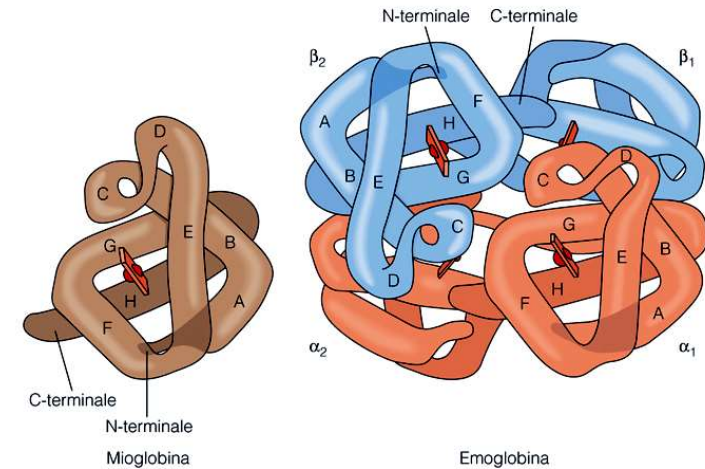


IL TRASPORTO DELL'OSSIGENO



- il **metabolismo aerobico** richiede l'apporto di O_2 ai tessuti
- l' O_2 ha una **bassa solubilità in acqua** ($\sim 10^{-4}$ M nel sangue)

⇒ apposite **proteine trasportatrici** di ossigeno ne **aumentano la solubilità** nei fluidi circolanti

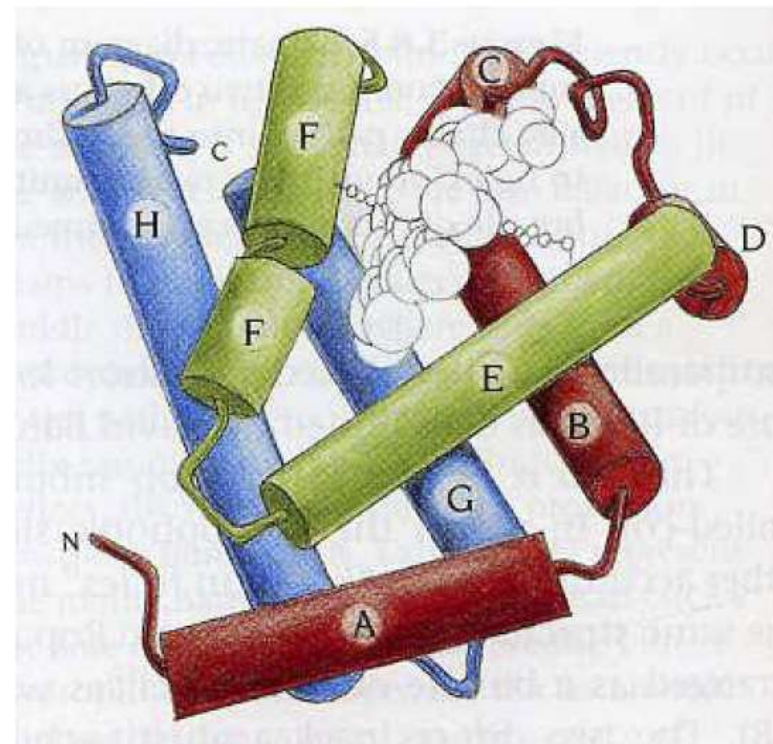
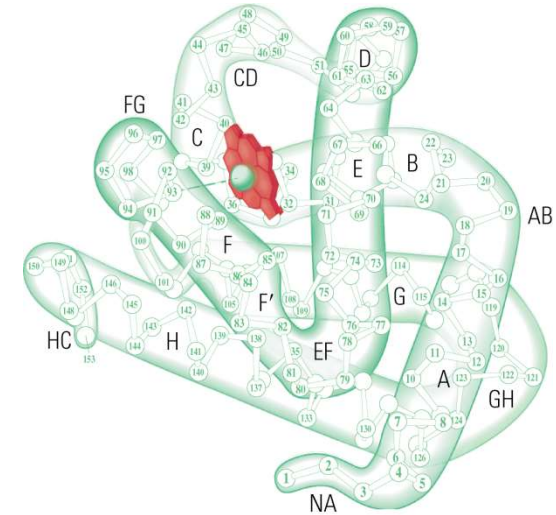
- una sostanza deputata al trasporto di O_2 deve:

- **legarlo e rilasciarlo** in modo opportuno
- **impedire che reagisca con altre sostanze**

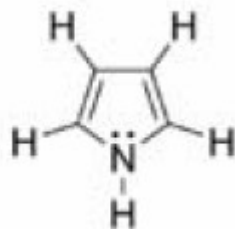
Mb: MIOGLOBINA – il “serbatoio”

- Proteina citosolica del tessuto muscolare: cuore e muscolo scheletrico rosso (fibrocellule muscolari rosse)
- E' costituita da **1 sola subunità** di 153 amminoacidi (ca 17 kDa), disposti per l' 80% ad α -elica
- E' una proteina globulare (4,5 x 4,5 x 2,5 nm)

La mioglobina funziona da deposito di O₂ a livello muscolare.



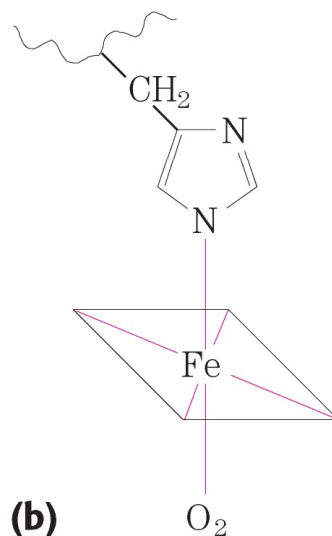
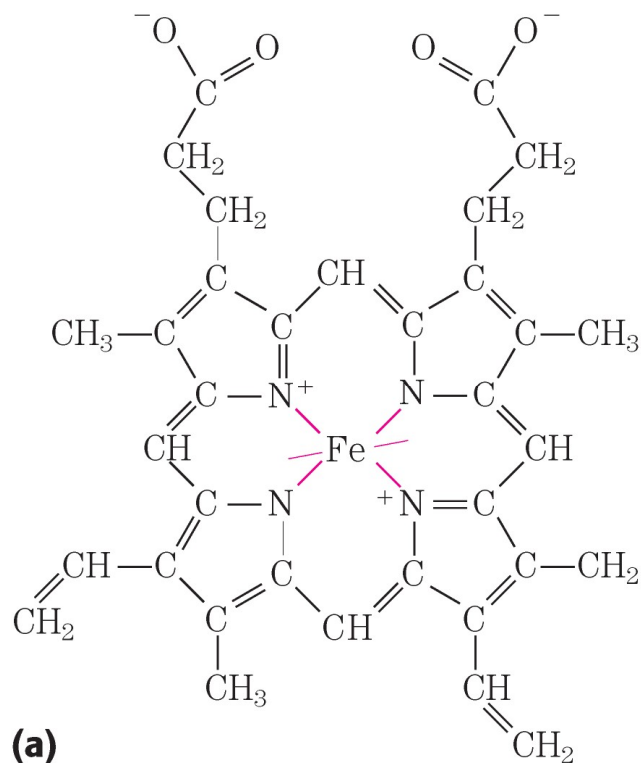
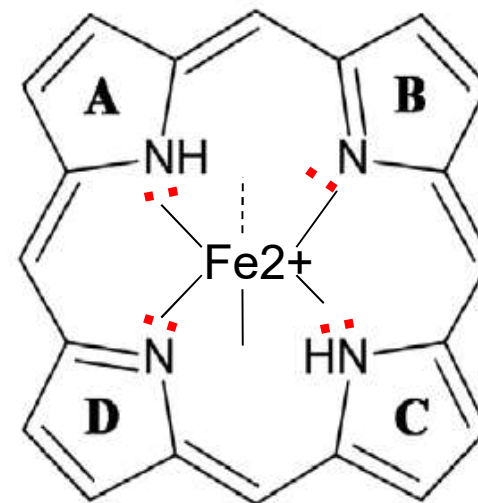
Pirrolo: composto aromatico eterociclico, planare a forma di pentagono quasi regolare.



