



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 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

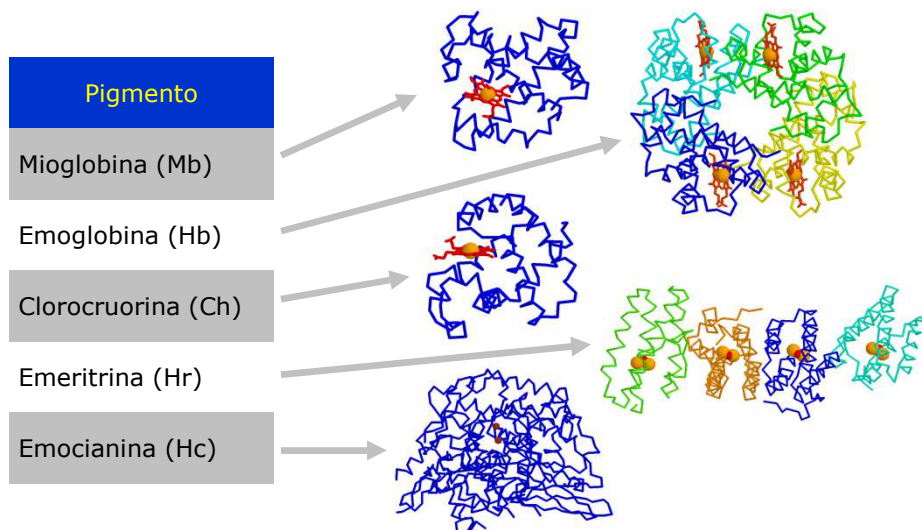
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 3 -

3

I pigmenti respiratori



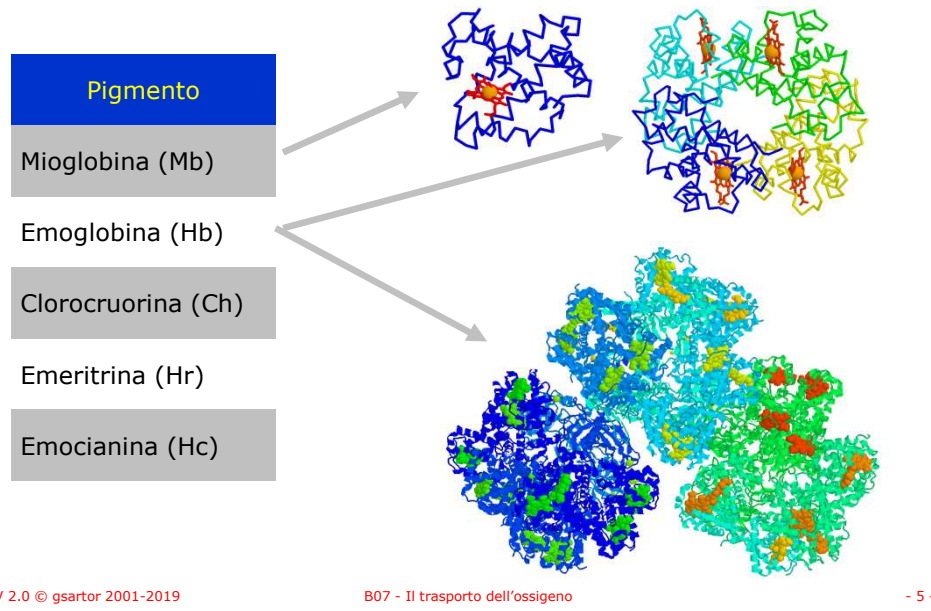
V 2.0 © gsartor 2001-2019

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 1×6 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.

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 (α): 1.4×10^{-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

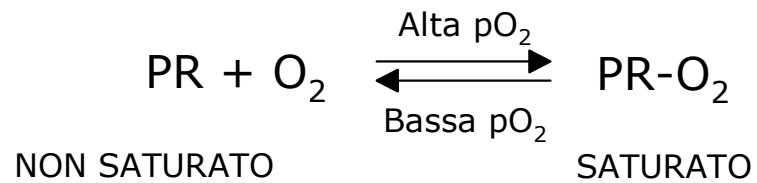
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 8 -

8

Legame con l'ossigeno

- Dipende da pO_2



V 2.0 © gsartor 2001-2019

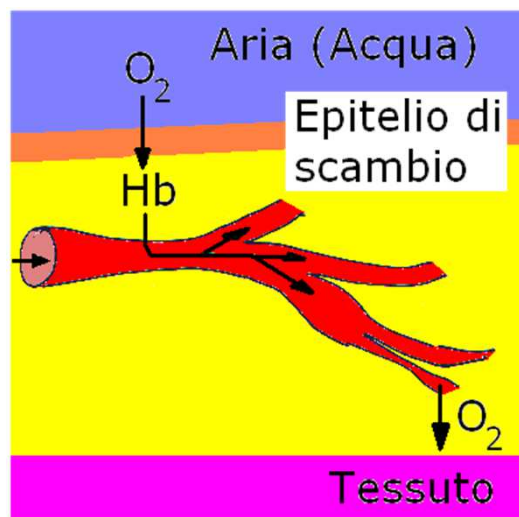
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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'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⁺.

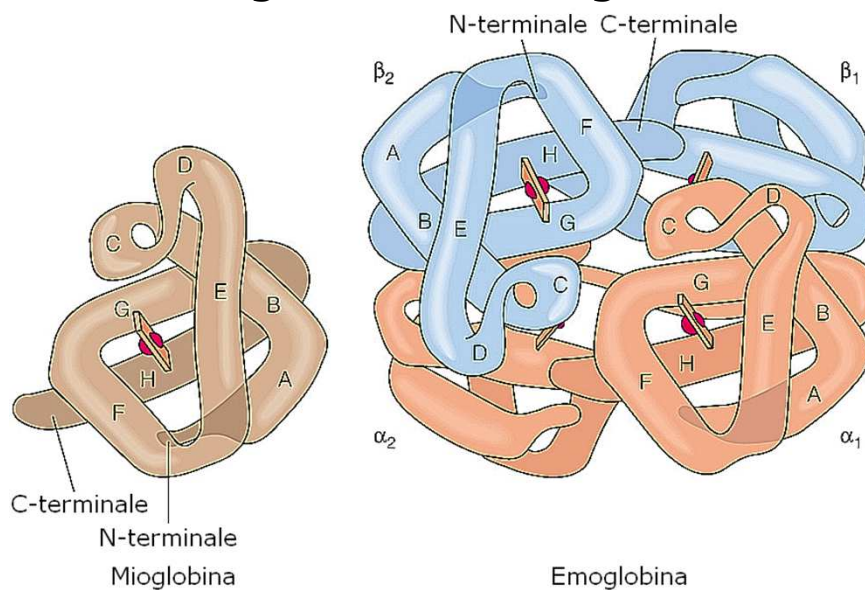
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 11 -

11

Mioglobina e emoglobina



V 2.0 © gsartor 2001-2019

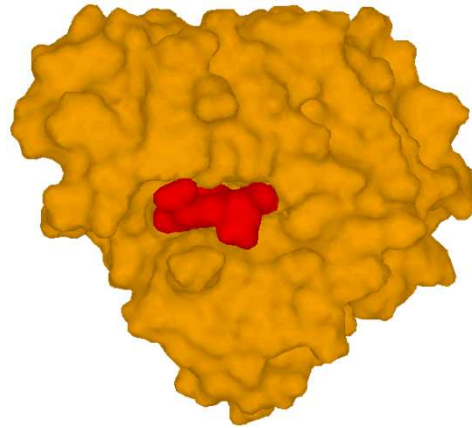
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 12 -

