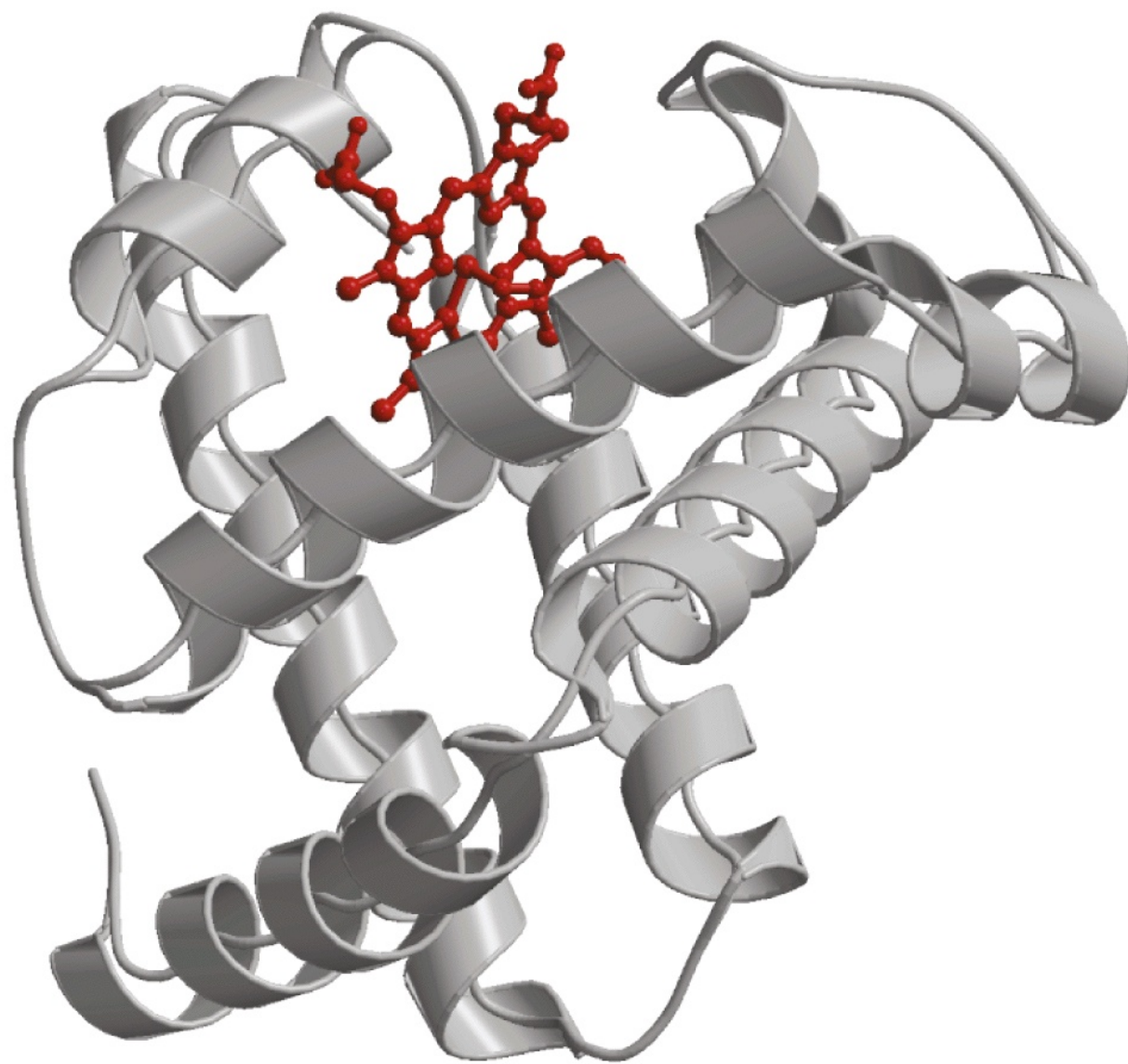


AVVERTENZA

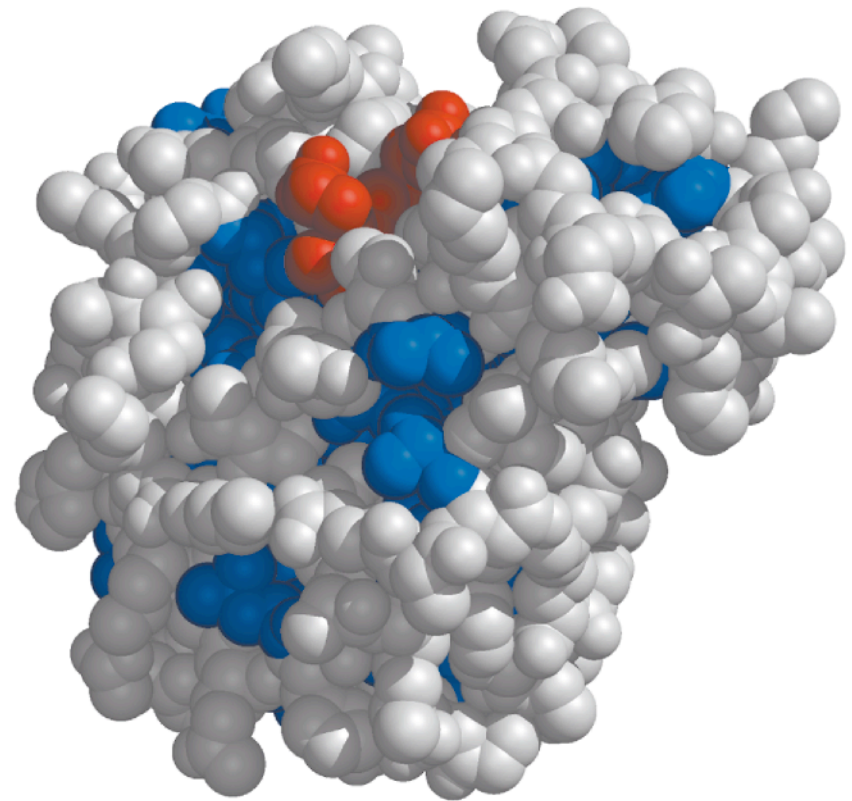
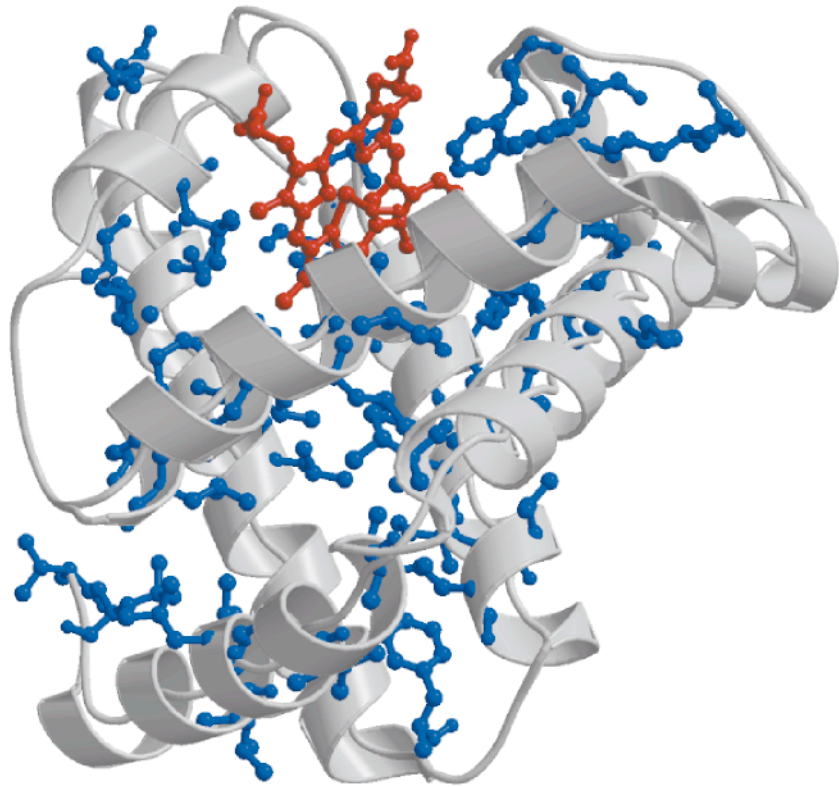
Il presente materiale didattico è messo a disposizione degli studenti per facilitare la comprensione degli argomenti trattati nel corso delle lezioni e lo studio individuale

Non sostituisce il libro di testo che rappresenta lo strumento fondamentale per lo studio della **Biochimica generale e molecolare**