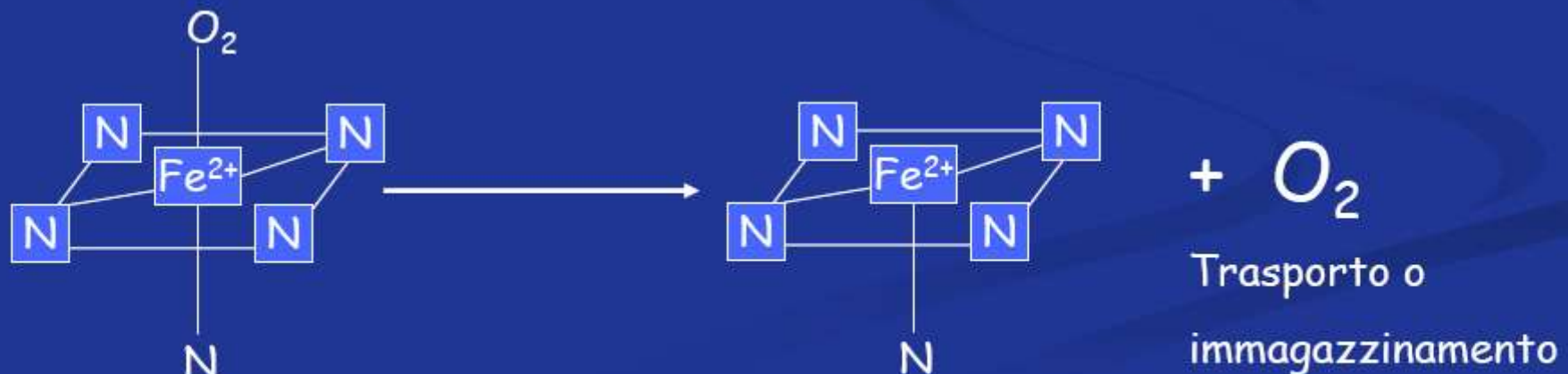
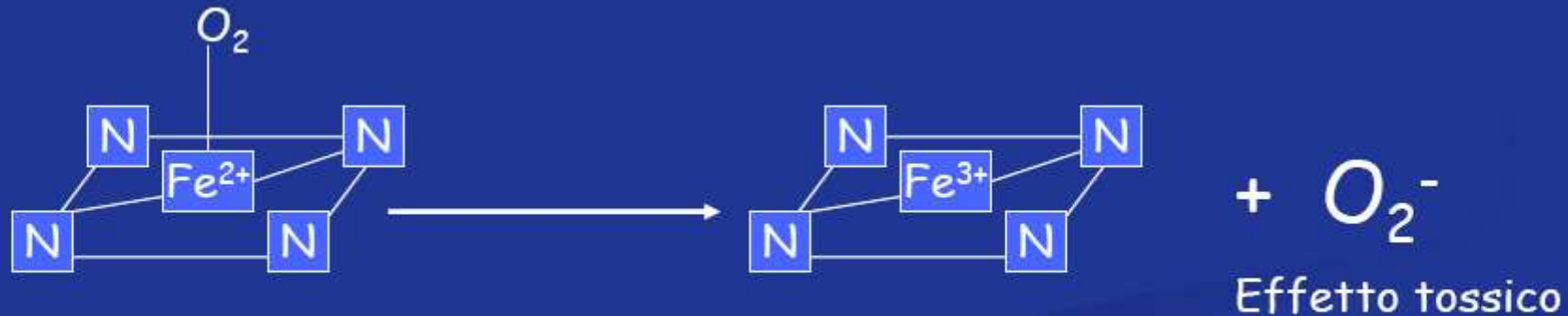
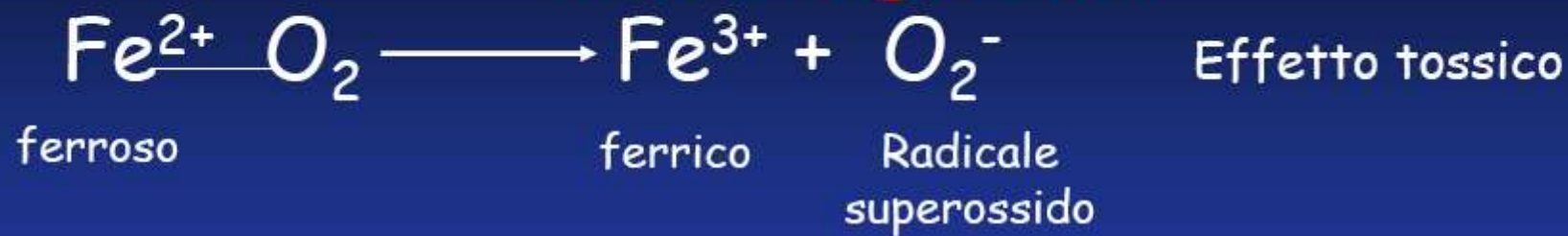
PORFIRINE:

sono costituite da 4 subunità di pirrolo (A-D) unite da ponti α -metinici ($=CH-$)

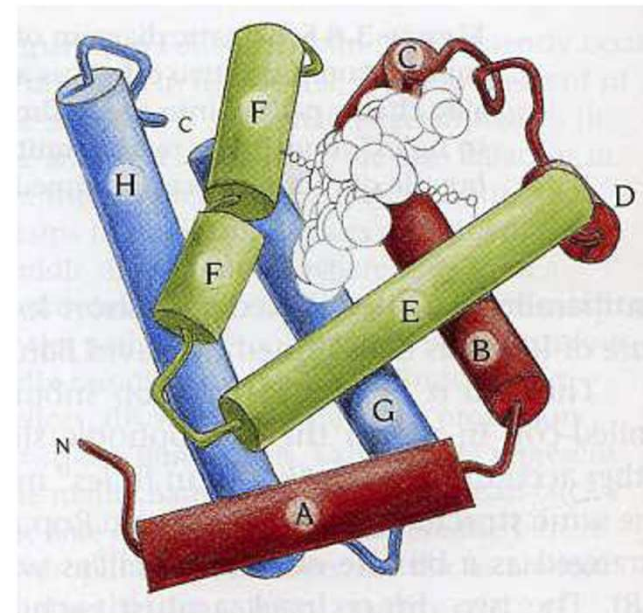
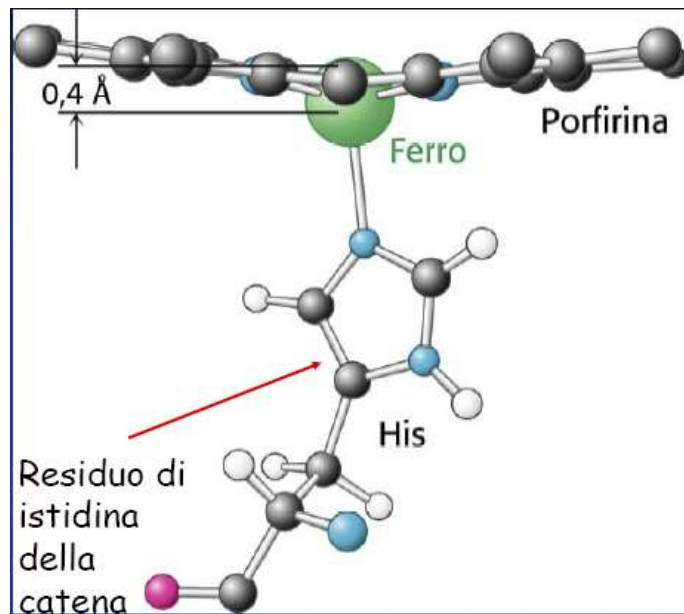
- ciascun N possiede una coppia di e- liberi per formare un legame di coordinazione con il Fe^{2+}



Perché il gruppo eme nella mioglobina e nell'emoglobina



La funzione dell'interazione Fe-istidina è che l'azoto dell'istidina funge da elettroattrattore e consente di compensare l'effetto elettronattrattivo dell'ossigeno. In questo modo il Ferro rimane nello stato ridotto.



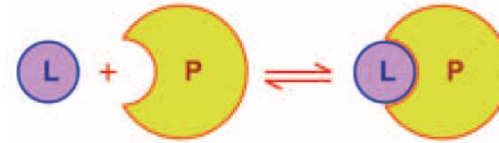
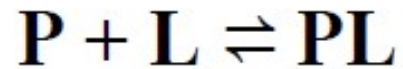
La coordinazione del Fe^{2+} entro la porfirina in una tasca idrofobica permette il legame dell' O_2 senza ossidazione del ferro

Il Fe^{2+} dell'eme può legare altre piccole molecole nel suo 6° legame di coordinazione, come CO, CN^- , NO e H_2S

L'affinità dell'eme per tali molecole è molto maggiore che per l' O_2 .