12

Mioglobina

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 13 -

13

Mioglobina

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

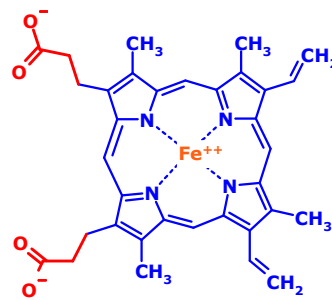
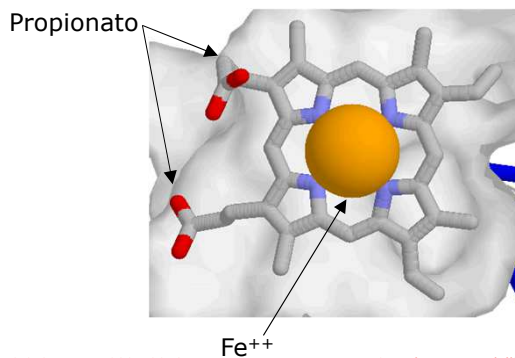
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 14 -

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.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

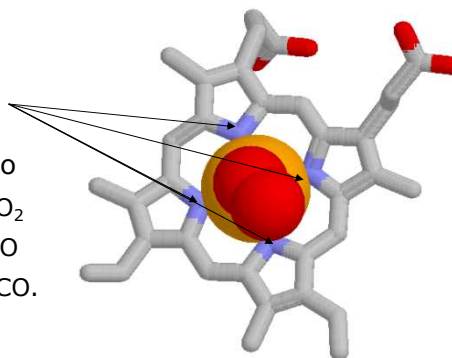
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 15 -

15

Gruppo eme

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

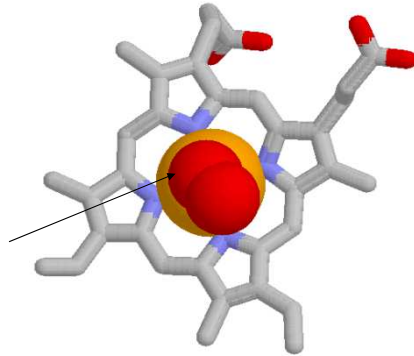
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 16 -

16

Gruppo eme

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

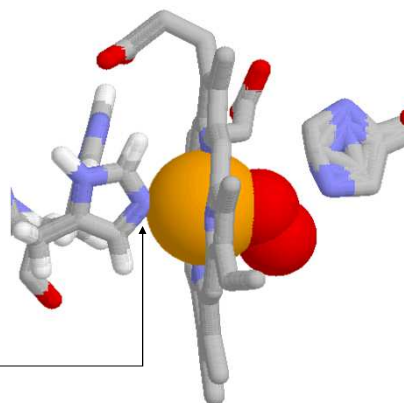
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 17 -

17

Gruppo eme

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

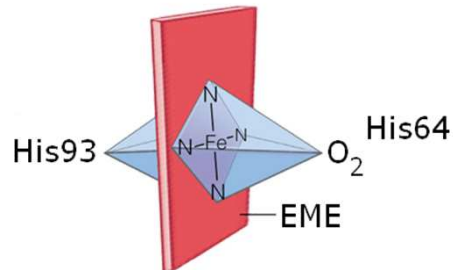
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 18 -

18

Gruppo eme

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

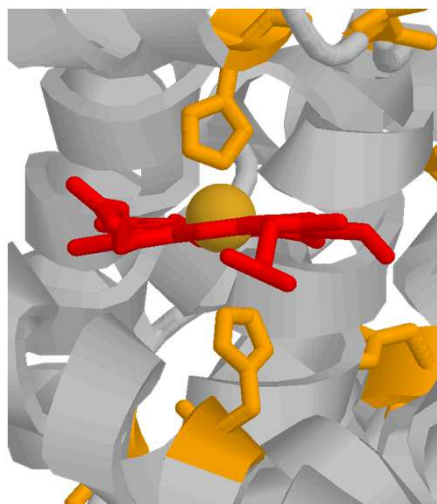
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 19 -

19

Gruppo eme

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

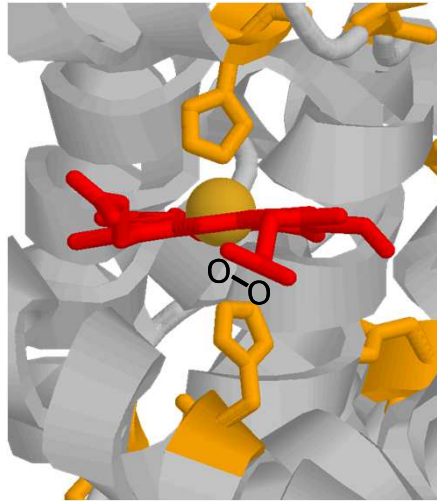
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 20 -

20

Ligandi al gruppo eme

- Lo spazio compreso tra il 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° .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

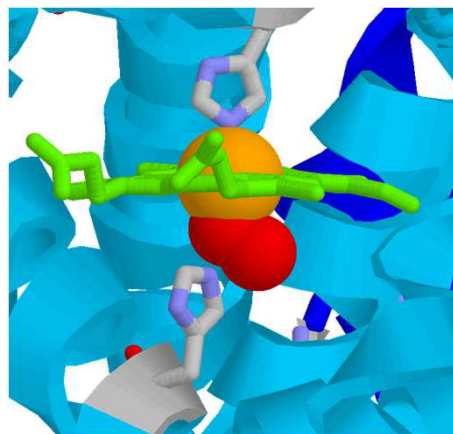
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 21 -

21

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° .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

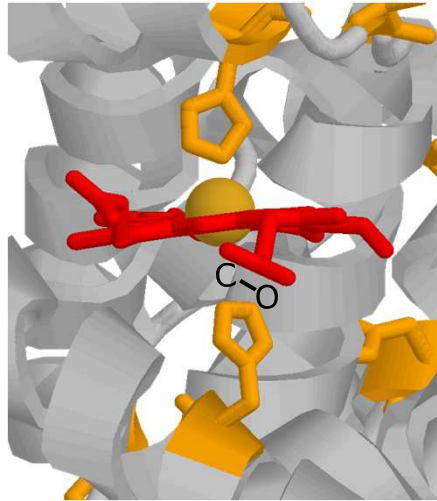
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 22 -

22

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° .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

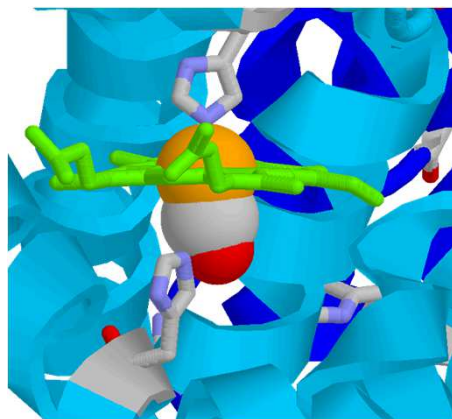
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 23 -

23

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° .



V 2.0 © gsartor 2001-2019

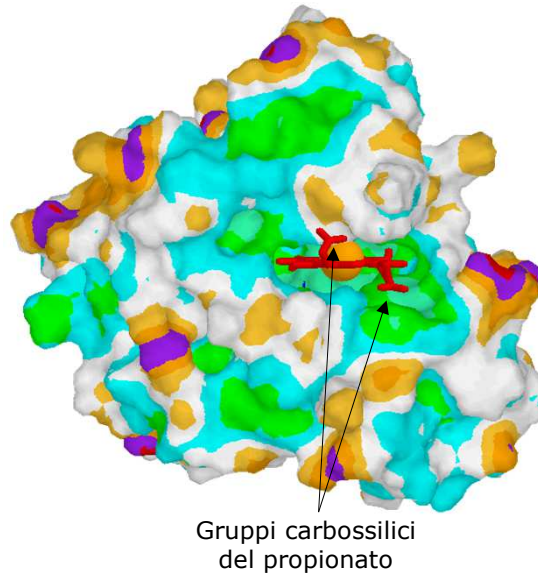
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

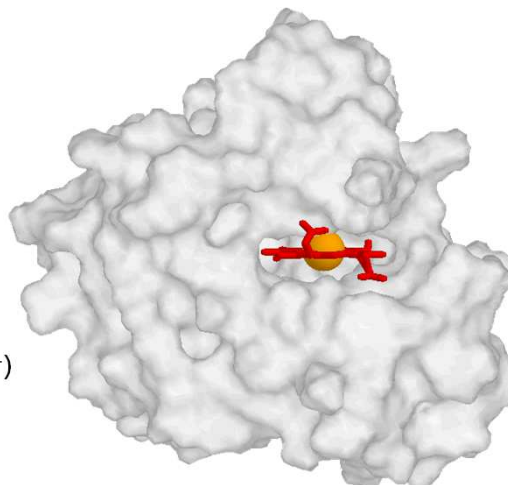
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