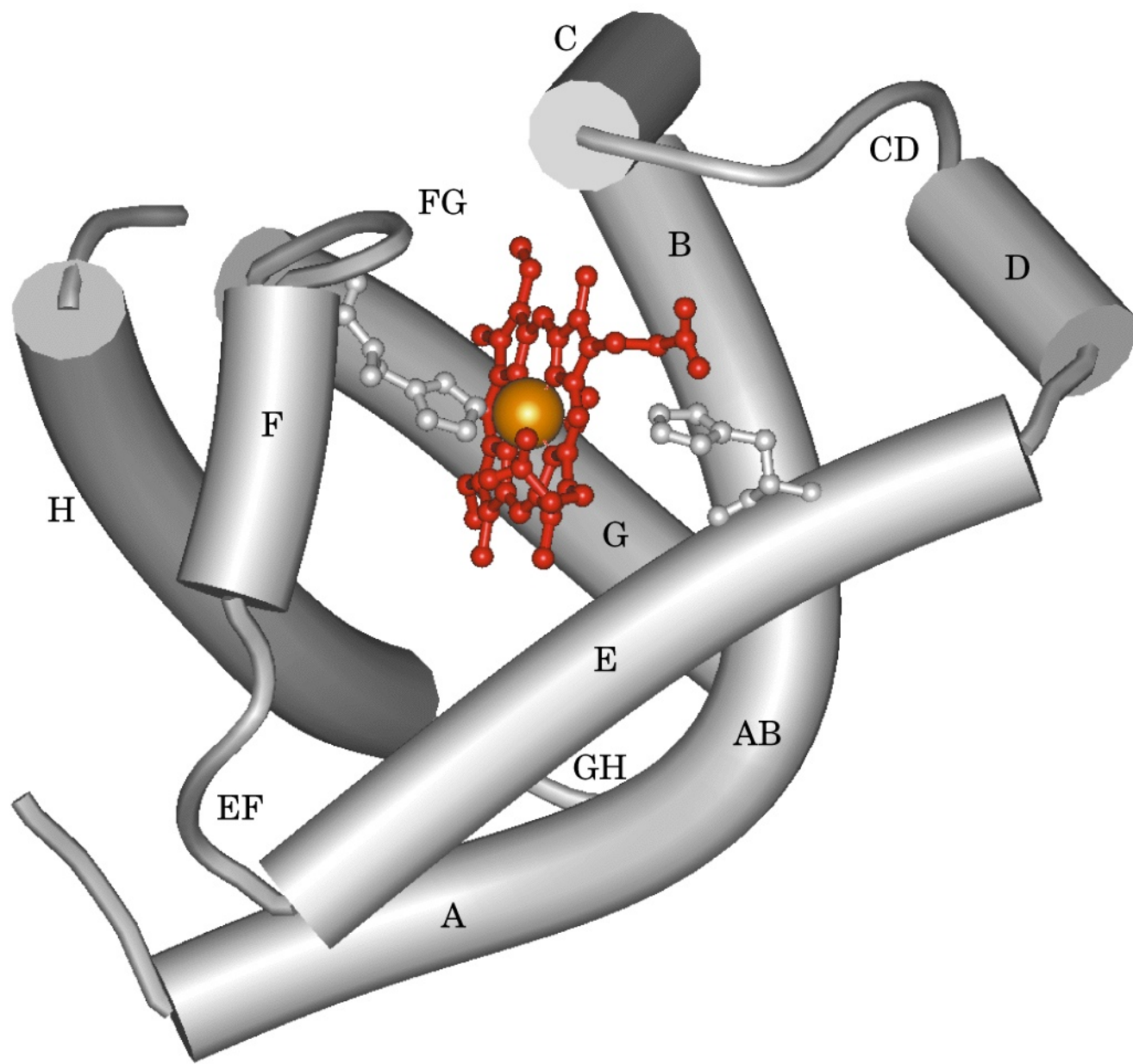
Le immagini utilizzate sono tratte dal libro di testo consigliato e da quelli da consultare indicati nelle diapositive 3-7 del file
INTRODUZIONE