Per questo, tali molecole sono molto tossiche

Interazione proteina-ligando



$$K_a = \left(\frac{[PL]}{[P][L]} \right)_{eq}$$

K_a : costante di associazione tra P e L

Ha le dimensioni del reciproco di una concentrazione (M^{-1})

$$K_d = \left(\frac{[P][L]}{[PL]} \right)_{eq}$$

K_d : **costante di dissociazione** di PL

Ha le dimensioni di una concentrazione (M)

$$K_d = \frac{1}{K_a}$$

La frazione dei siti di una proteina **occupati** rispetto ai siti totali è definita

θ = FRAZIONE di SATURAZIONE

$$\theta = \frac{\text{siti di legame occupati}}{\text{totale dei siti di legame}}$$

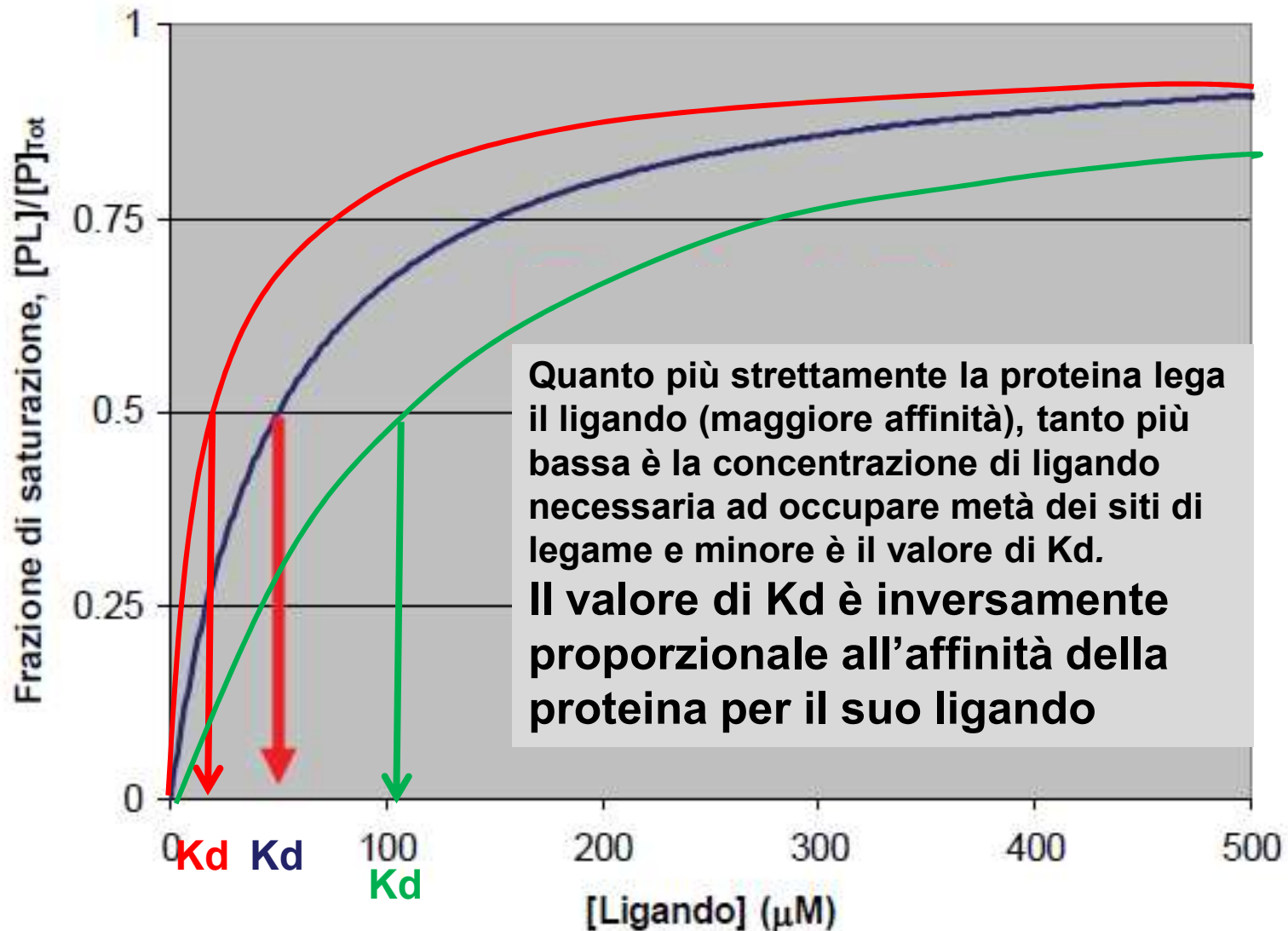
Come varia la **Frazione di saturazione θ**
in funzione della concentrazione di ligando?

$$\theta = \frac{[L]}{[L] + Kd}$$

Kd = concentrazione di ligando alla quale è occupato il 50% dei siti di legame

Equazione di un'iperbole equilatera

Curva saturazione di una proteina (P) con il suo ligando (L)





$$\theta = \frac{\text{siti di legame occupati}}{\text{totale dei siti di legame}} \quad \theta = \frac{[\text{L}]}{[\text{L}] + K_d} \quad \theta = \frac{[\text{O}_2]}{[\text{O}_2] + K_d}$$

K_d = concentrazione di ligando alla quale è occupato il 50% dei siti di legame

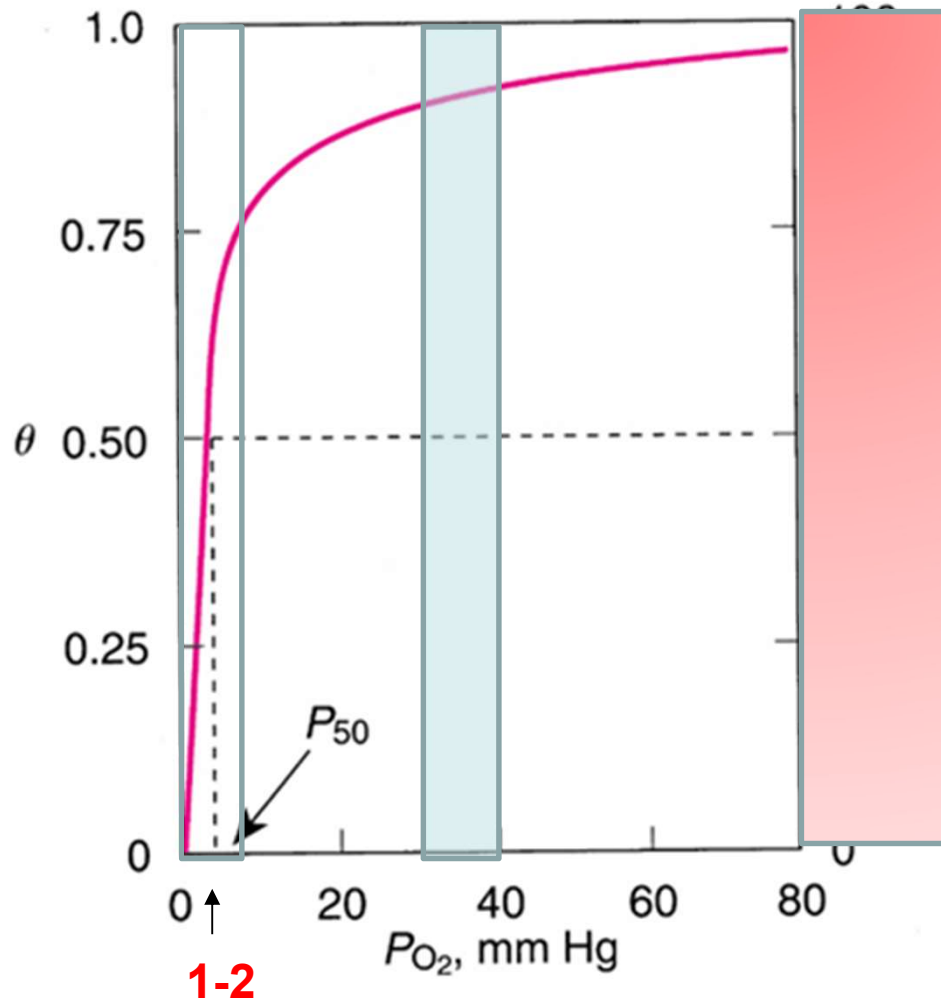
$$\theta = \frac{[\text{O}_2]}{[\text{O}_2] + [\text{O}_2]_{0,5}}$$

Essendo O_2 un gas, esprimeremo $[\text{O}_2]$ come $p\text{O}_2$

$$\theta = \frac{p\text{O}_2}{p\text{O}_2 + P_{50}}$$

$$\theta = \frac{P_{O_2}}{P_{50} + P_{O_2}}$$

Il legame dell'O₂ alla Mb è descritto da un'iperbole equilatera



pO₂ atmosfera = 150 mm Hg

pO₂ alveoli = 100 mm Hg

pO₂ sangue venoso = 30-40 mm Hg

pO₂ tessuti = 0-5 mm Hg

Mb lega l'O₂ con ELEVATA AFFINITA' e lo cede SOLAMENTE quando pO₂ è molto bassa.

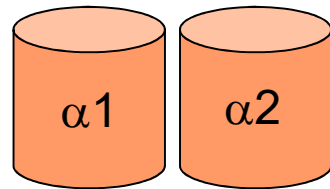
La mioglobina funziona da deposito di O₂ a livello muscolare.

