetto Root

- L'aumento di acidità nei mammiferi provoca l'effetto Bohr con una diminuzione di affinità per  $O_2$  (varia la  $K_m$  apparente),
- In altri organismi (pesci) l'aumento di acidità provoca l'effetto Root con una diminuzione della massima quantità di  $O_2$  che si può legare (varia la  $V_{max}$  apparente).

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 70 -

70

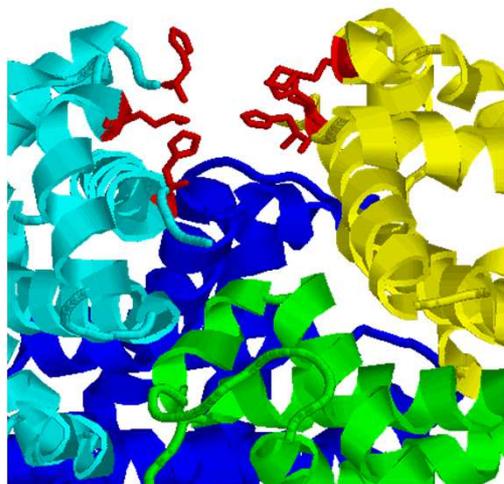
# Modulazione ed adattamento

In altura ...

71

## 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.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

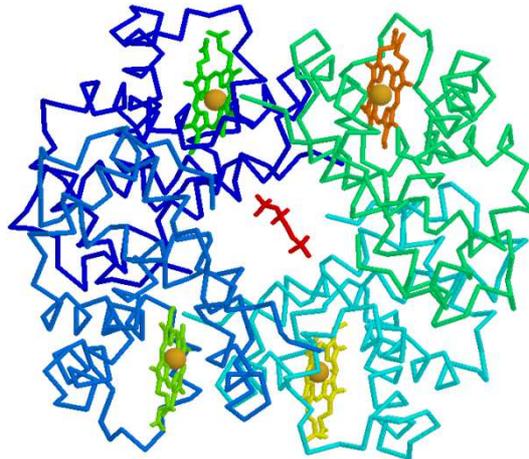
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 72 -

72

## 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.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

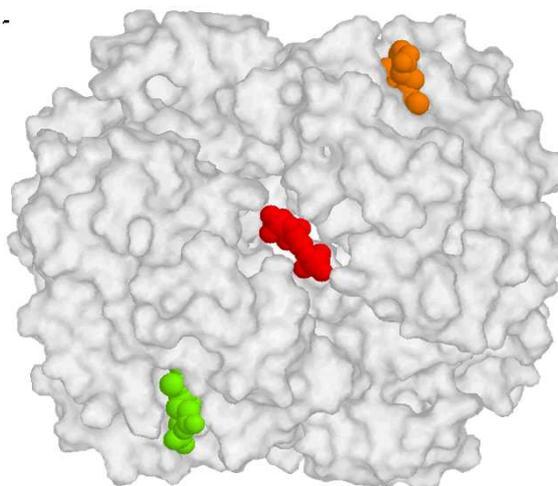
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 73 -

73

## 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.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

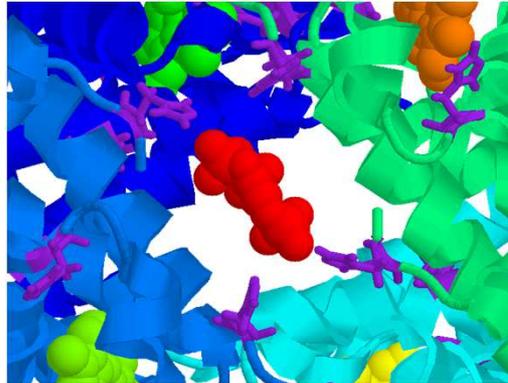
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 74 -

74

## 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.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

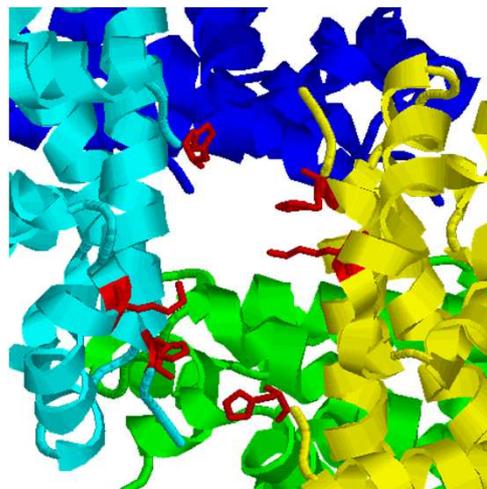
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 75 -