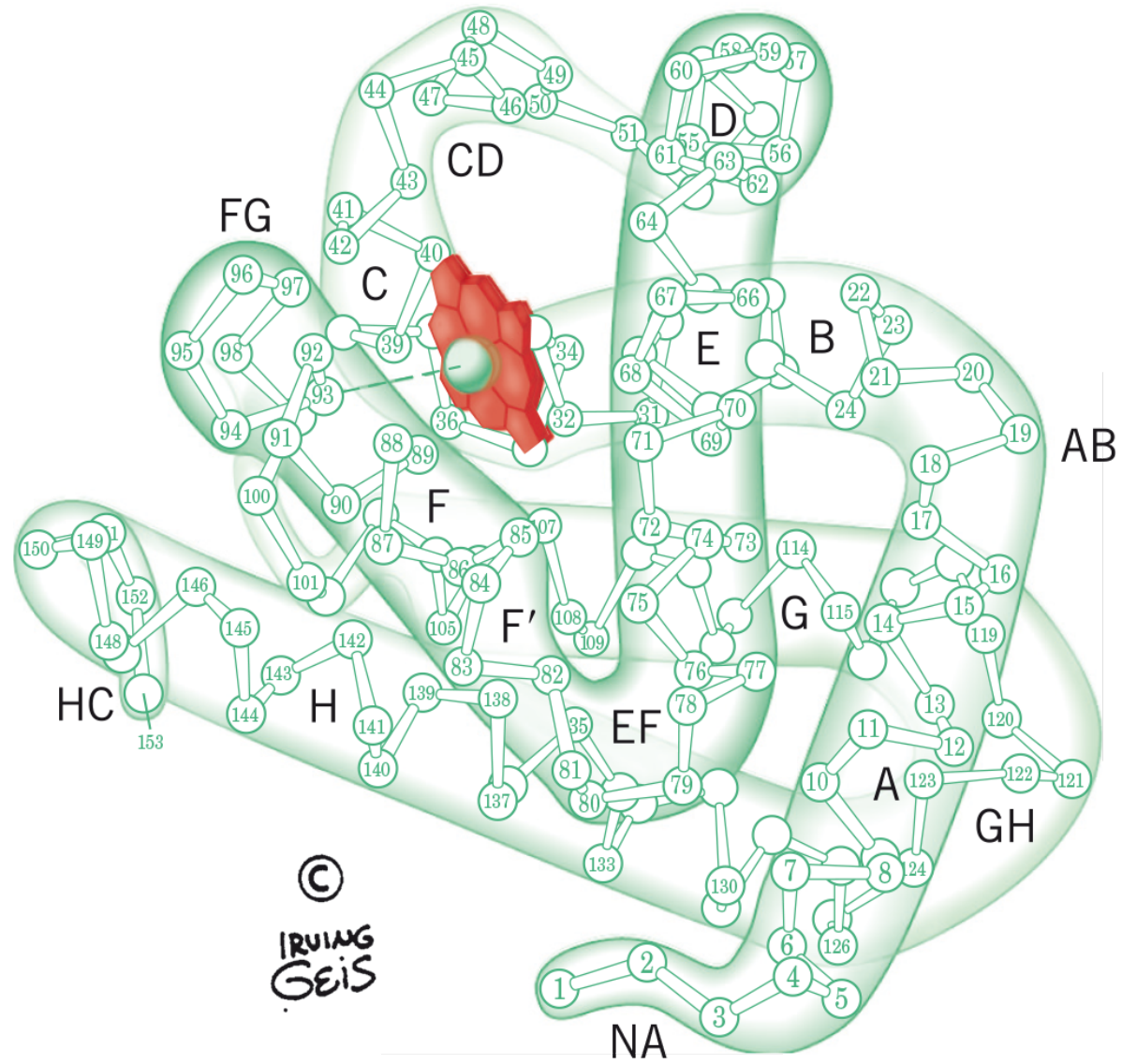


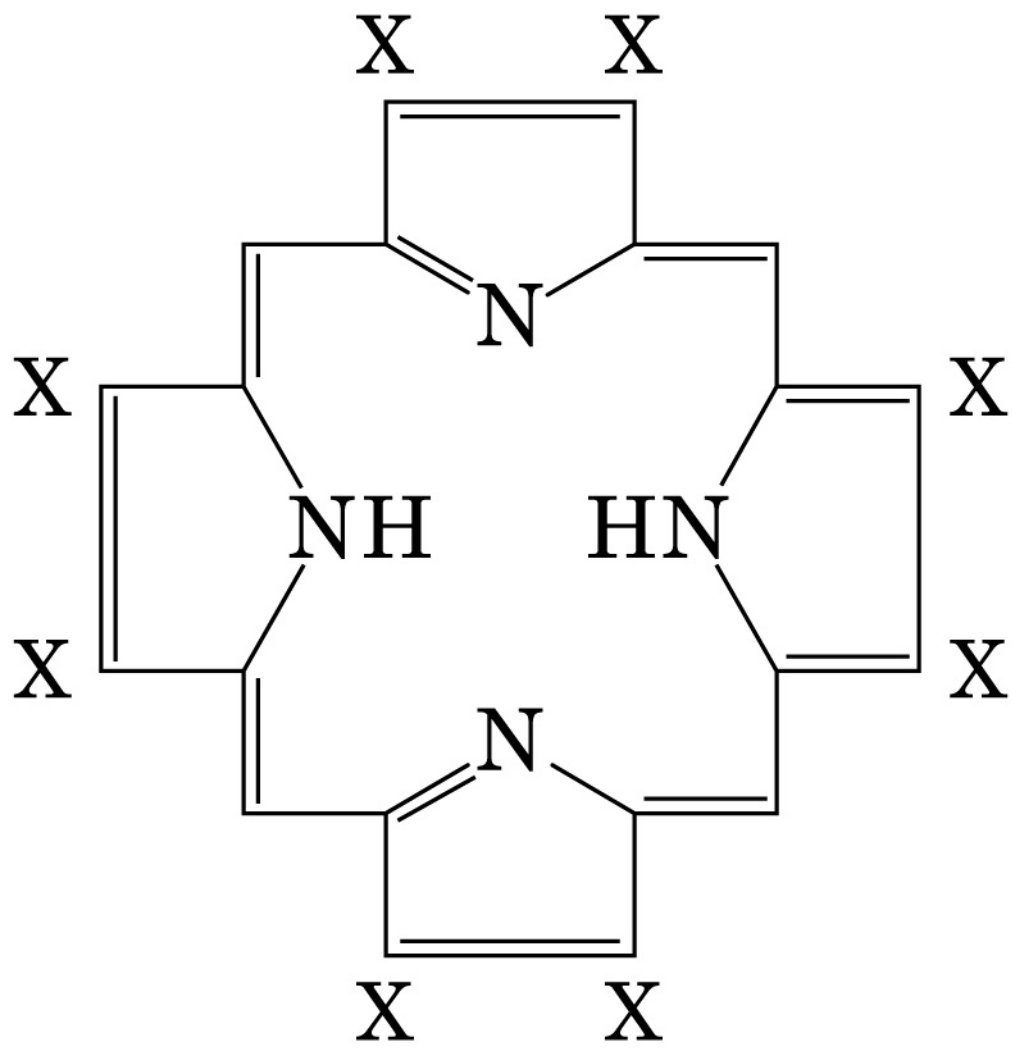
Myoglobina



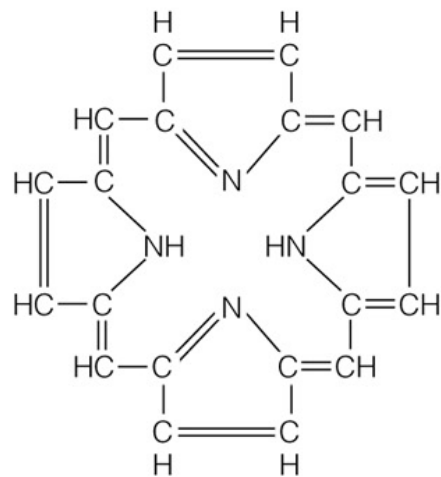
Myoglobina



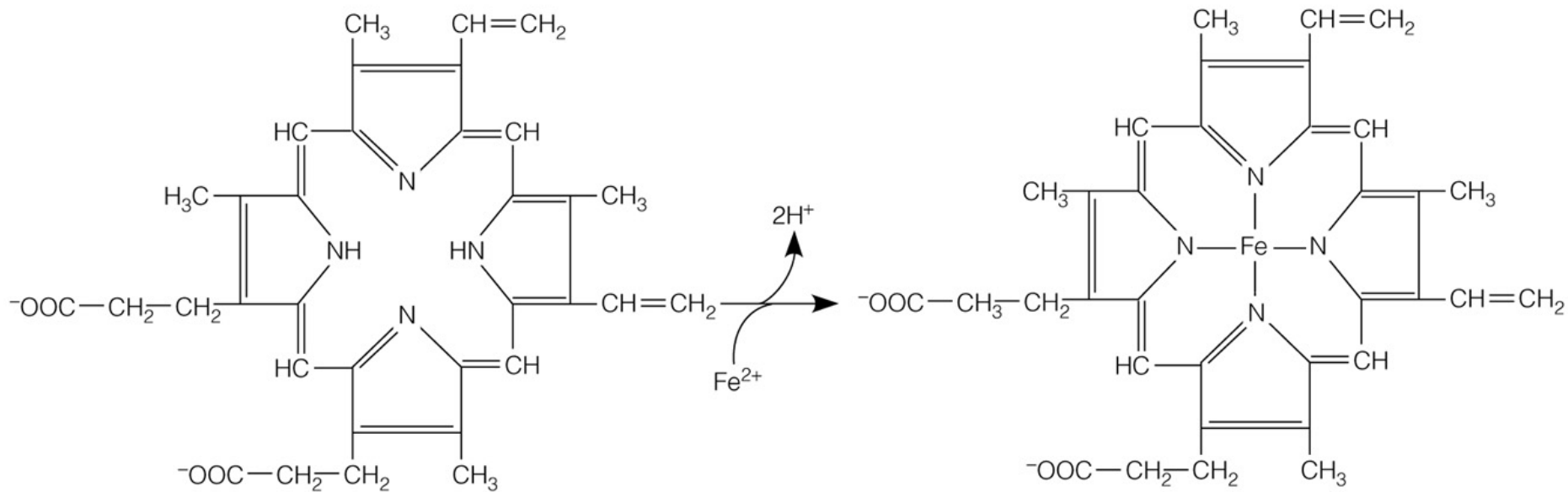




Porfirina

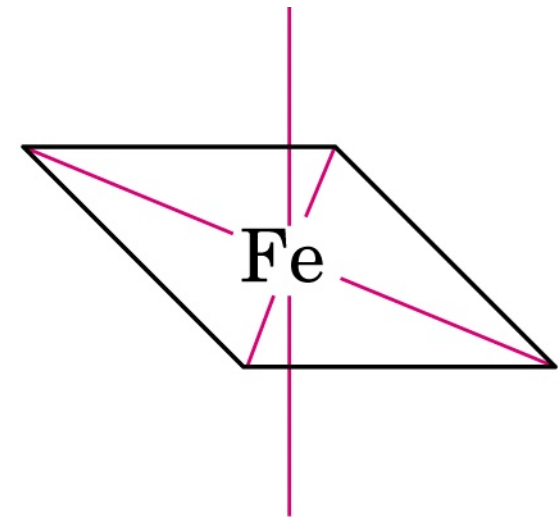
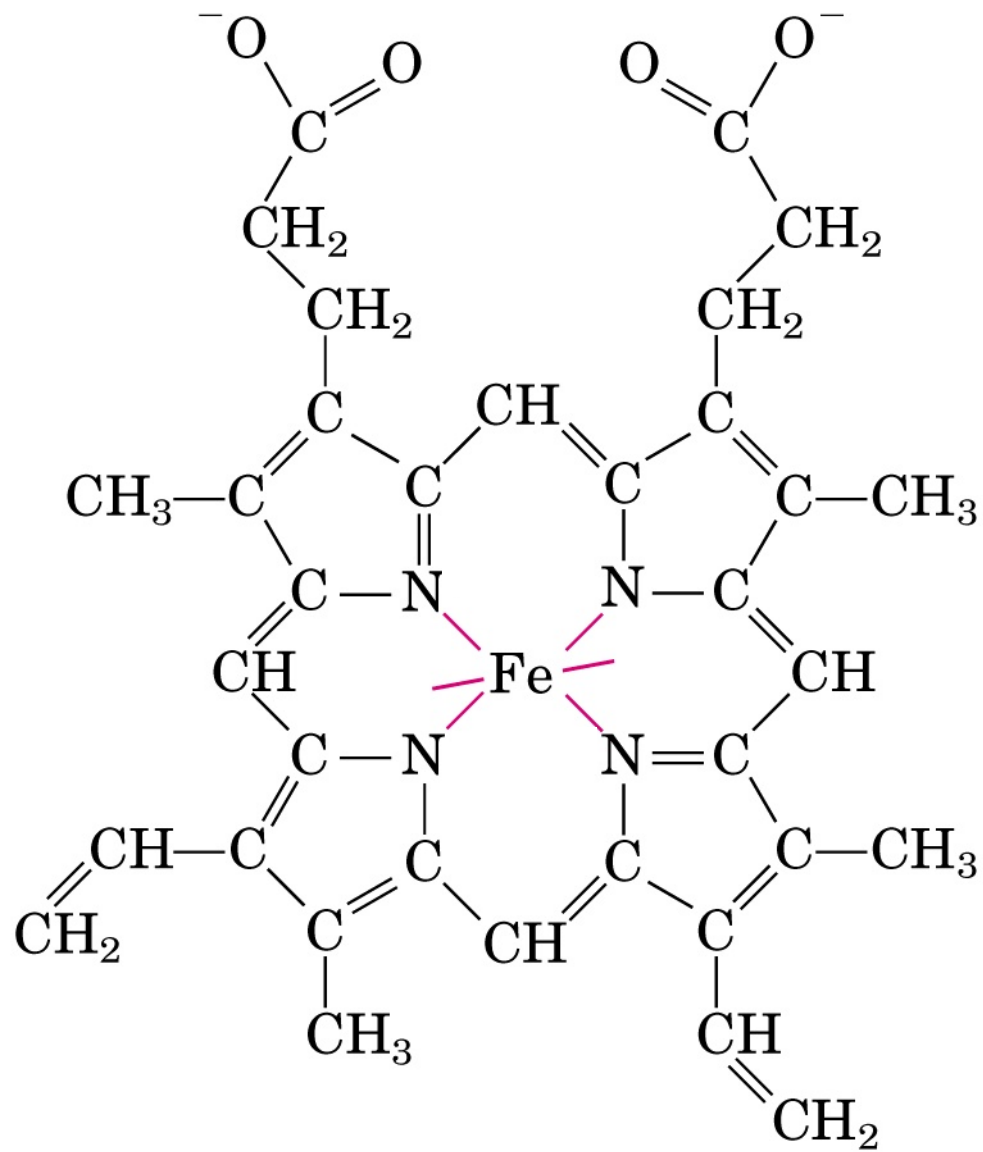


(a) Porphina ($C_{20}H_{14}N_4$)