Quando il muscolo è a riposo la mioglobina rimane legata all'O₂;

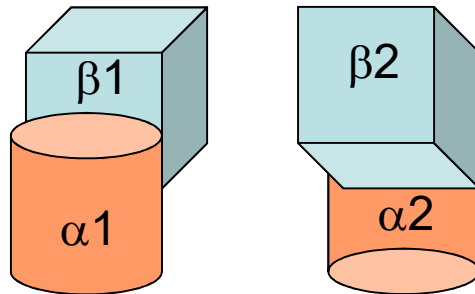
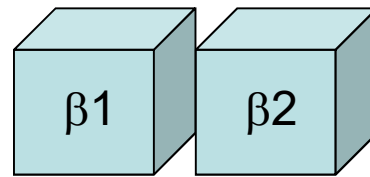
quando il muscolo è attivo viene consumato O₂ e diminuisce la pO₂ la mioglobina rilascia l'O₂

Il trasporto dell'ossigeno: l'EMOGLOBINA

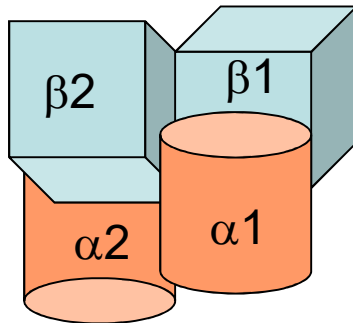
2 subunità α



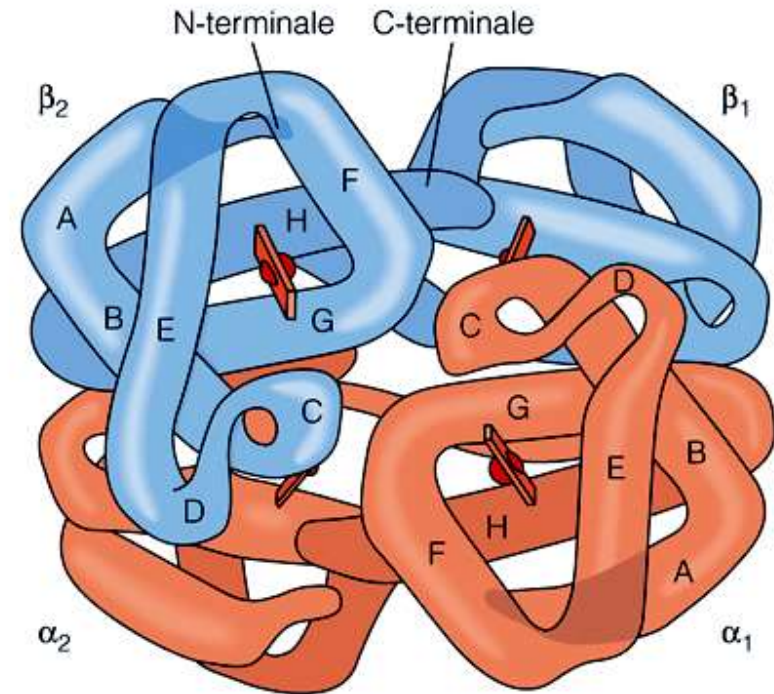
2 subunità β



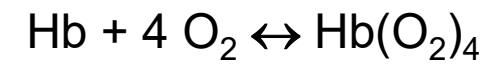
35 residui all'interfaccia

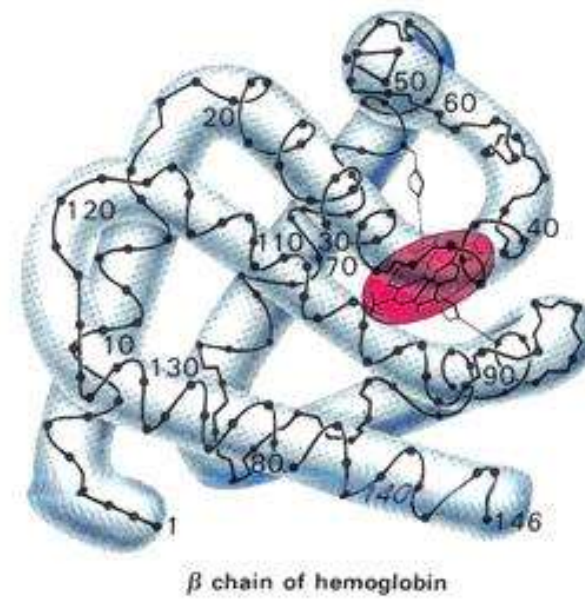
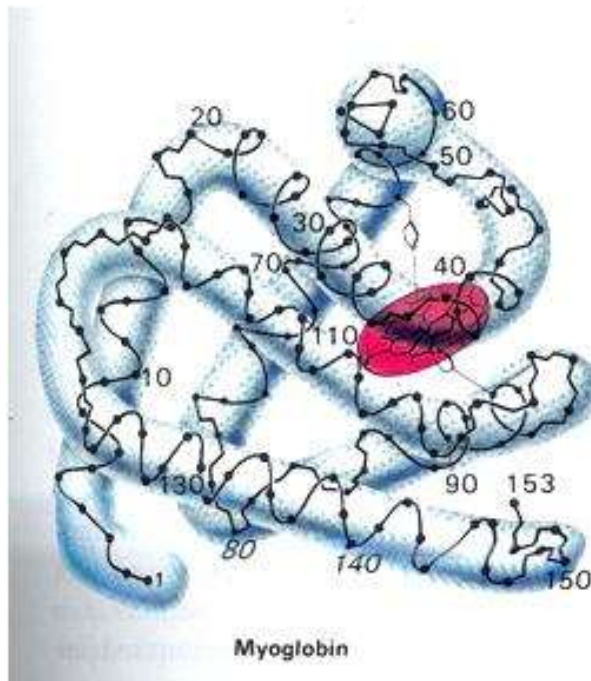