75

## Modulazione

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

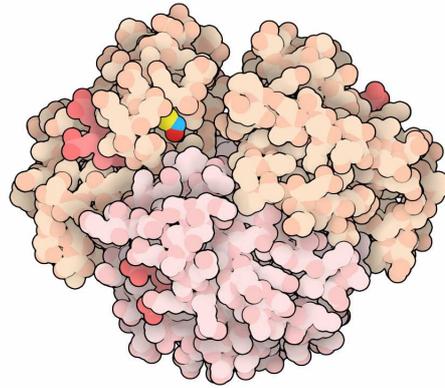
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 76 -

76

## NO ed emoglobina

- I tessuti che necessitano di ossigeno devono essere riforniti di sangue in modo maggiore rispetto agli altri attraverso il controllo del flusso sanguigno.
- L'ossido di azoto (NO) è una molecola segnale che controlla, tra l'altro, la vasodilatazione. Esso forma legami reversibili con residui di cisteina in molte proteine. Questa proprietà permette il controllo automatico del flusso sanguigno.



1buw

V 2.0 © gsartor 2001-2019

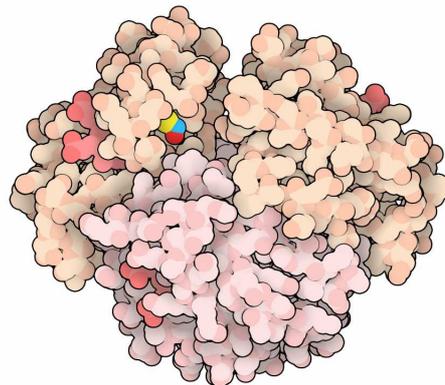
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 77 -

77

## NO ed emoglobina

- NO si lega all'emoglobina in uno specifico residuo di cisteina nella subunità  $\beta$  preferenzialmente quando l'emoglobina è nella forma ossigenata. Quando l'emoglobina rilascia l'ossigeno cambia forma e si ha anche il rilascio di NO che provoca vasodilatazione, aumentando quindi il flusso nella zona interessata.



1buw

V 2.0 © gsartor 2001-2019

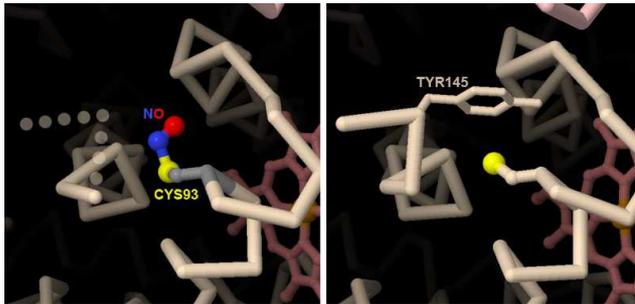
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 78 -

78

# Emoglobina come sensore

- In questo modo l'emoglobina funziona anche come sensore dell'ossigeno e non solo come trasportatore. Questa funzione è talmente importante che la specifica cisteina (Cys93 $\beta$ ) è uno dei tre aminoacidi (con quelli coinvolti nel legame con il Gruppo eme) che sono conservati attraverso gli uccelli e i mammiferi.
- La reazione è specifica, ci sono altre cisteine nell'emoglobina ma NO si lega preferenzialmente alla specifica Cys93 nelle due catene  $\beta$ .



1buw

V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 79 -

79

## Tutorial

- Per visualizzare un tutorial su mioglobina ed emoglobina visitare il sito:

<http://www.wiley.com/go/lehninger3d/index.html>



- Utilizzando il plugin CHIME per IE e FFx, scaricabile da:

<http://www.gsartor.org/pro/didattica/software.html>



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 80 -

80

# Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
  - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] - Zanichelli
  - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
  - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
  - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] - Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
  - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
  - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
  - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
  - Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>
- Il materiale è stato inoltre rivisto e corretto dalla **Prof. Giancarla Orlandini** dell'Università di Parma alla quale va il mio sentito ringraziamento.

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da: <http://www.gsartor.org/pro>

- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

**Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor**  
Università di Bologna

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

Aggiornato il 08/05/2019 09:25:37