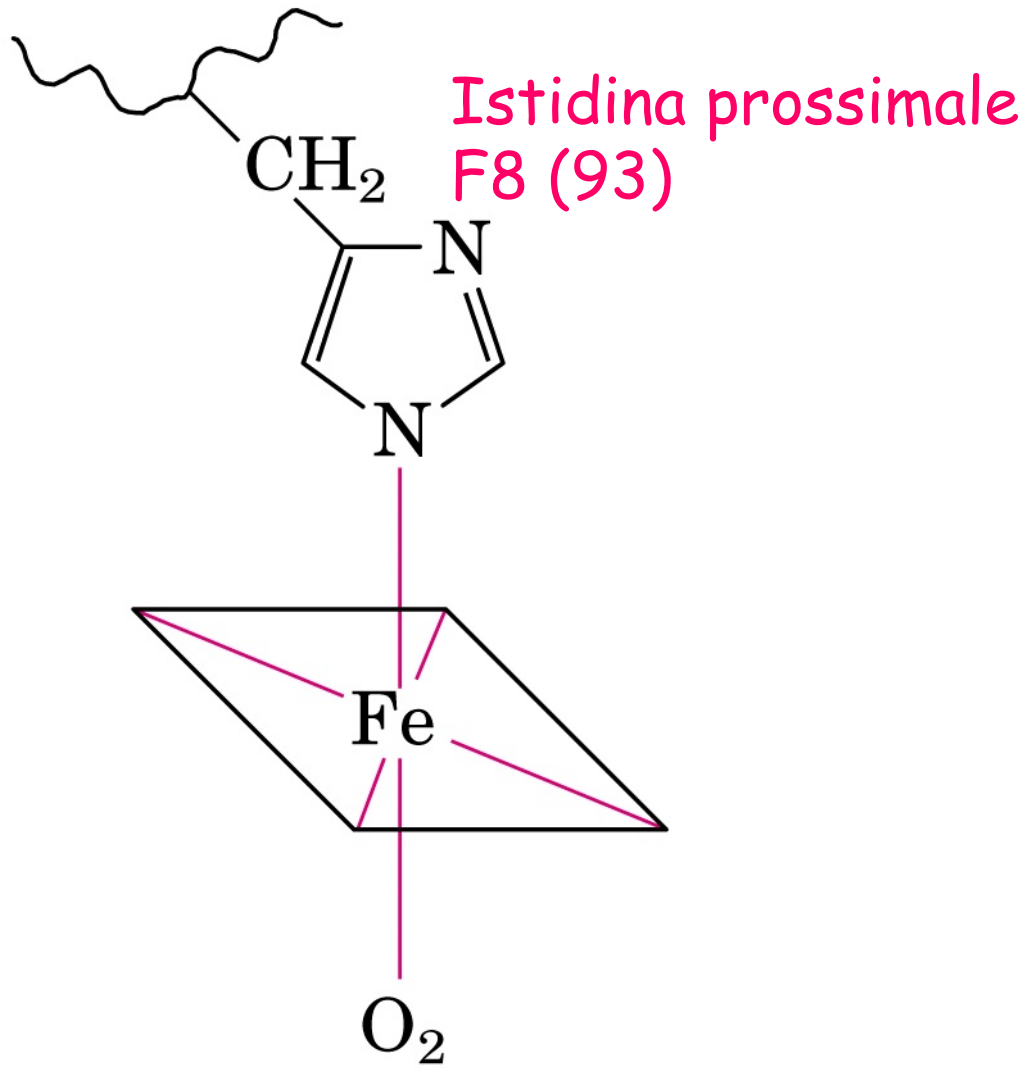


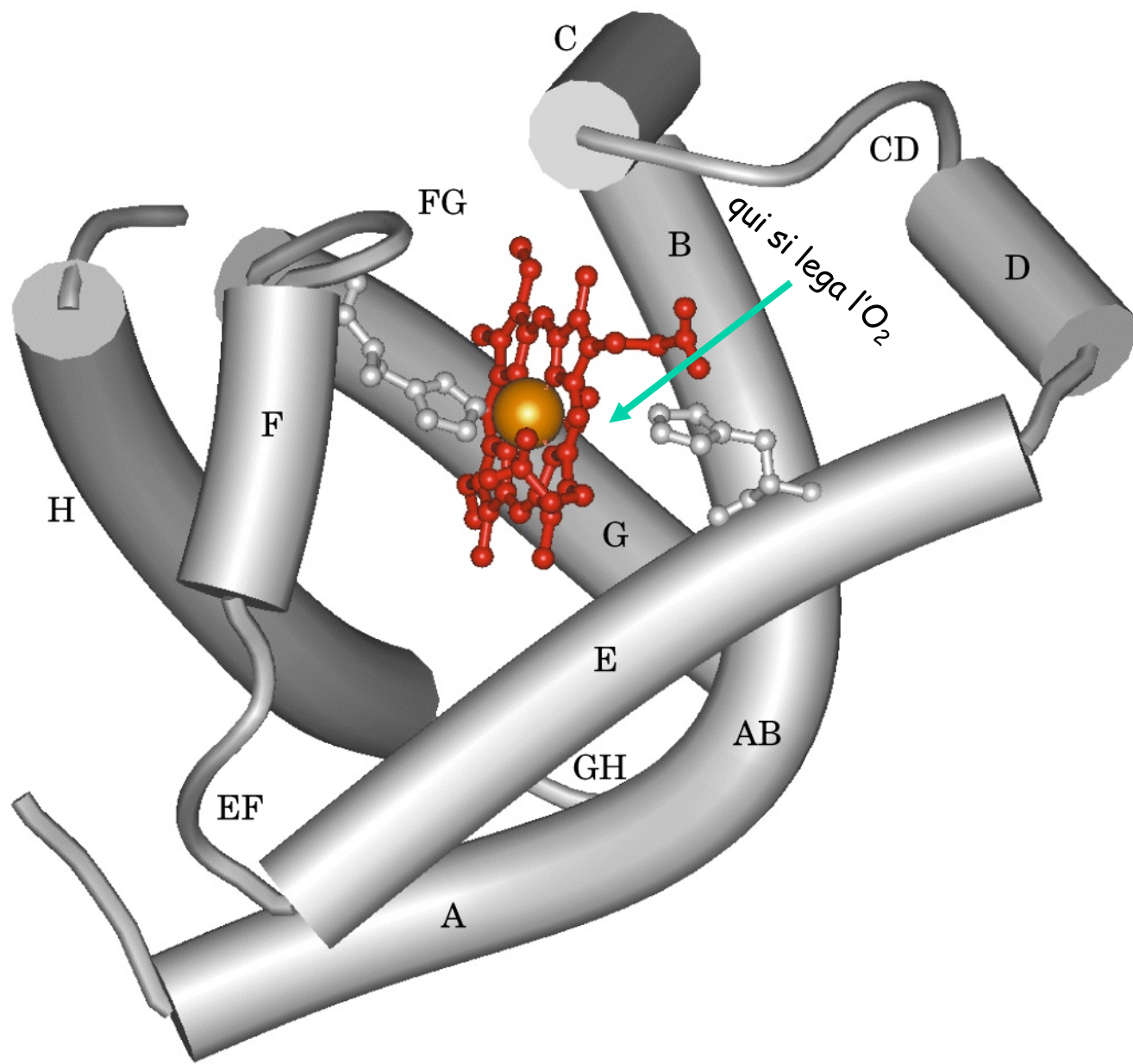
(b) Protoporphirina IX

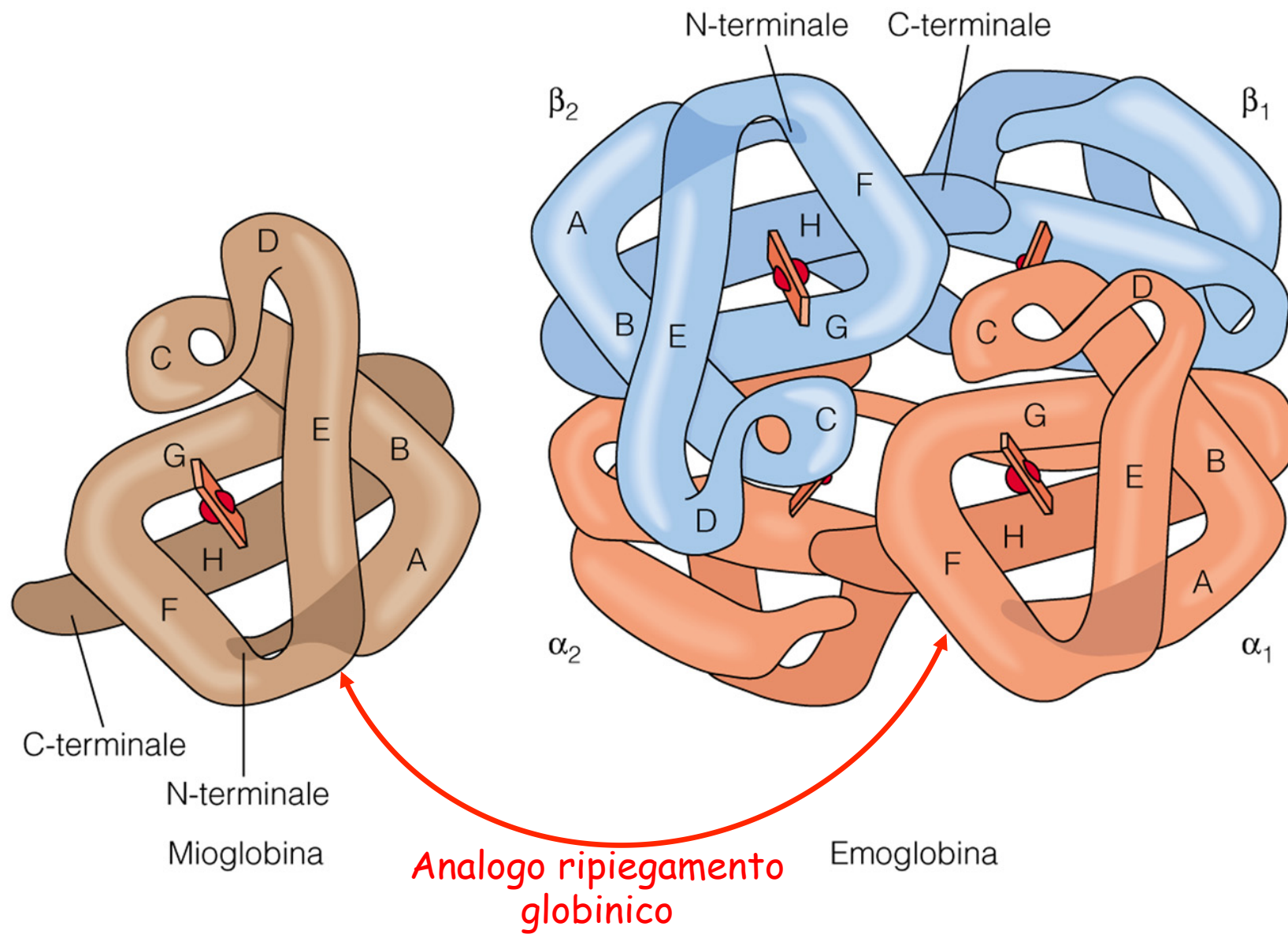
(c) Ferroprotoporphirina (eme)