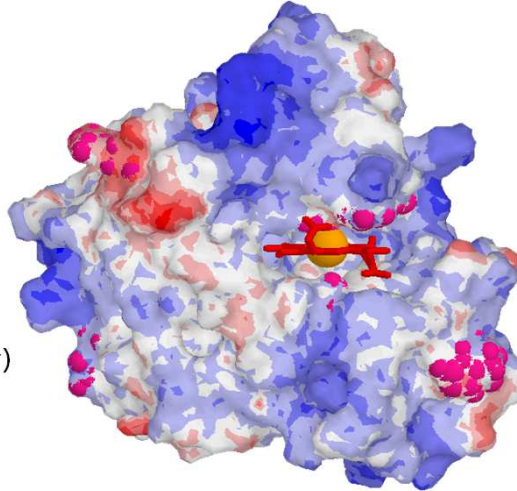
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

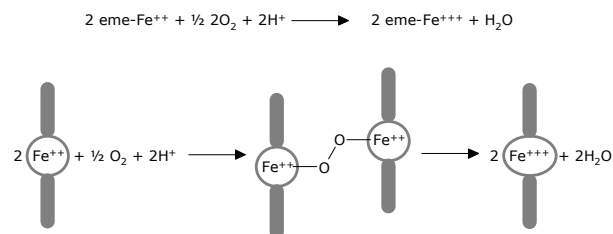
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 27 -

27

Ossidazione del Fe^{++}

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

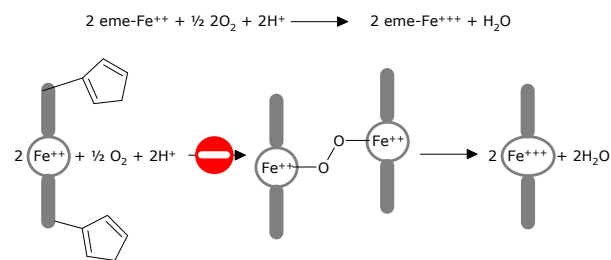
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 28 -

28

Ossidazione del Fe⁺⁺

- Il legame del Fe⁺⁺ attraverso la proteina impedisce l'ossidazione a Fe⁺⁺⁺ 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 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.

- 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 O₂ 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

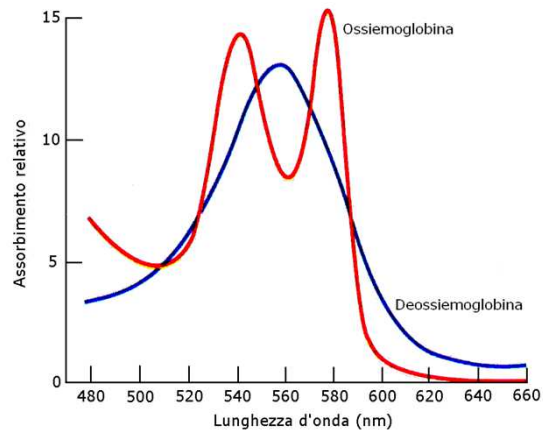
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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



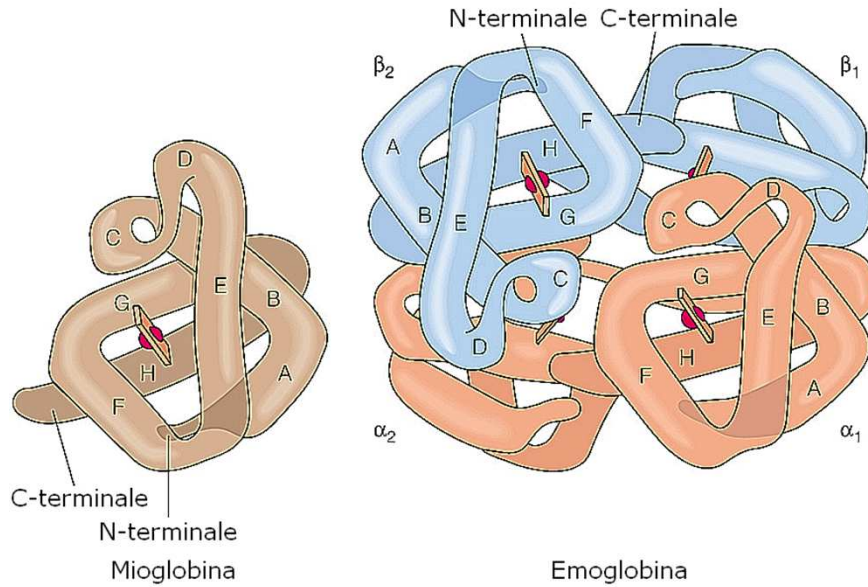
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 34 -

34

Mioglobina e emoglobina



V 2.0 © gsartor 2001-2019

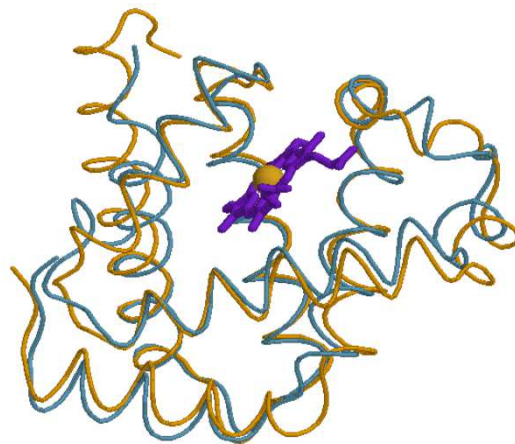
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

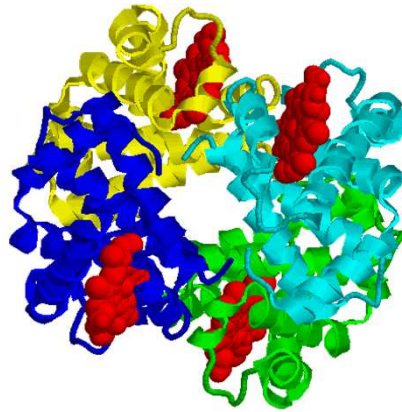
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 36 -

36

Emoglobina

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



V 2.0 © gsartor 2001-2019

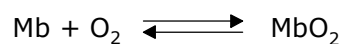
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 37 -

37

Il legame con l'ossigeno

- Nella mioglobina



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

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

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

V 2.0 © gsartor 2001-2019

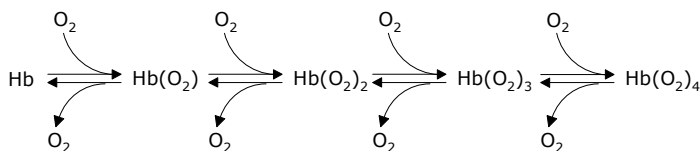
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

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

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

V 2.0 © gsartor 2001-2019

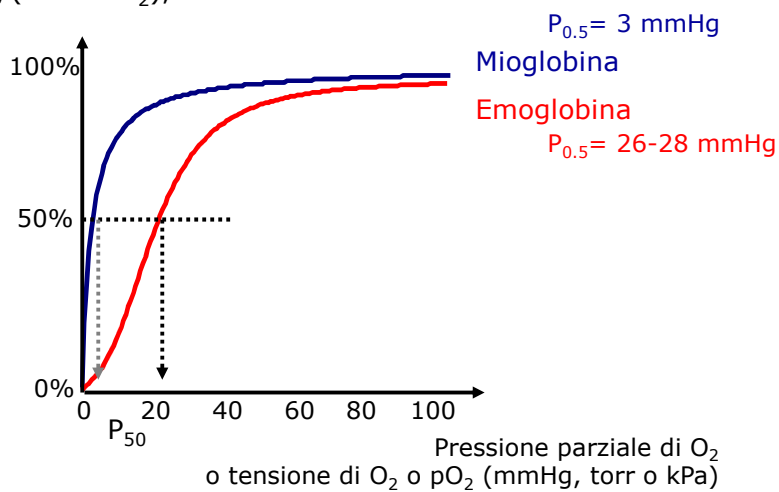
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