19 residui all'interfaccia



Emoglobina



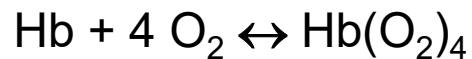


MIOGLOBINA : 1
ligando per molecola
proteica

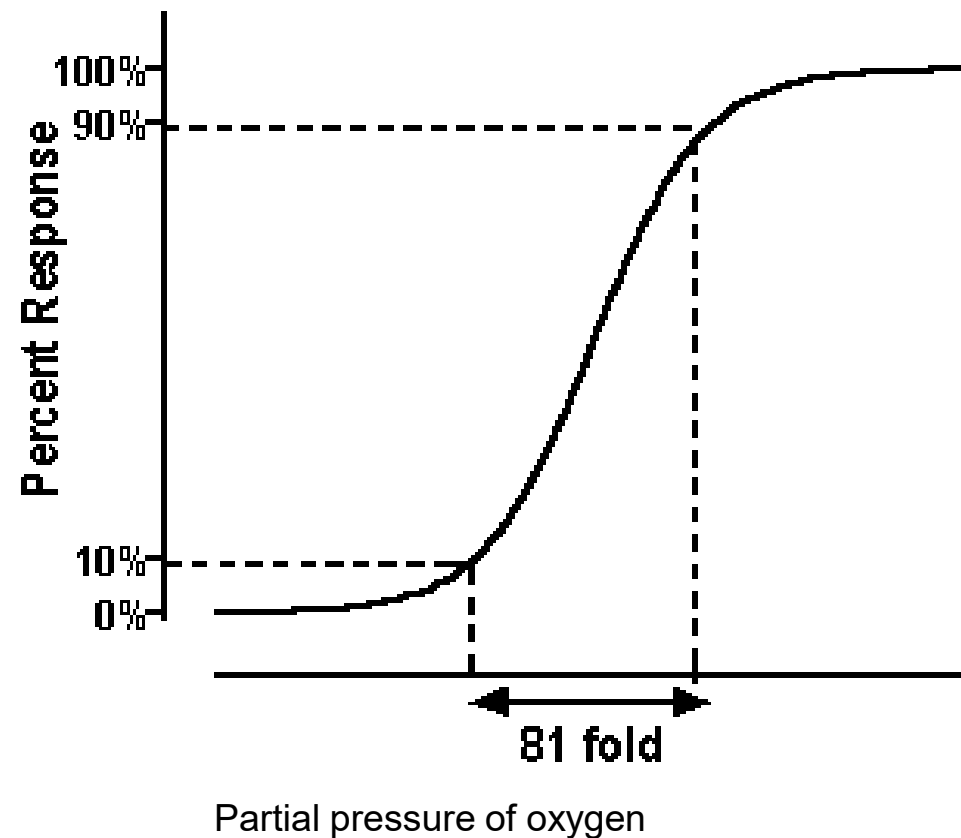
$$\theta = \frac{pO_2}{pO_2 + P_{50}}$$

Se i siti di legame sono
n, per molecola proteica

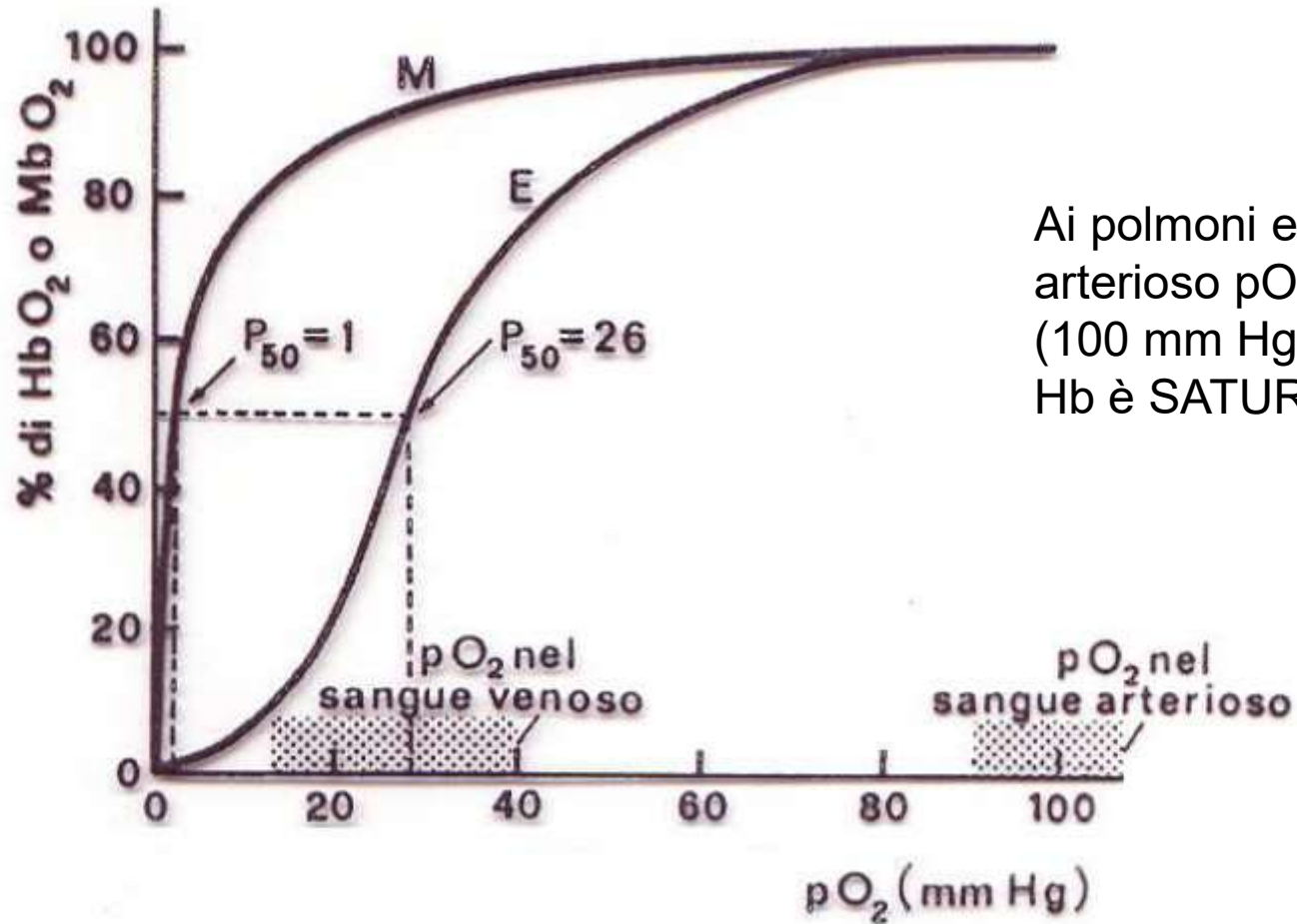
$$\theta = \frac{[pO_2]^n}{P_{50} + [pO_2]^n}$$



In un piccolo intervallo di pO_2 si
passa dal 10% al 90% di
saturazione



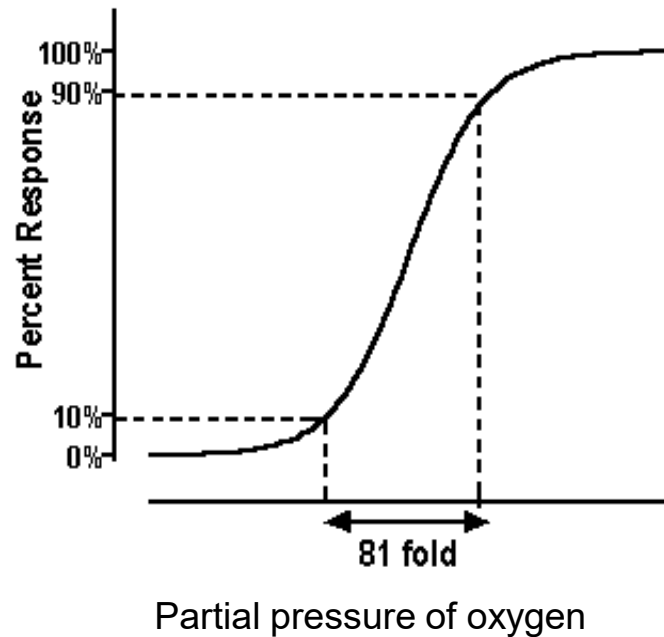
Nel sangue venoso
e nei tessuti, pO_2 è bassa:
Hb cede O_2



Ai polmoni e nel sangue
arterioso pO_2 è alta
(100 mm Hg):
Hb è SATURA di O_2

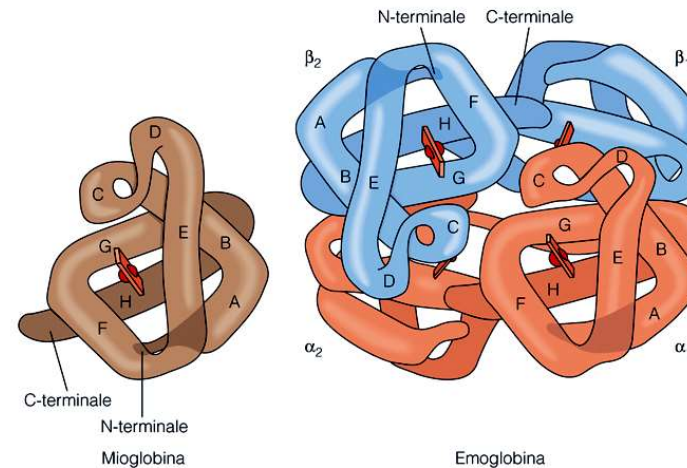
Curve di dissociazione della mioglobina (M) e della emoglobina (E).

Una curva sigmoide descrive un **andamento cooperativo**



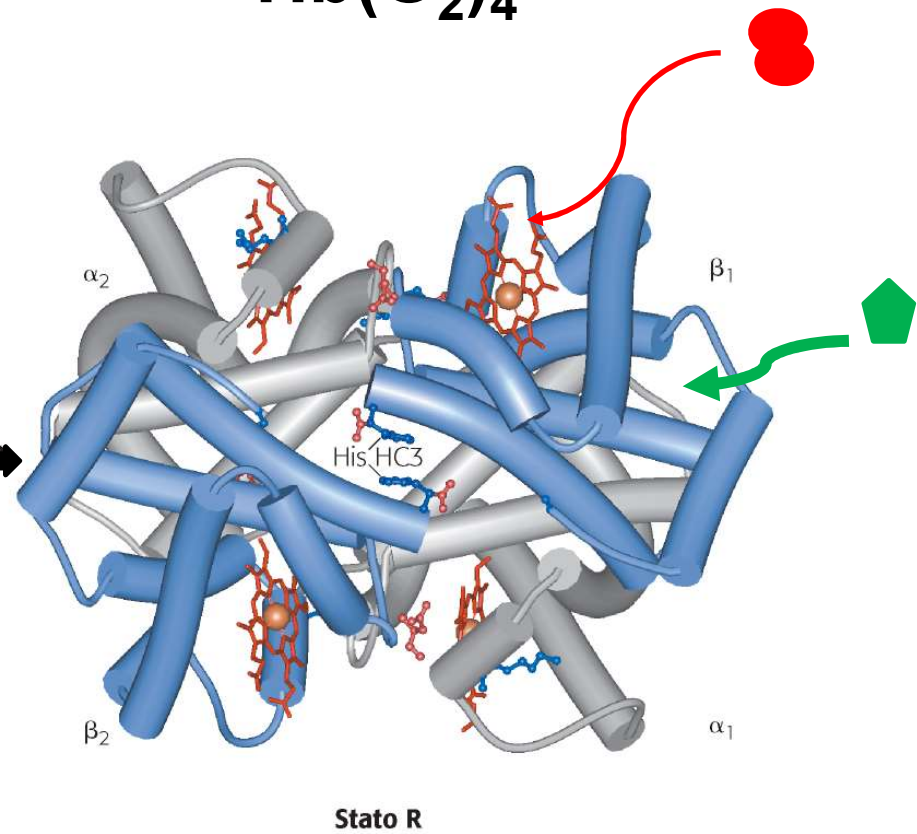
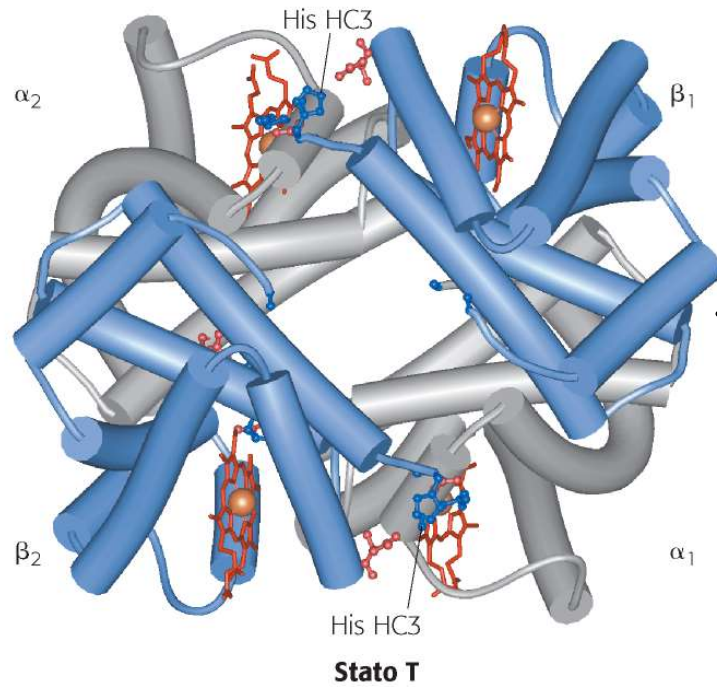
Questo indica che il legame è di tipo **COOPERATIVO**:
Il legame di una molecola di O_2 FAVORISCE il legame
delle altre 3 molecole (Hb lega 4 O_2)