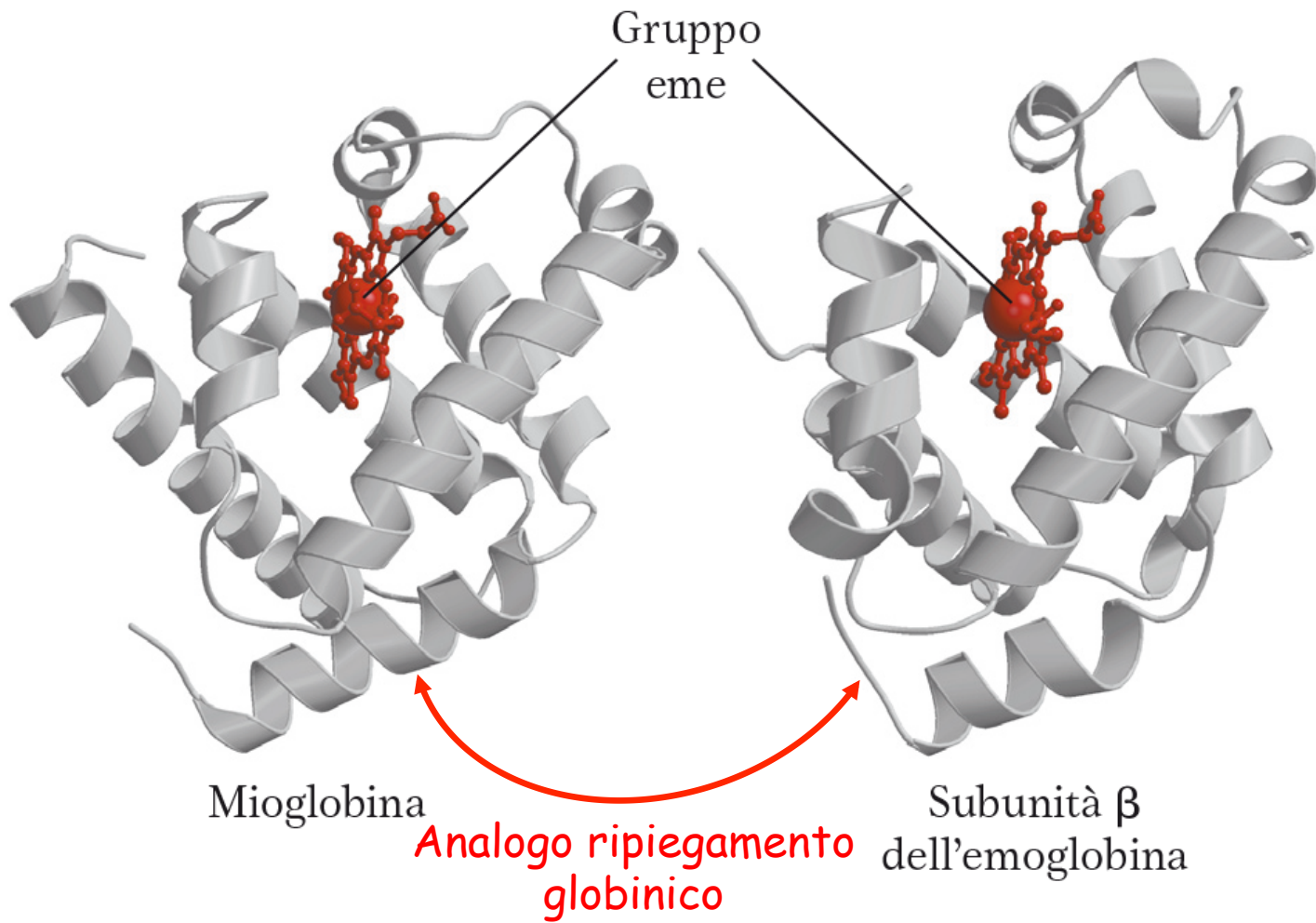


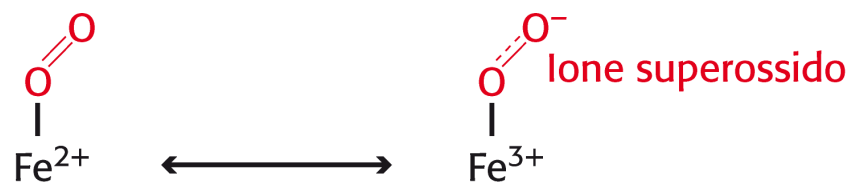
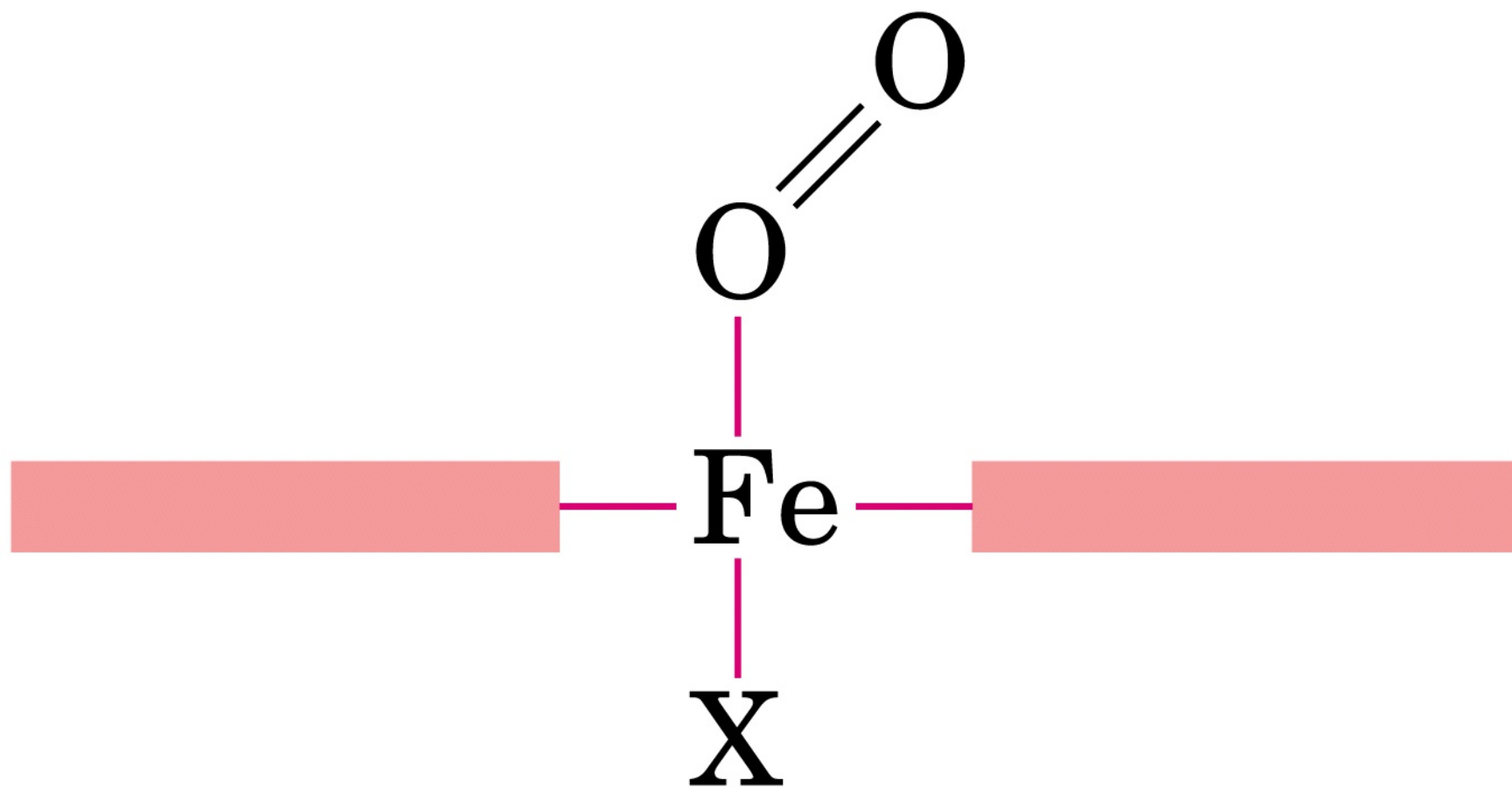
Ferroporphirina IX
(eme)