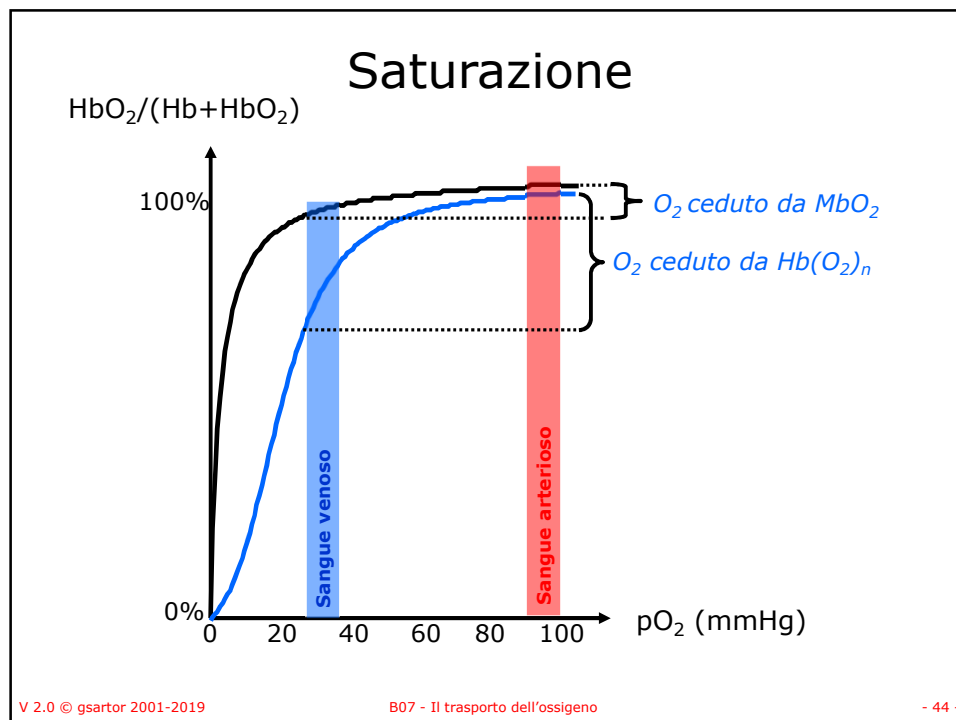
- La mioglobina è un ottimo sistema per immagazzinare O_2 :
 - riesce a "caricarsi" di ossigeno anche a bassi valori di pO_2 per tenerlo strettamente legato
 - $P_{0.5} (\gamma O_2 = 0.5)$ a $pO_2 = 2.8$ torr.
- L'emoglobina è un ottimo sistema per trasportare l' O_2 :
 - Si carica di O_2 quando pO_2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

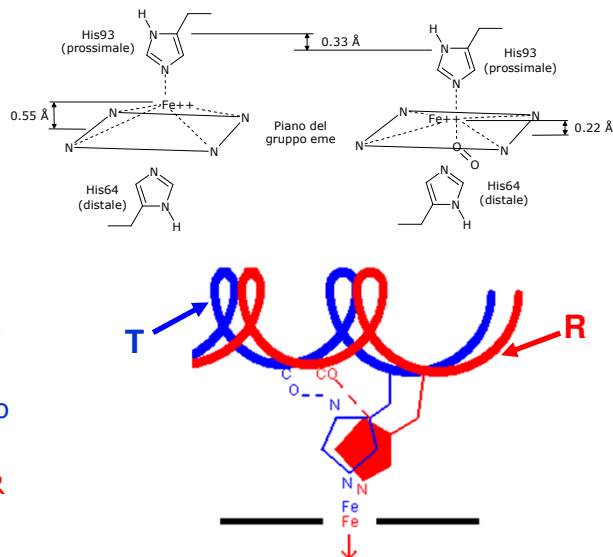
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 44 -

44

Modello Molecolare

- Nello stato deossi il 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 α/β .
- Stato deossi = stato T (Tense)
- Stato ossi = stato R (Relaxed)



V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

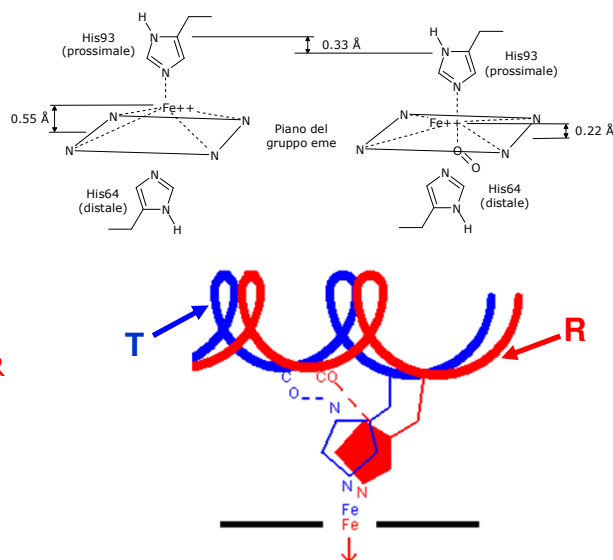
- 45 -

45

Modello Molecolare

- L'alterazione dell'interfaccia α/β provoca la variazione dell'affinità nelle subunità adiacenti.

- Stato deossi = stato T (Tense)
- Stato ossi = stato R (Relaxed)