Vantaggio garantito dalla struttura IV



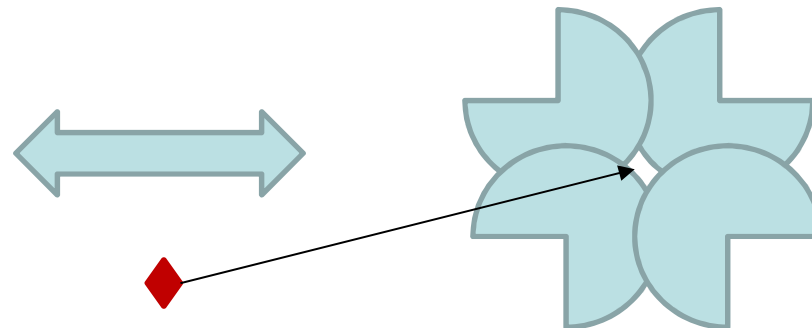
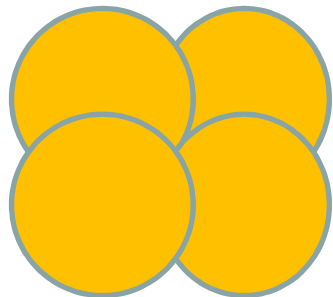
Hb

Hb(O₂)₄



Bassa affinità per O₂

Alta affinità per O₂

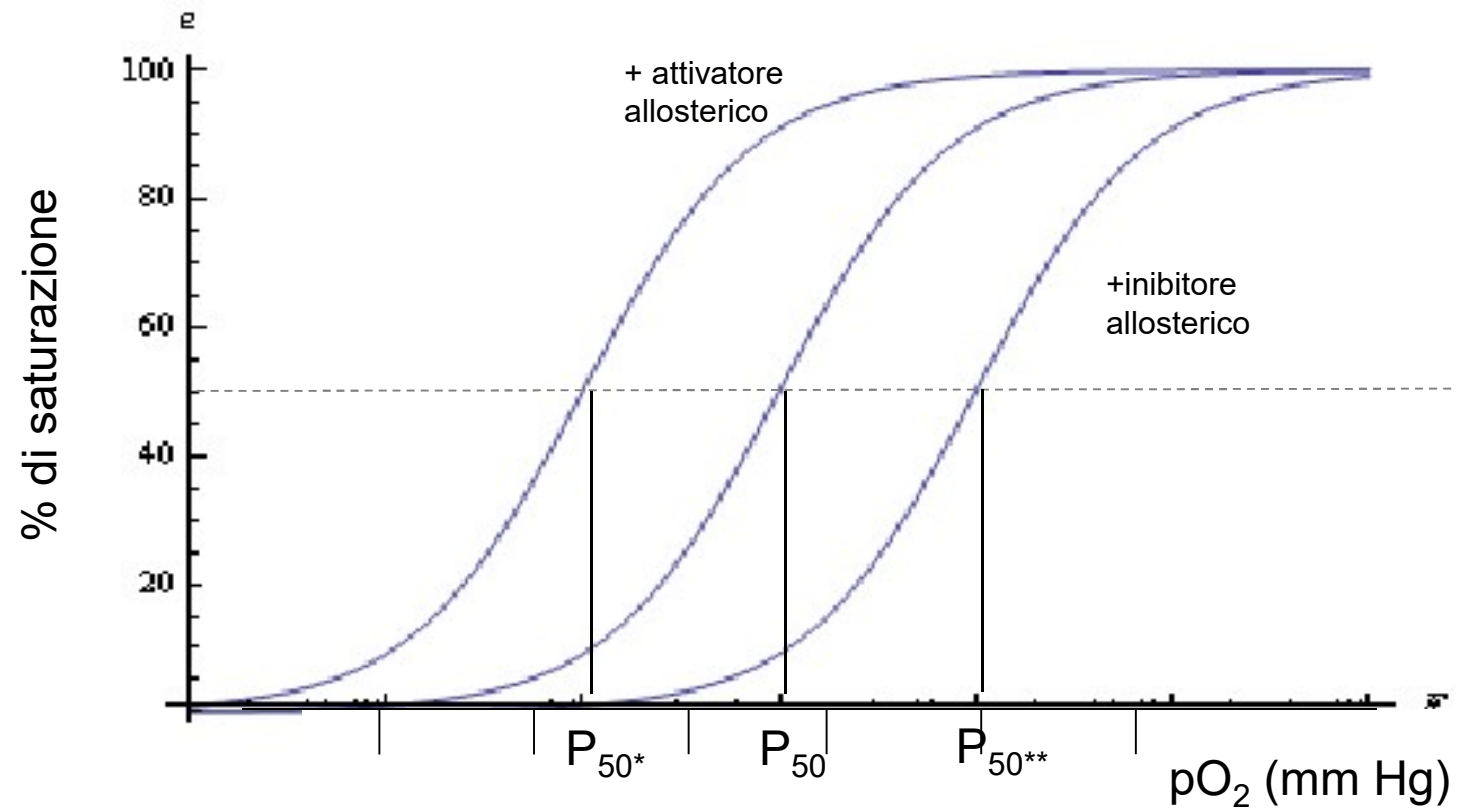


PROTEINE ALLOSTERICHE

EFFETTORI ALLOSTERICI:

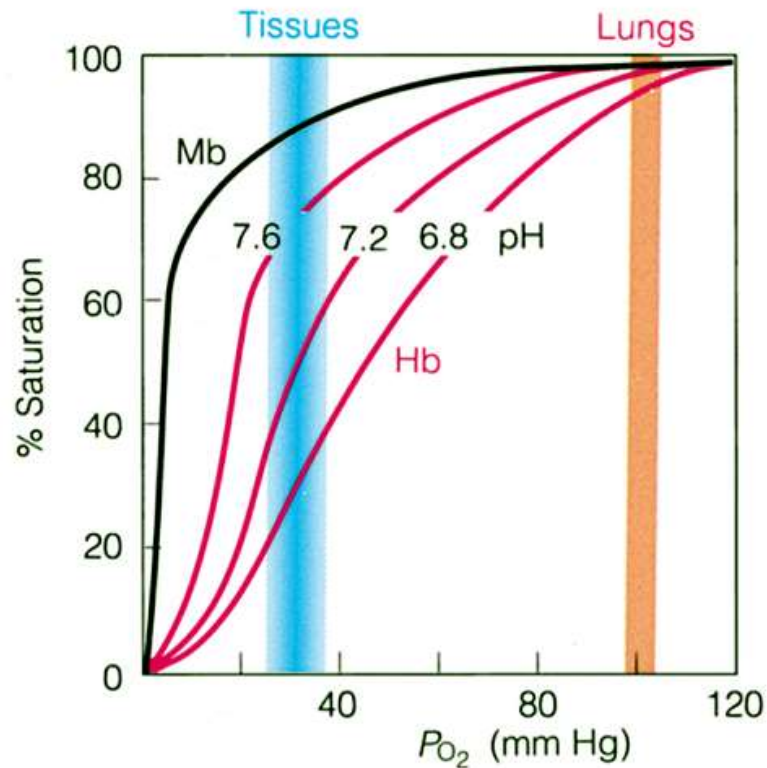
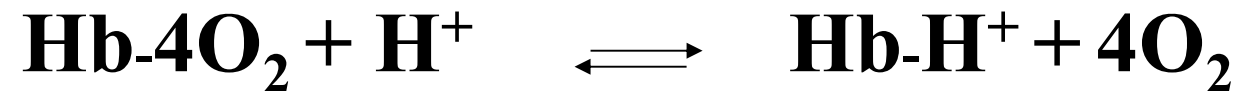
Molecole che legandosi non covalentemente a proteine, anche ad un sito diverso dal sito attivo, ne modificano la conformazione globale, regolandone quindi la funzione