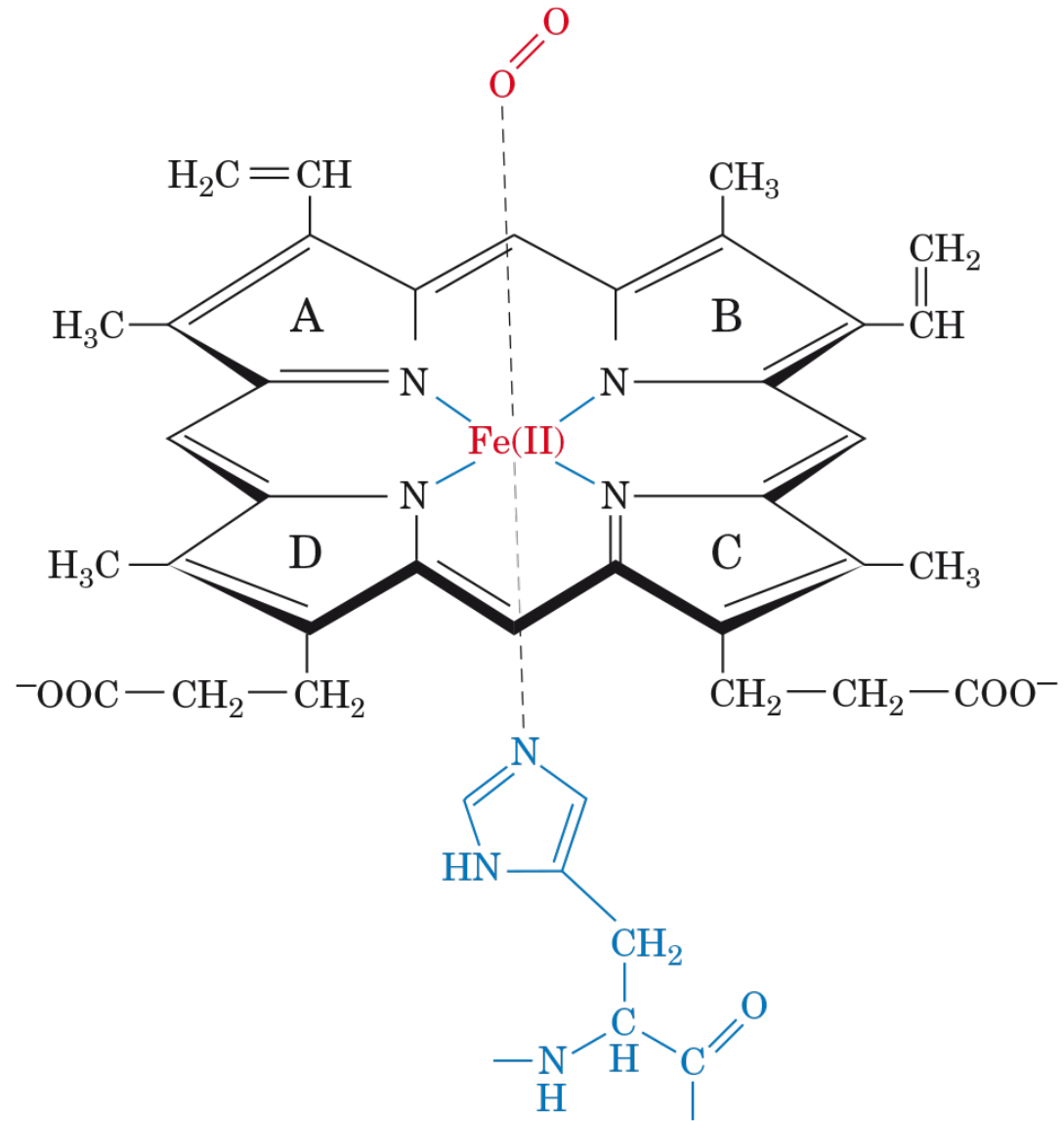


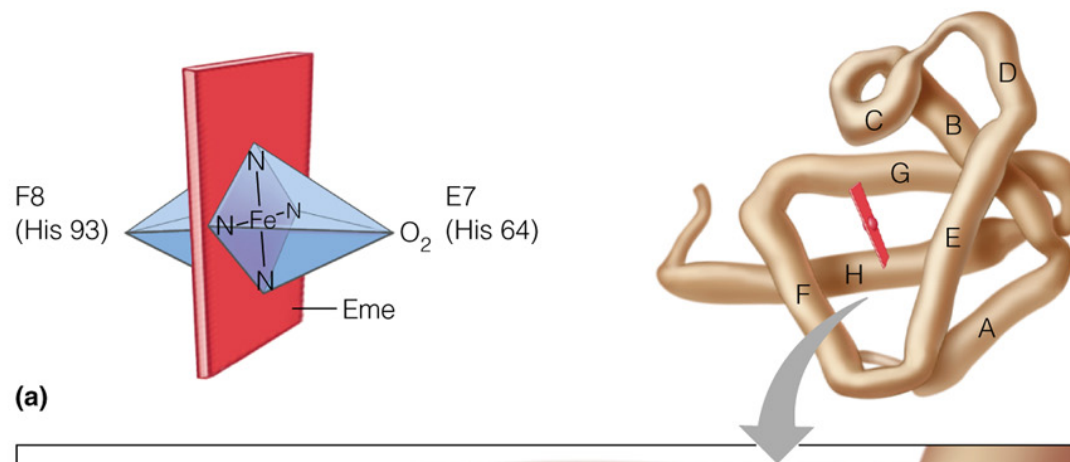




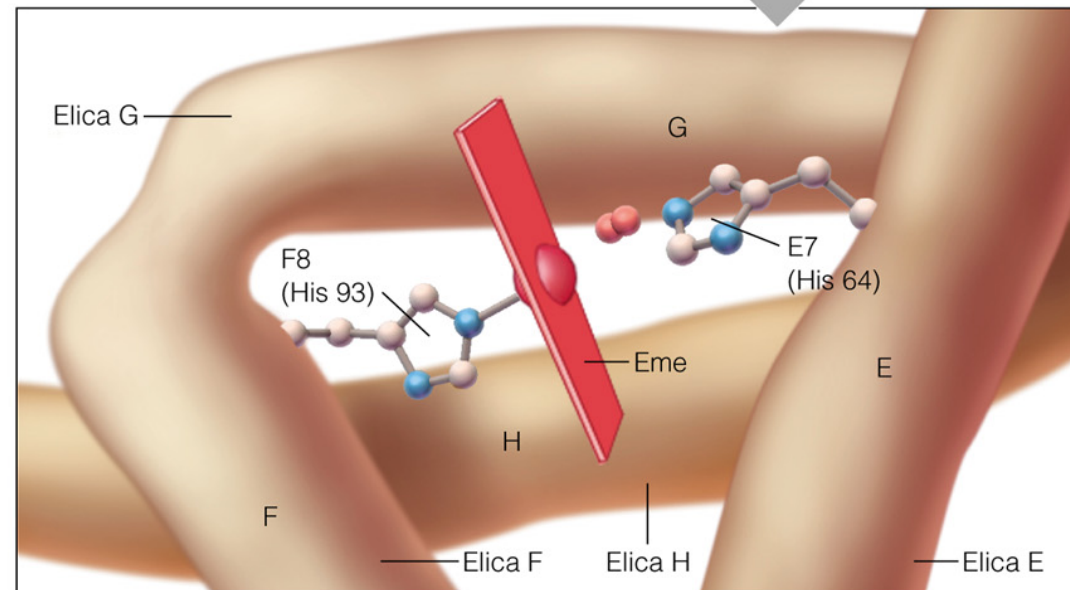




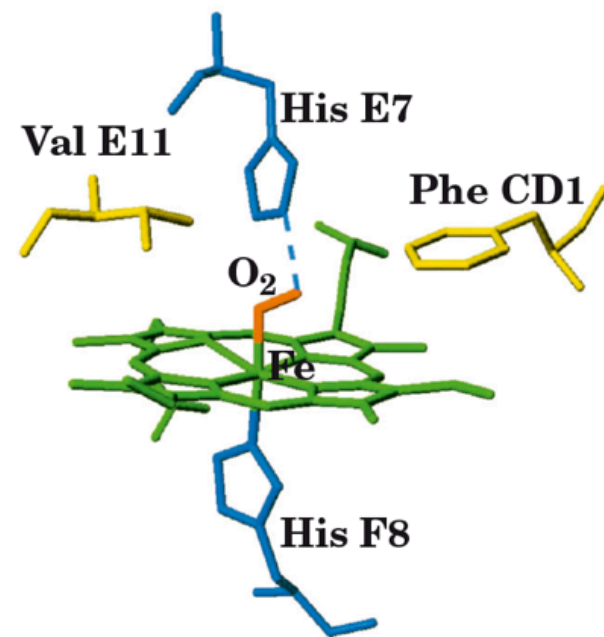
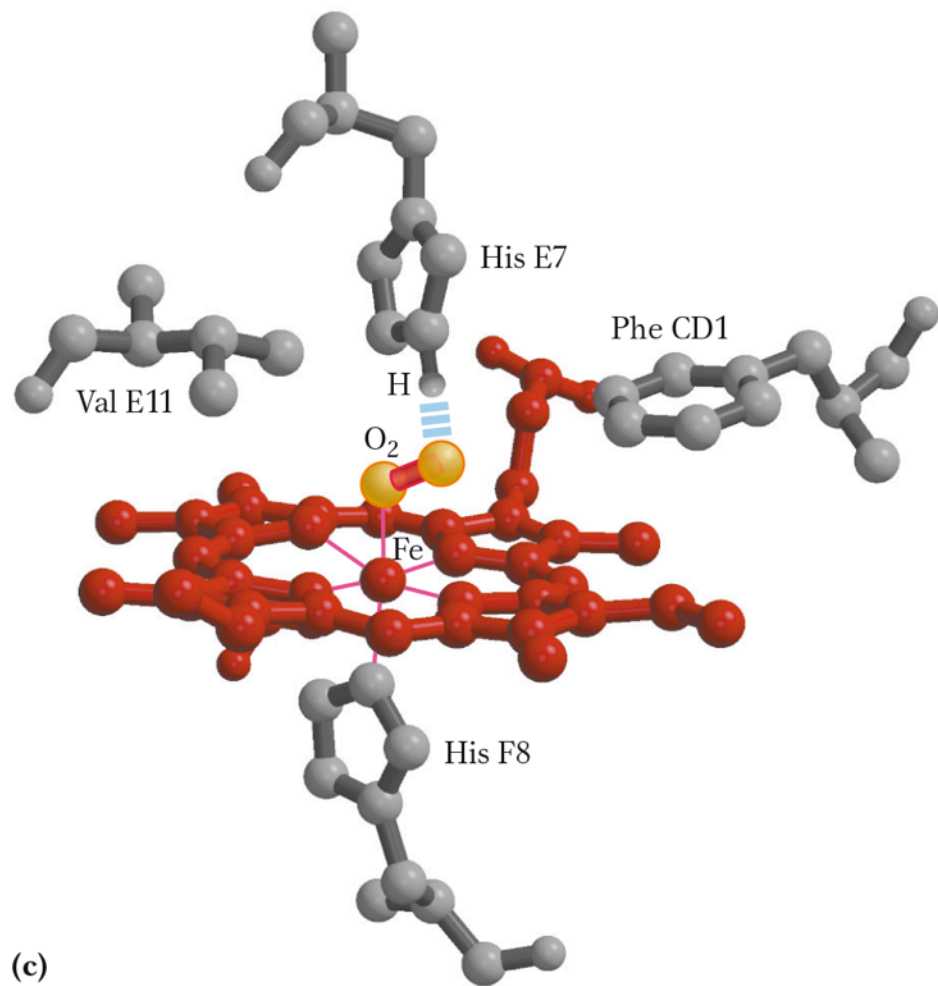