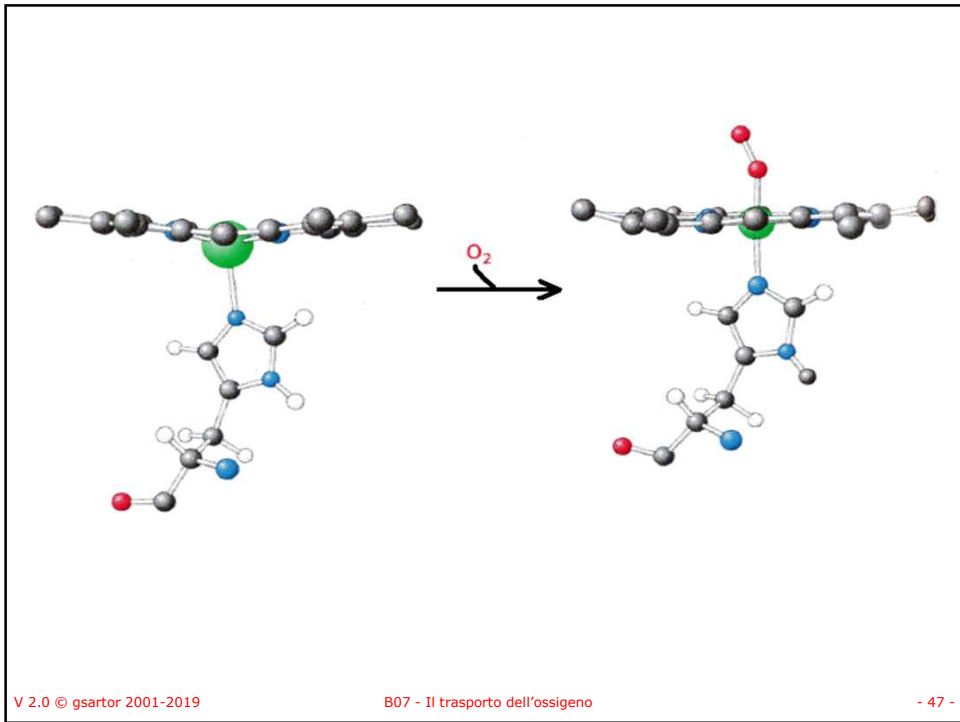


V 2.0 © gsartor 2001-2019

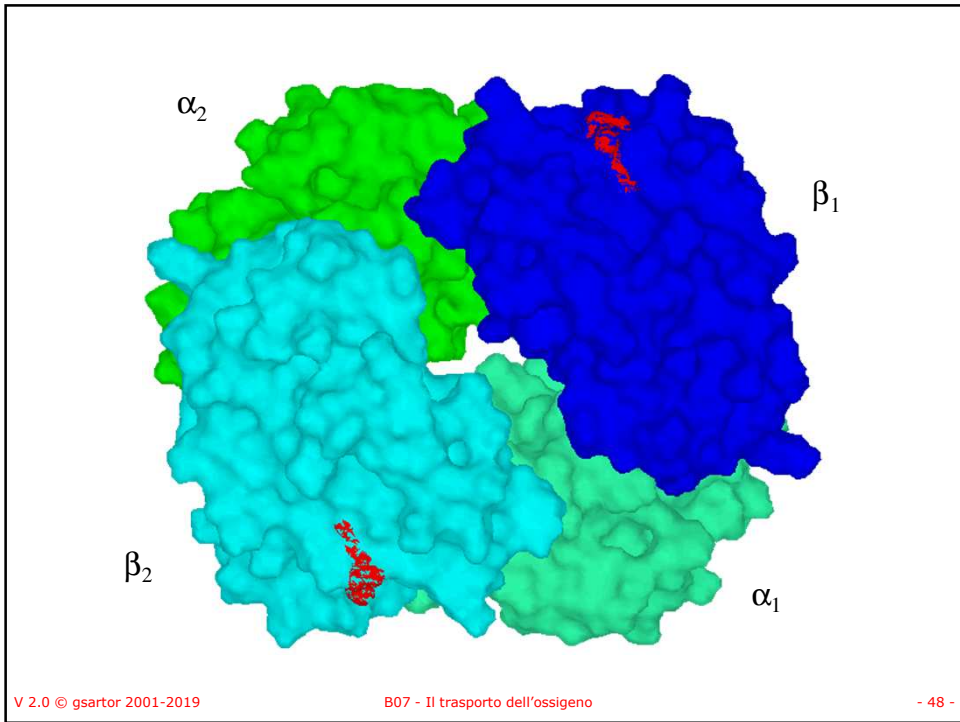
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 46 -

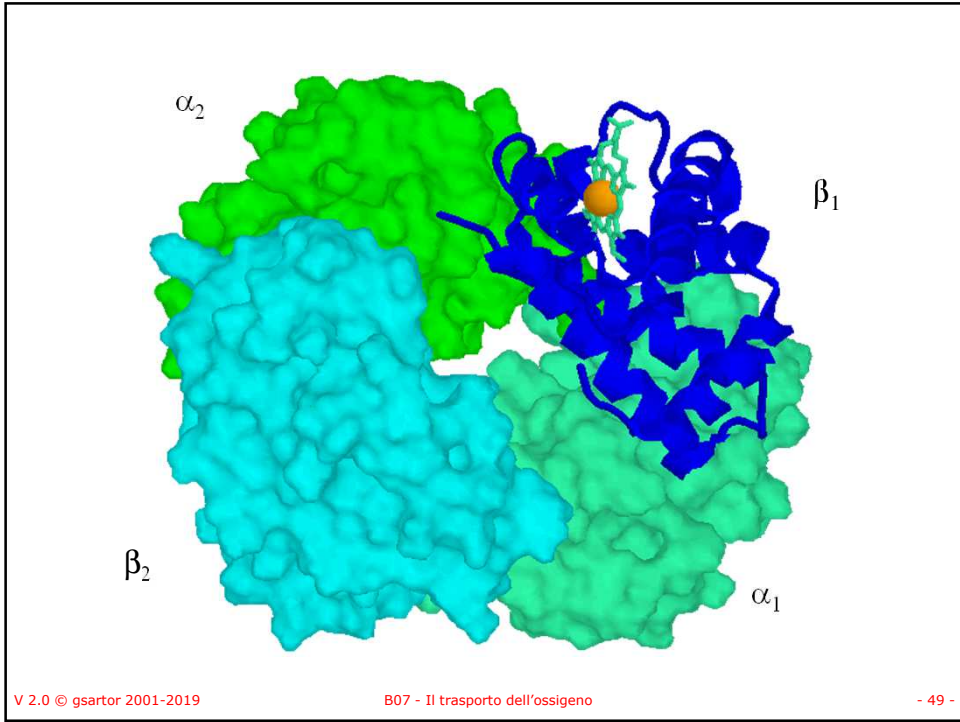
46



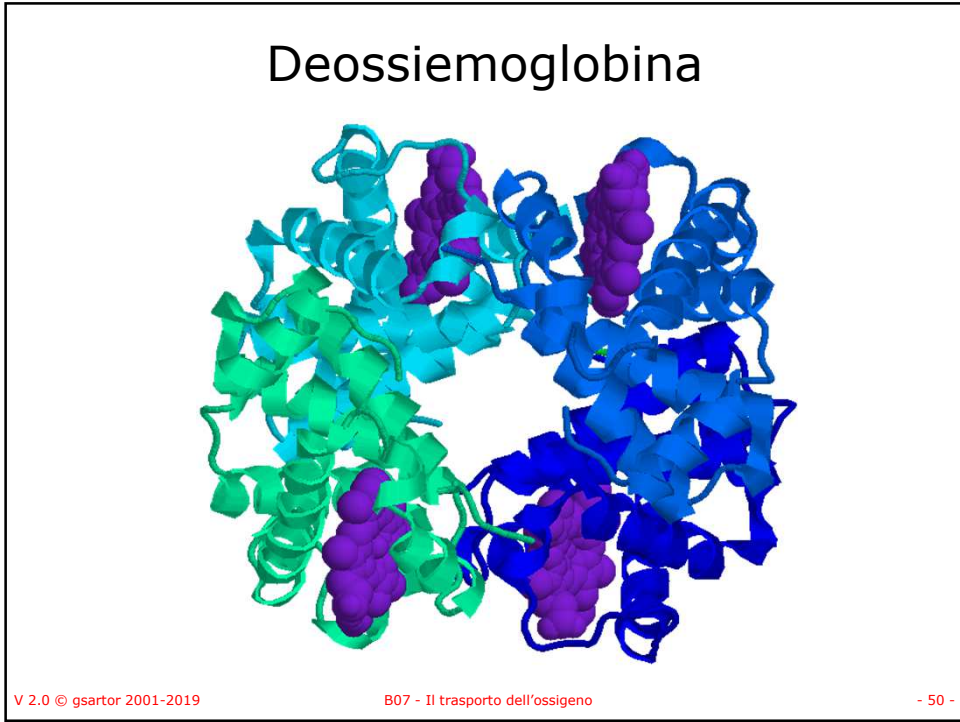
47



48



49



50

Ossiemoglobina



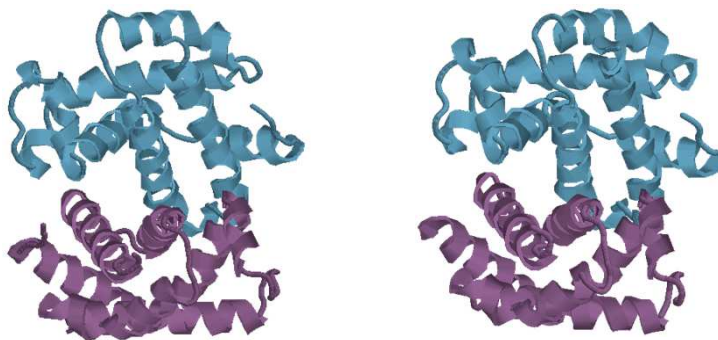
V 2.0 © gsartor 2001-2019

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.