ATTIVATORI e INIBITORI allosterici



L'emoglobina cede più facilmente O₂ in tessuti metabolicamente attivi

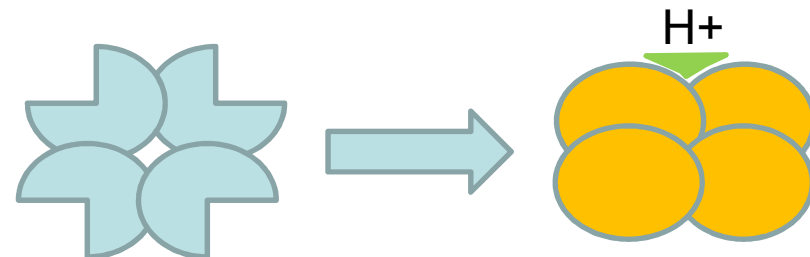
EFFETTO BOHR

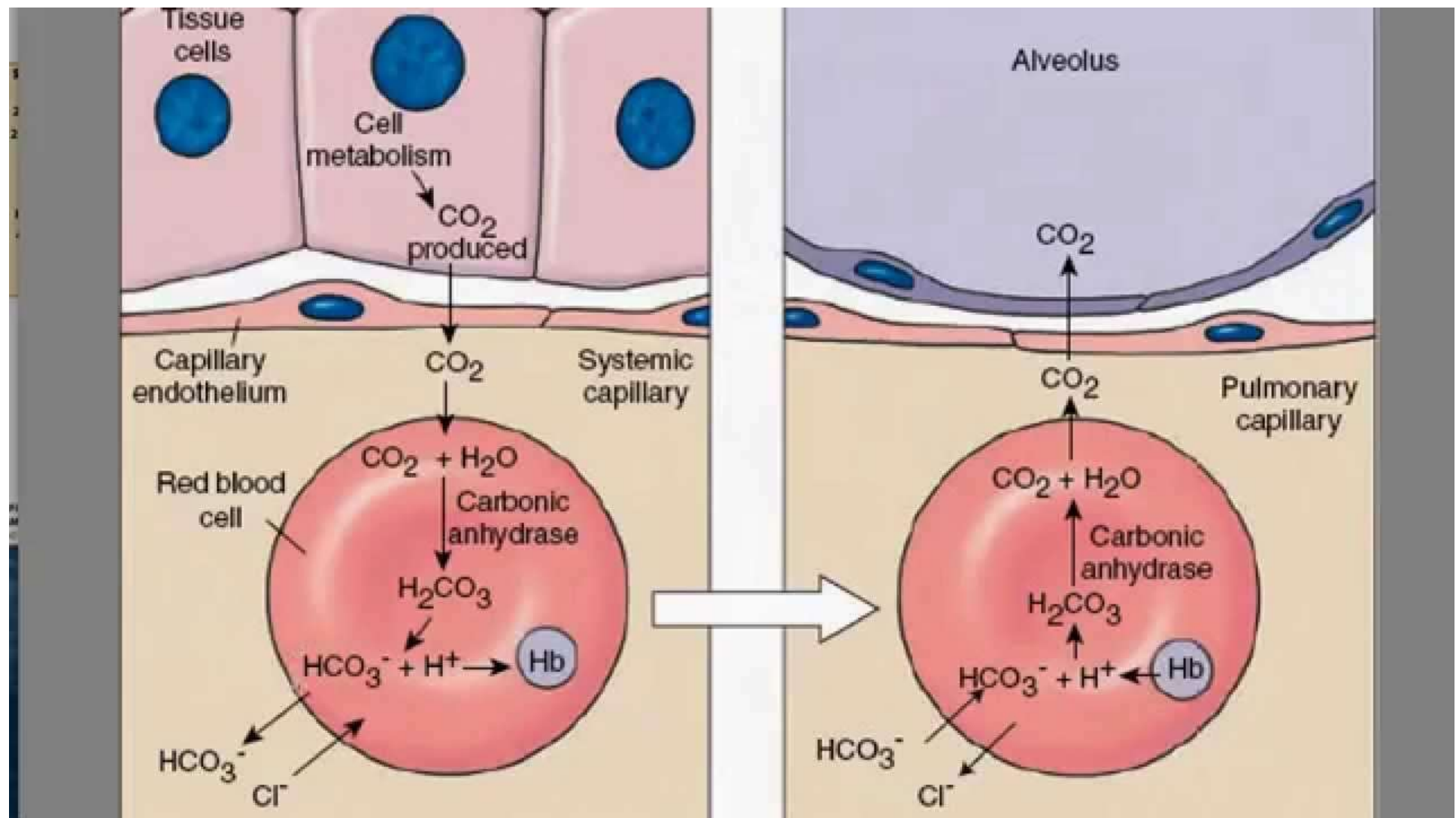


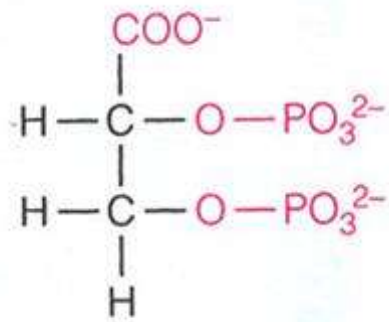
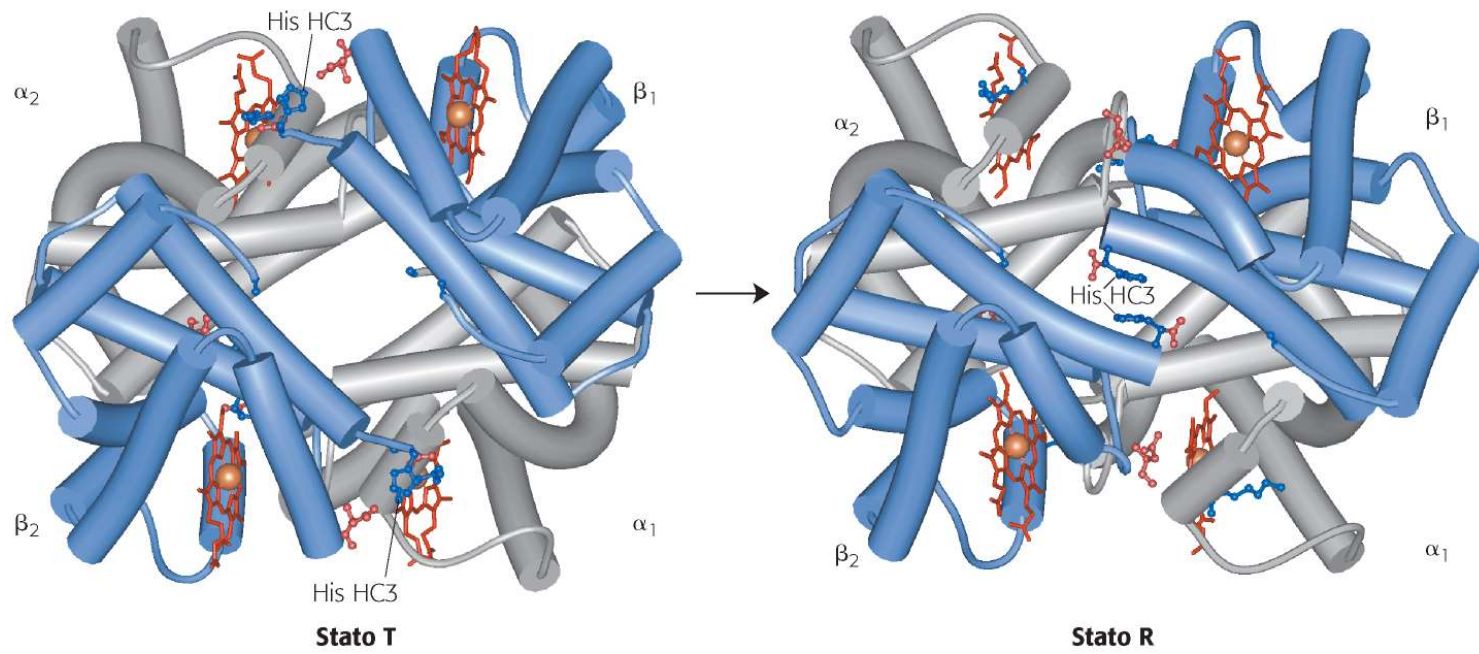
Gli ioni H⁺ determinano una perdita di affinità per O₂ agendo come