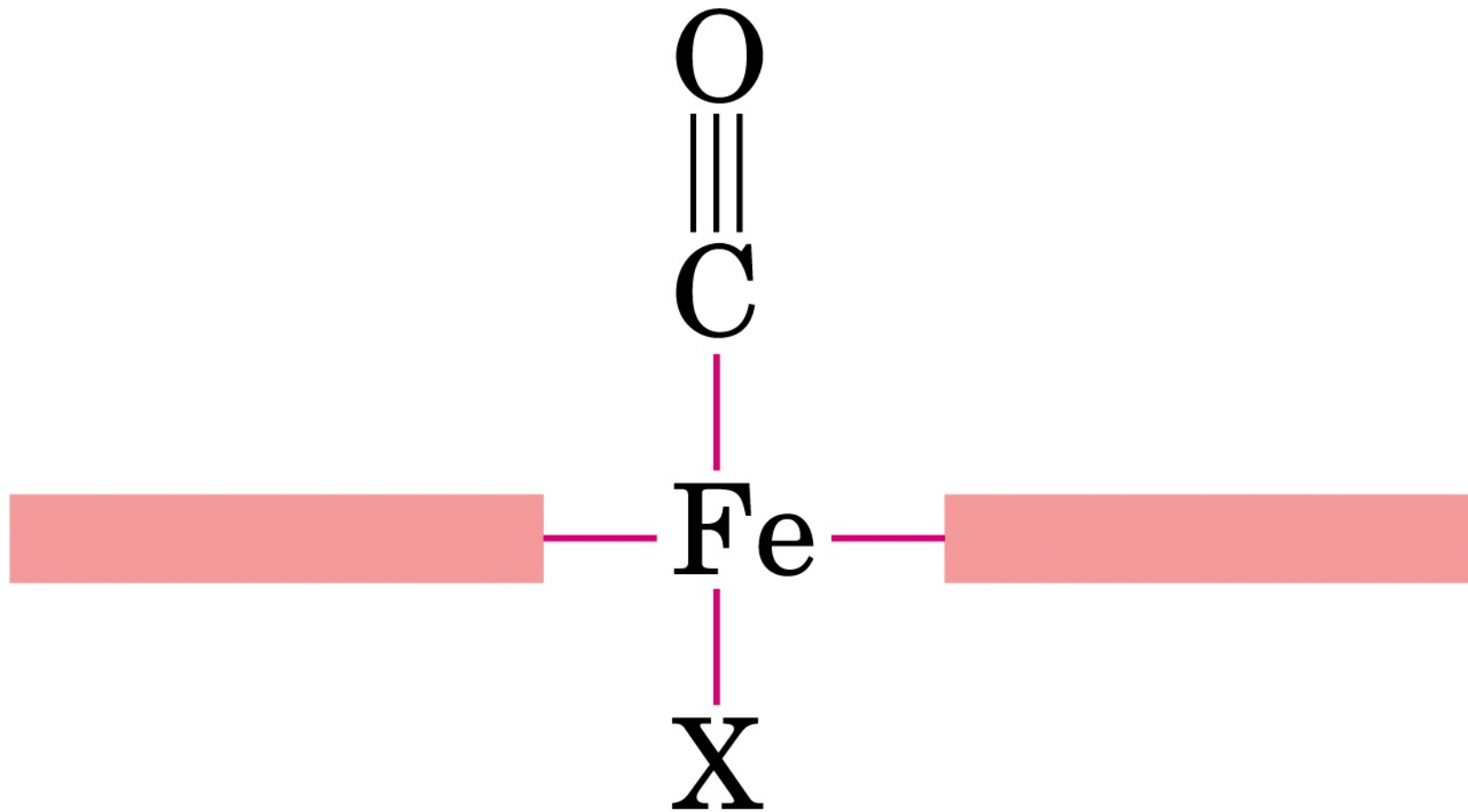


(a)



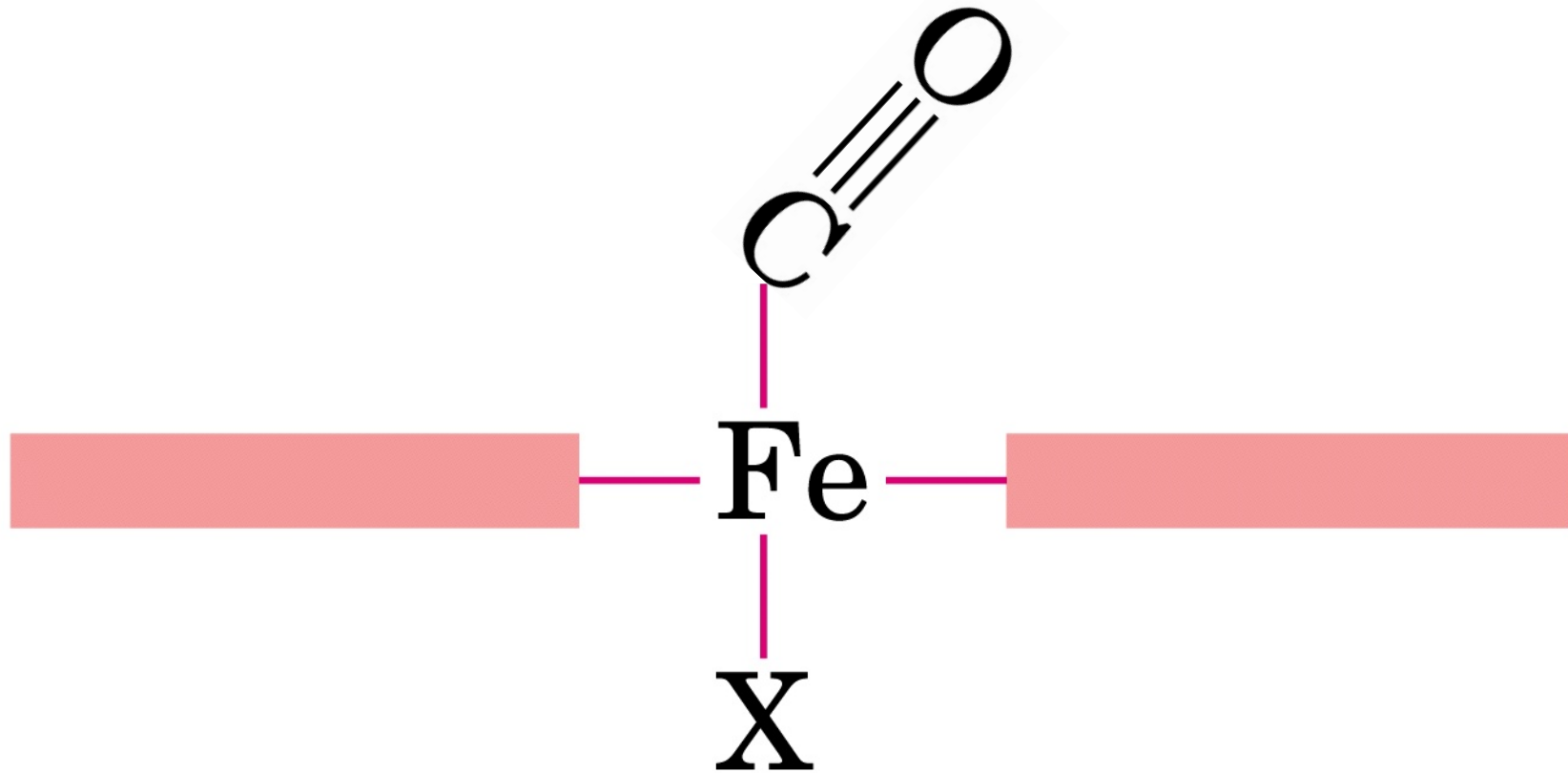
(b)





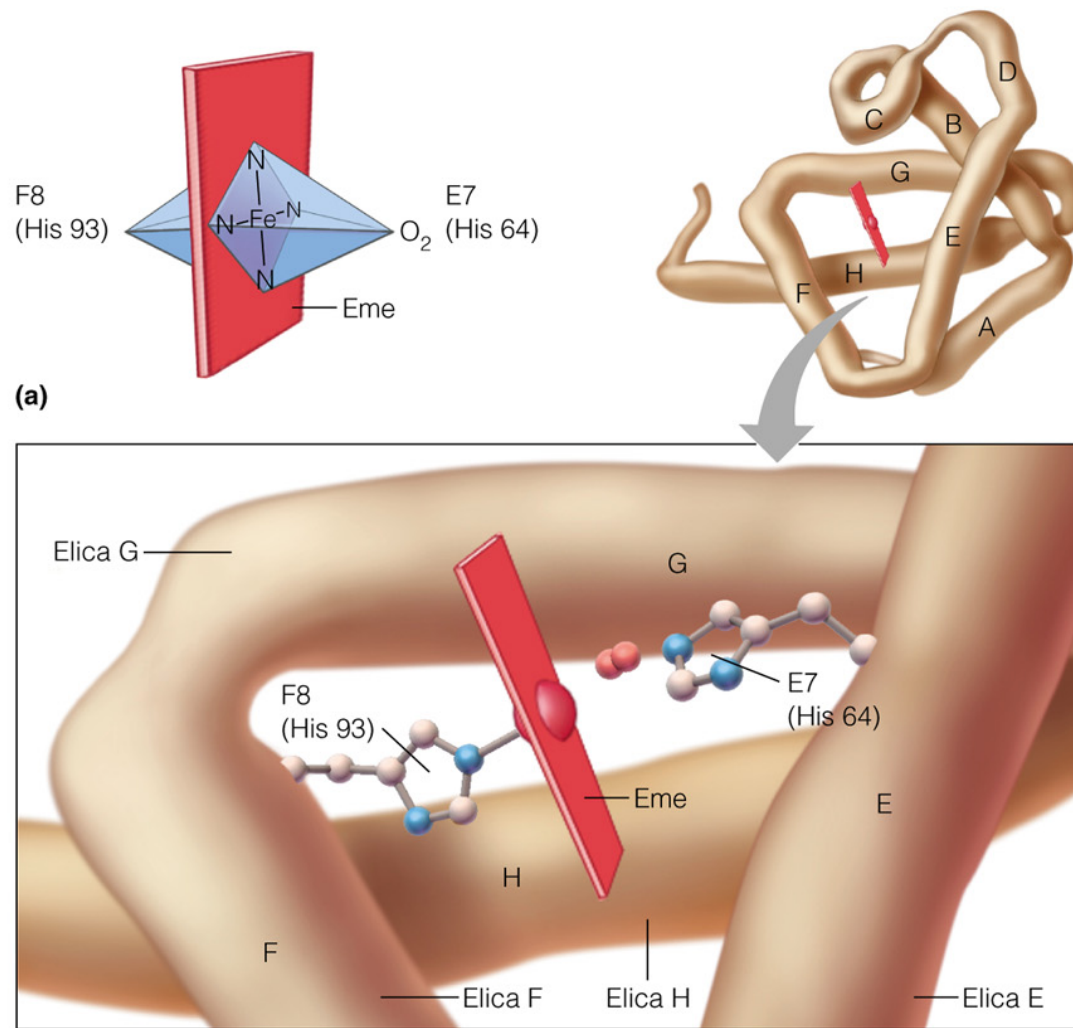
Legame del CO al gruppo eme, separato dalla proteina globinica, in soluzione