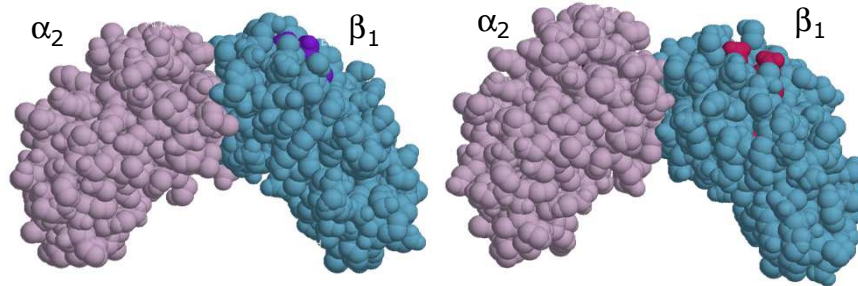
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 52 -

52

Transizione T \rightarrow R



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

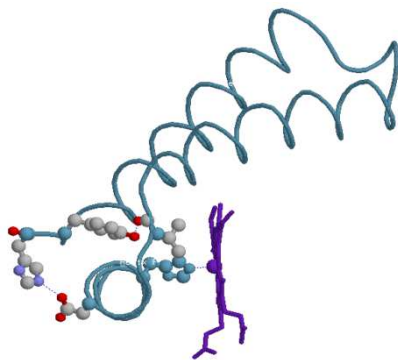
V 2.0 © gsartor 2001-2019

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 α_2/β_1

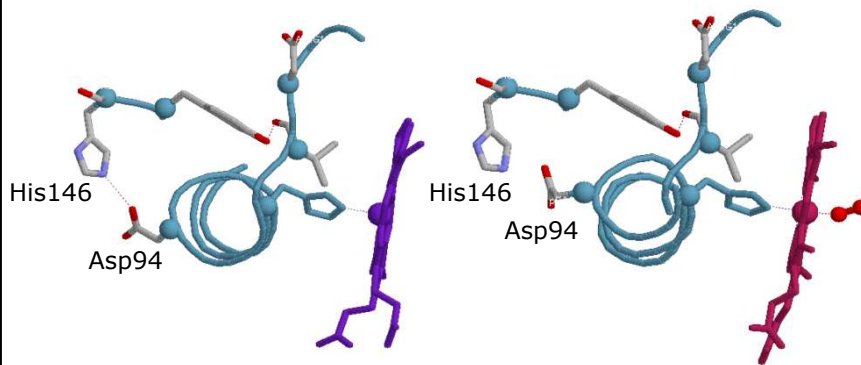
V 2.0 © gsartor 2001-2019

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.

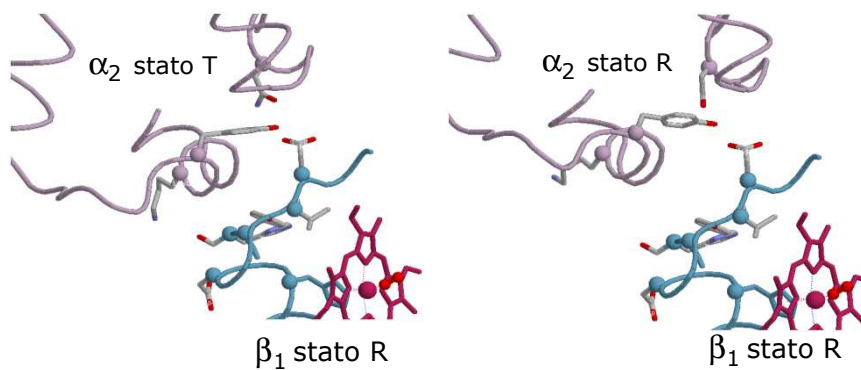
V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 55 -

55

Transizione T → R



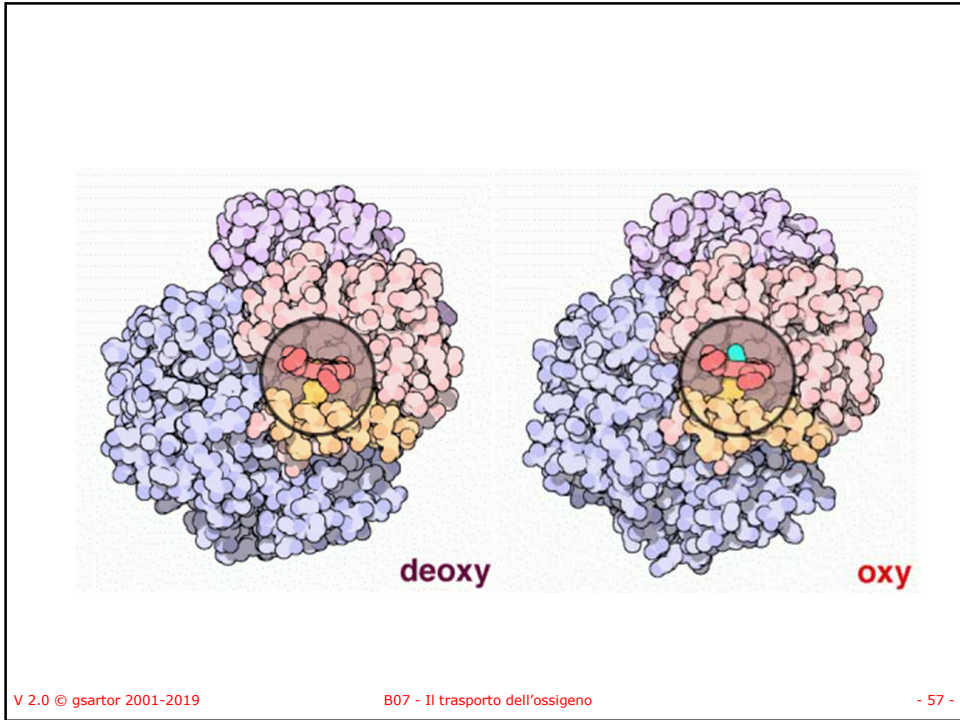
- Cambia quindi la distribuzione dei legami idrogeno all'interfaccia α/β e cambia quindi lo stato della subunità adiacente che passa da T a R con aumento dell'affinità per O_2 .

V 2.0 © gsartor 2001-2019

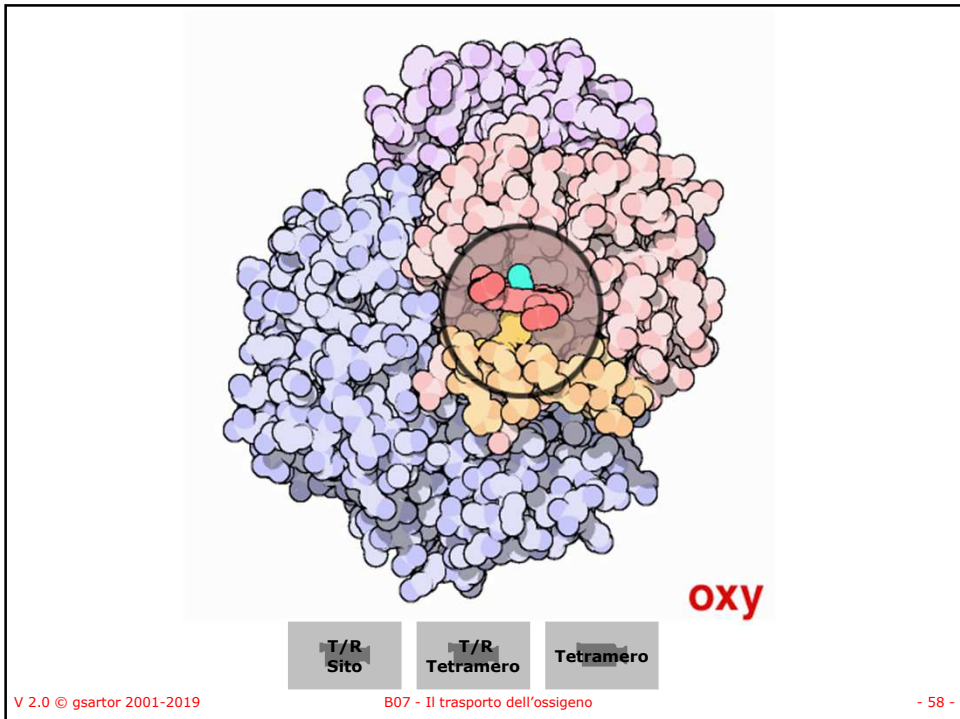
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 56 -

56



57



58

Regolazione

- pH
 - Effetto Bohr
 - Effetto Root
- CO₂
 - Formazione di bicarbonato, (anidrasi carbonica)
 - Formazione di carbammati
- Cl⁻
 - Scambio Cl⁻/HCO₃⁻
 - Formazione di ponti salini
- Composti fosforilati
 - 2,3 bifosfoglicerato
 - Inositoli fosfati
 - ATP, GTP