INIBITORI ALLOSTERICI

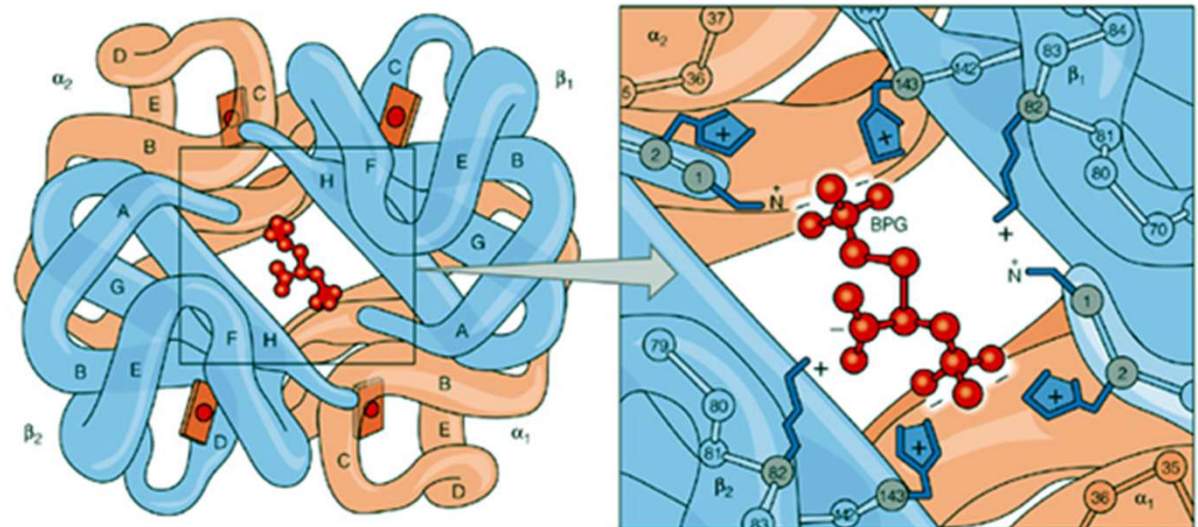
Stabilizzano la conformazione a bassa affinità



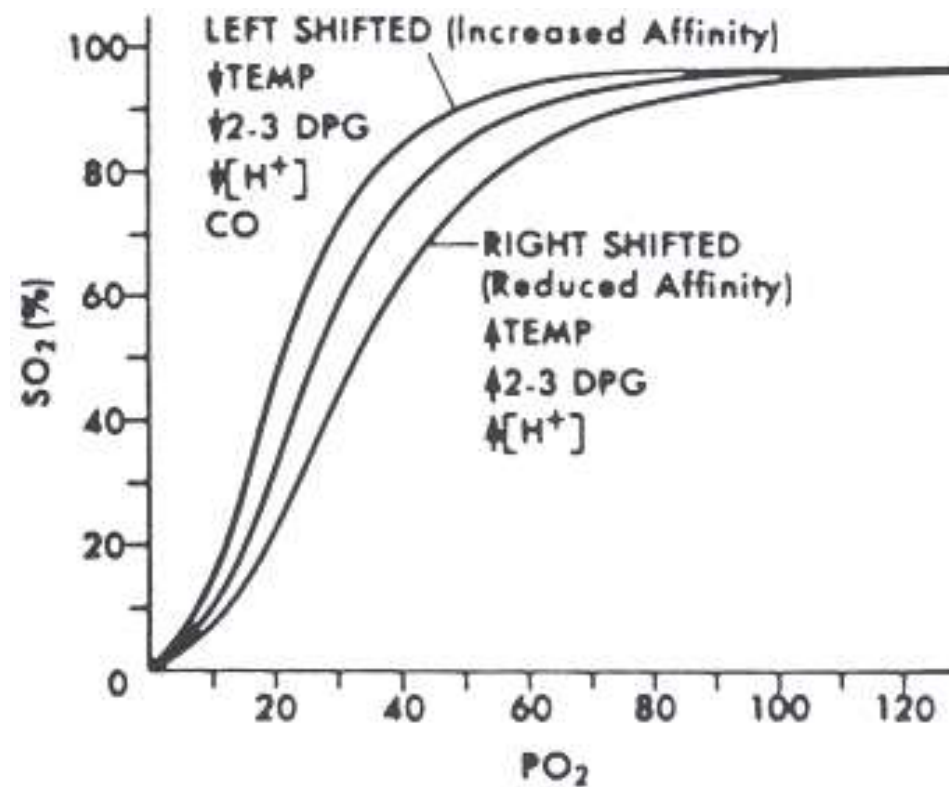




(a) 2,3-Bisfosfoglicerato



H⁺ e BPG sono **INIBITORI ALLOSTERICI**
dell'EMOGLOBINA

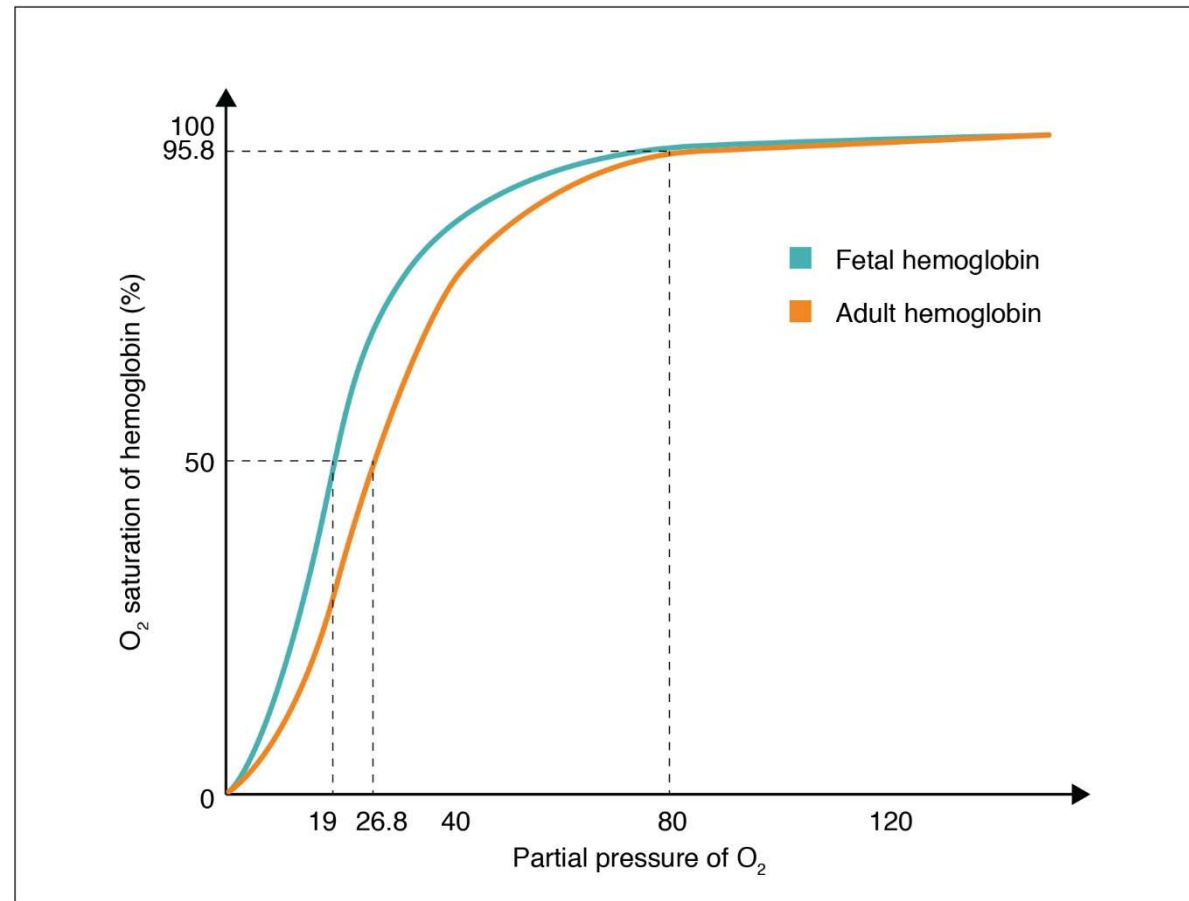


Hb fetale

($2\alpha, 2\gamma$)

Hb materna

($2\alpha, 2\beta$)



1) **Emoglobina fetale (HbF)** è meno sensibile al 2,3-DPG, di conseguenza la sua affinità per l'O₂ risulta complessivamente superiore a quella dell'uomo adulto (HbA). È un effetto benefico per il feto che ha un PO₂ arteriosa bassa.