V 2.0 © gsartor 2001-2019

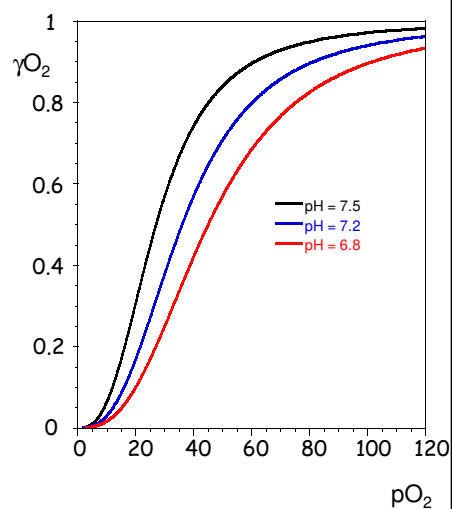
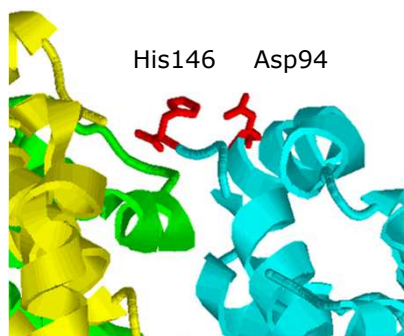
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 59 -

59

Effetto Bohr

- L'affinità per l'O₂ 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⁺ forma il ponte salino e favorisce lo stato deossi.



V 2.0 © gsartor 2001-2019

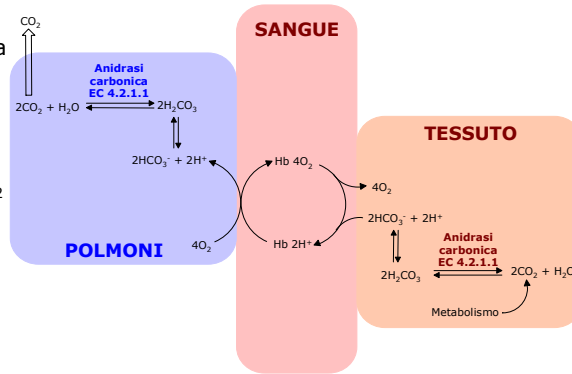
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 60 -

60

CO₂ ed effetto Bohr

- Nel tessuto
 - La CO₂ 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⁺ ogni 4 O₂ rilasciati (effetto Bohr).
- Nei polmoni
 - Bassa pCO₂ la reazione avviene in senso opposto
 - CO₂ e H⁺ rilasciati da Hb
 - Aumenta l'affinità per O₂

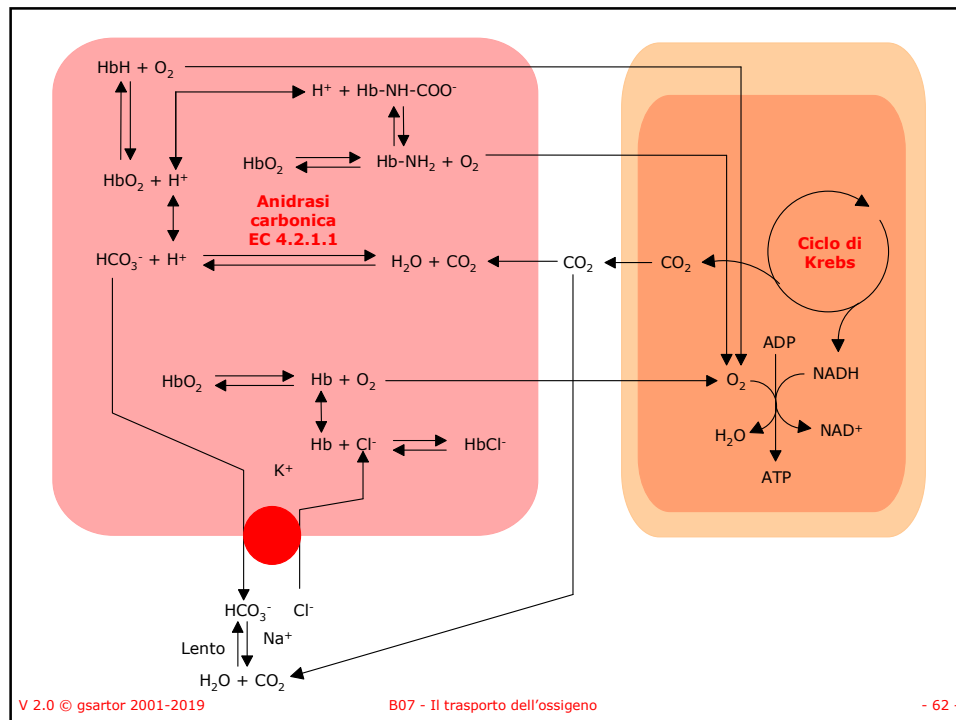


V 2.0 © gsartor 2001-2019

B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 61 -

61



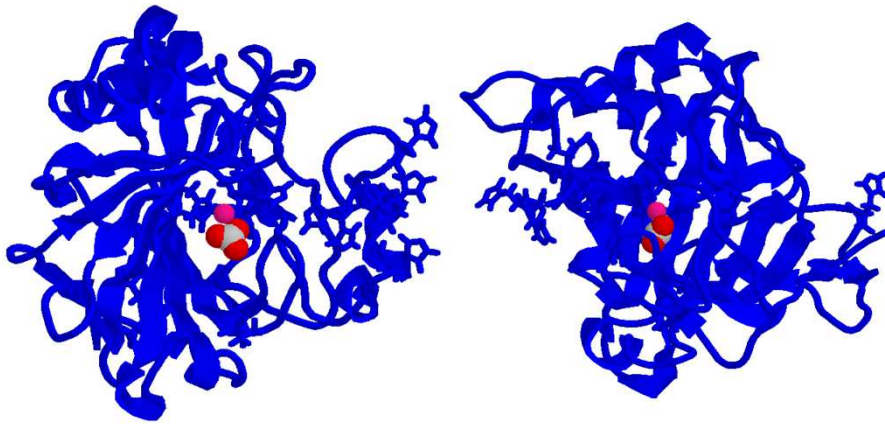
V 2.0 © gsartor 2001-2019

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.

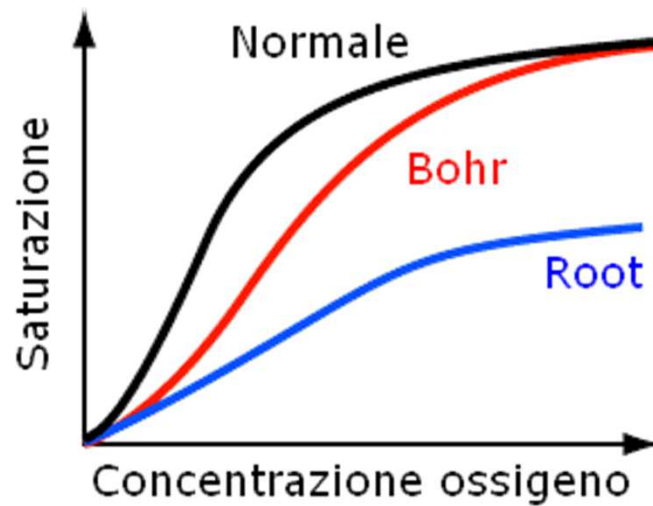
V 2.0 © gsartor 2001-2019

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'O₂

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'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.



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 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

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

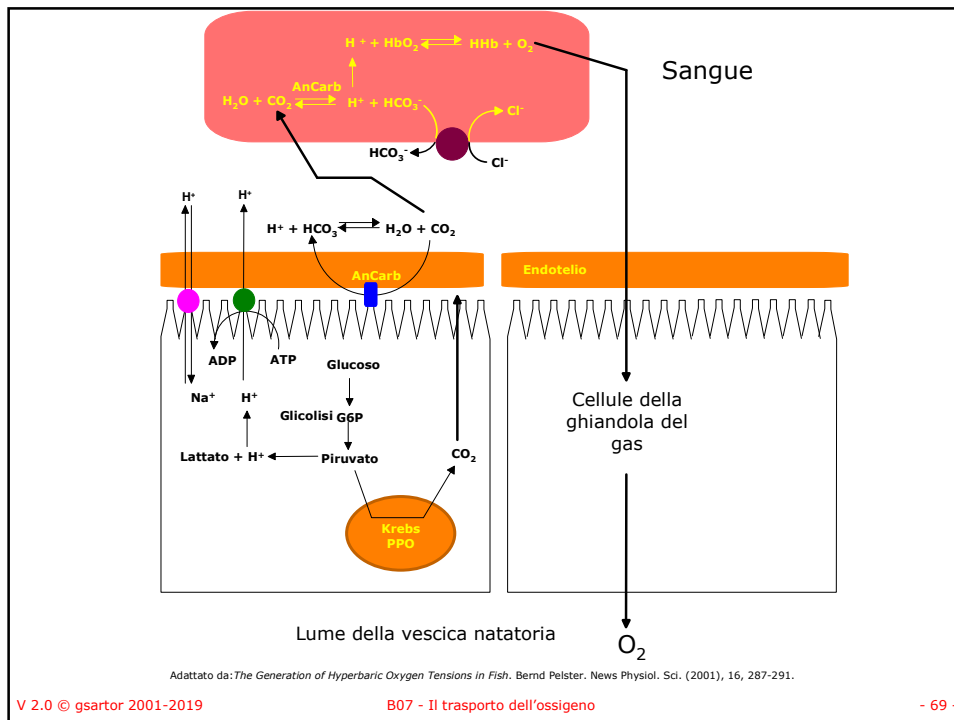
- diminuisce fino a valori al disotto dell'unità (cooperatività negativa) con rilascio (fino al 80%) dell'ossigeno legato all'Hb in prossimità della vescica natatoria.

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

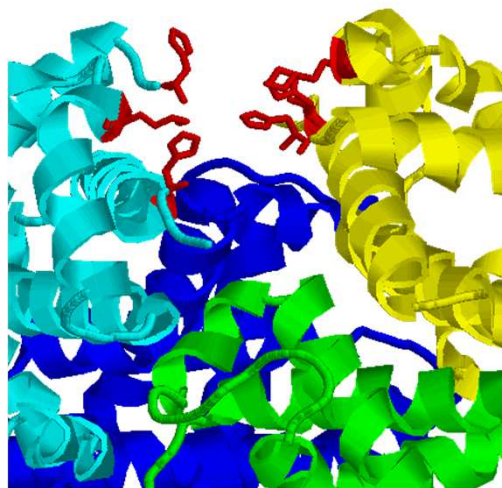
Modulazione ed adattamento

In altura ...

71

Composti fosforilati

- Il 2,3 bifenosfoglicerato (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

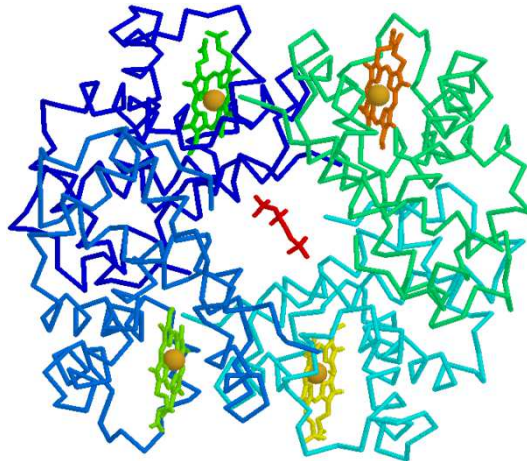
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

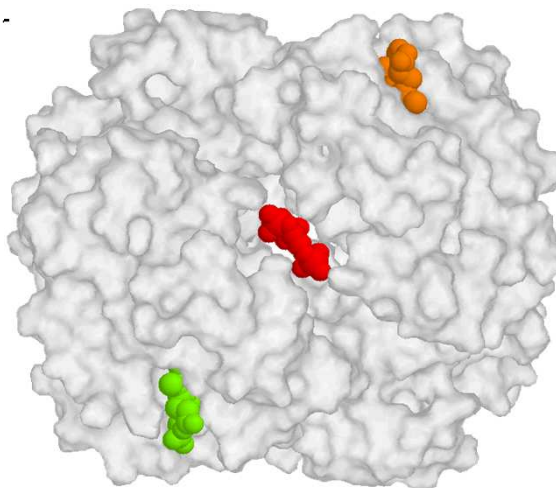
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

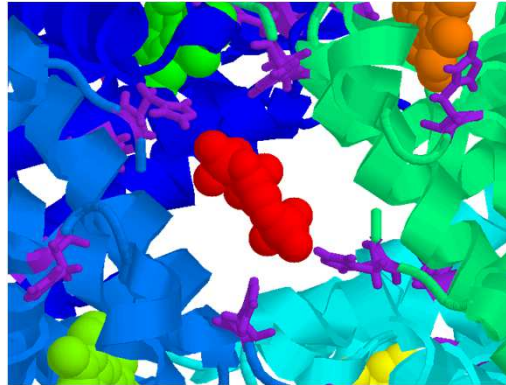
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

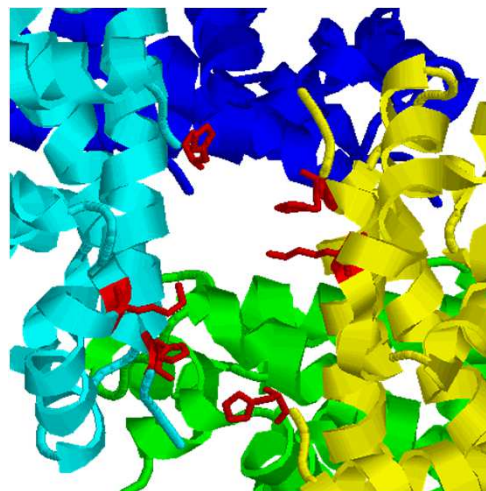
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

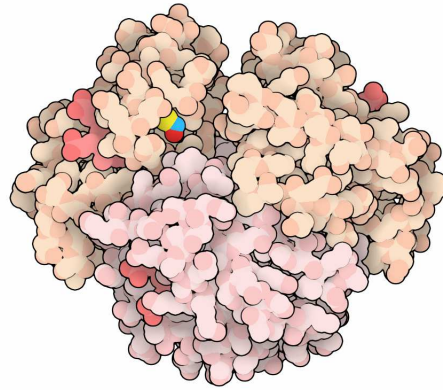
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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

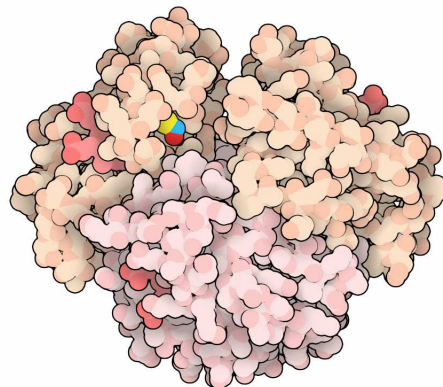
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 77 -

77

NO ed emoglobina

- NO si lega all'emoglobina in uno specifico residuo di cisteina nella subunità β 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

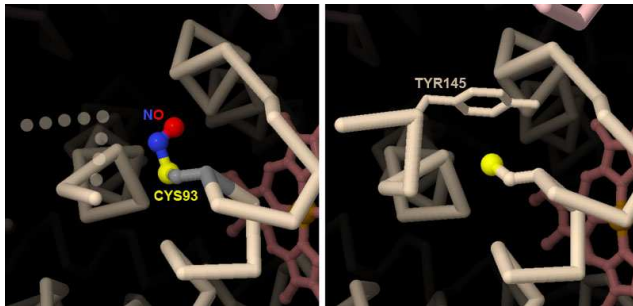
B07 - Il trasporto dell'ossigeno

- 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 β) 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 β .



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.wortpublishers.com/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
Personale: giorgio.sartor@gmail.com

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