L'affinità di legame dell'eme libero per il CO è 20000 volte maggiore rispetto a quella per l'O₂

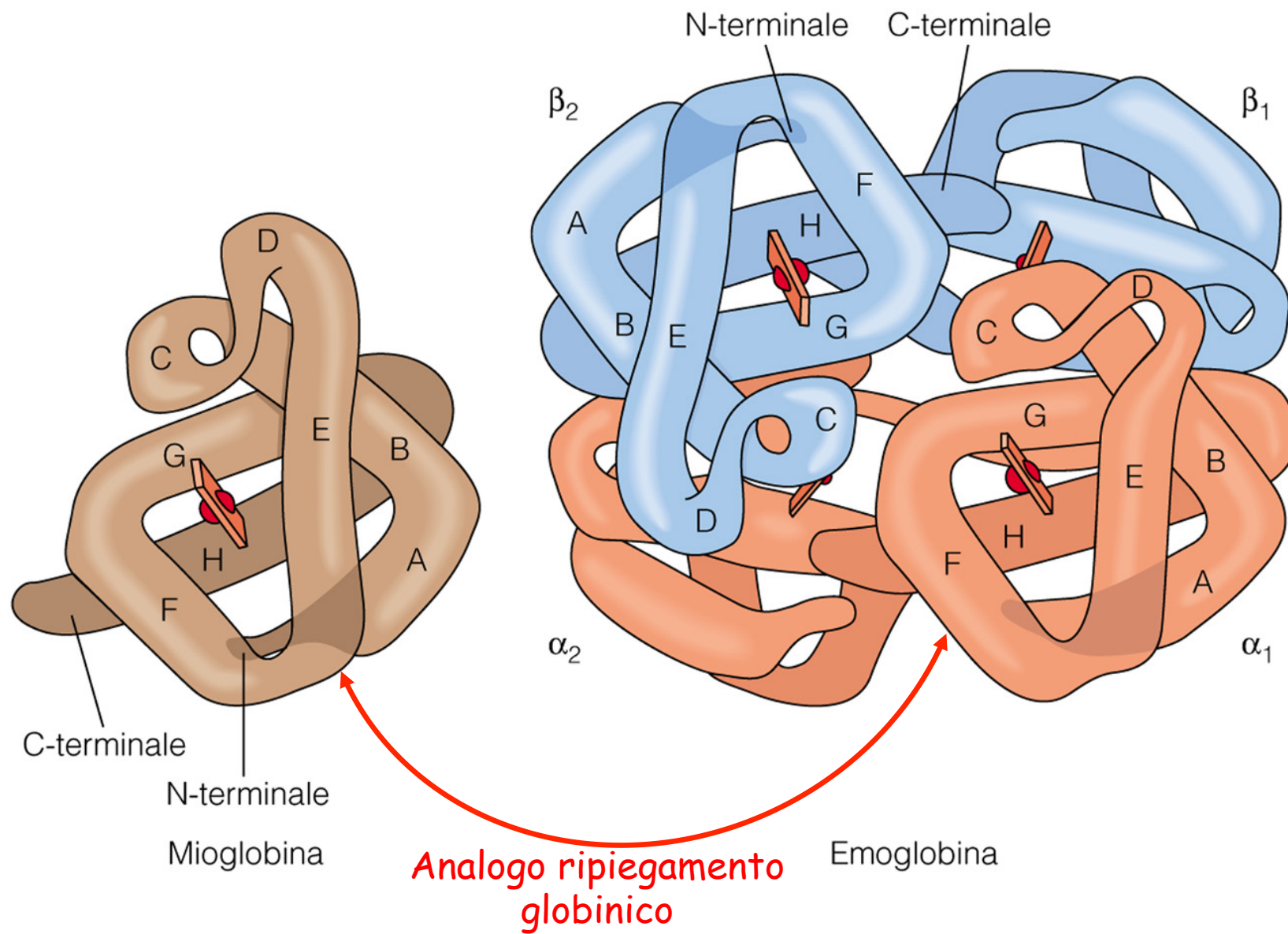


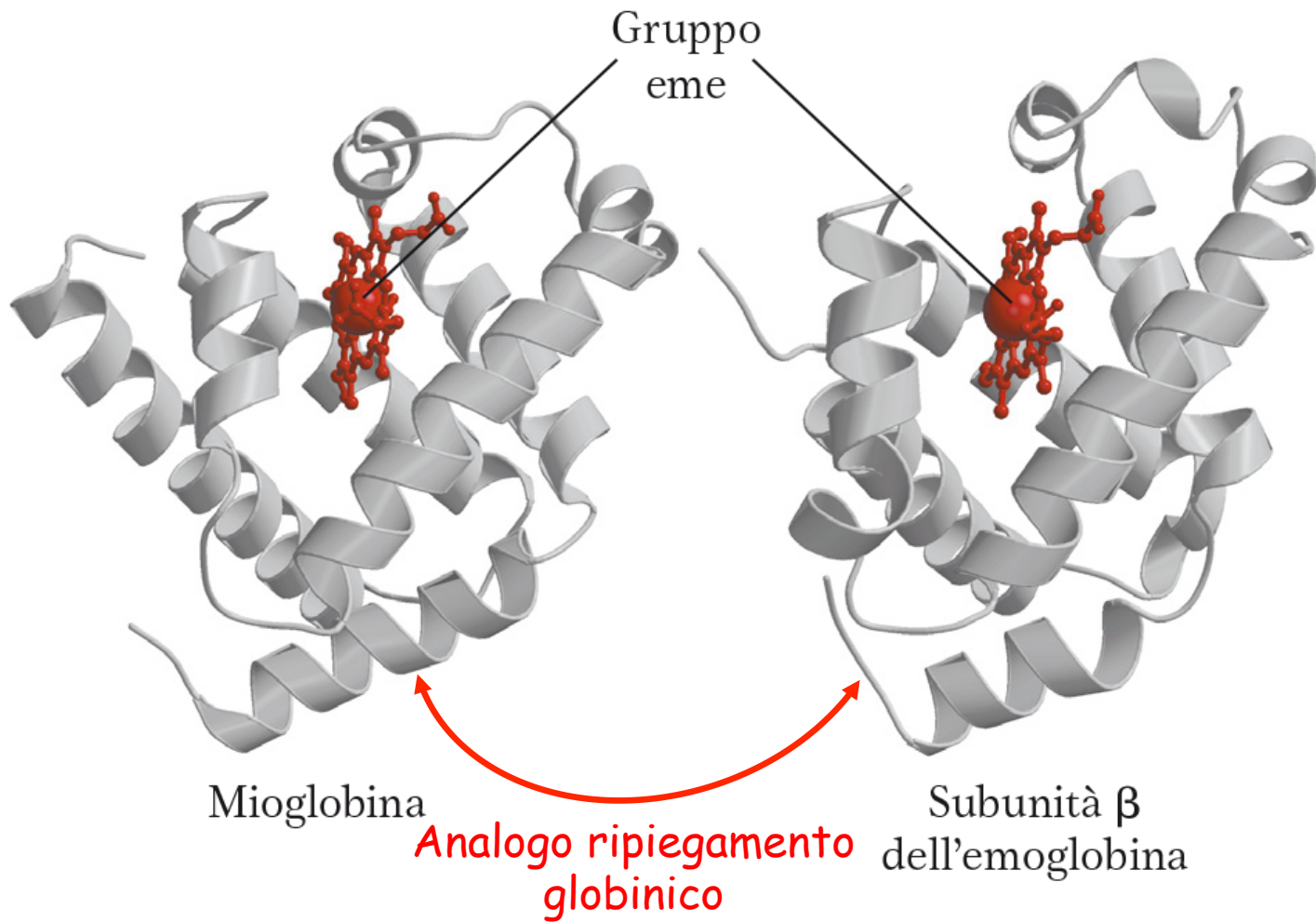
Legame del CO al gruppo eme, inserito nella proteina globinica.

L'affinità di legame dell'eme libero per il CO è solo 40 volte maggiore rispetto a quella per l'O₂ nella mioglobina, mentre è 250 volte maggiore rispetto a quella per l'O₂ nella emoglobina



(b) Istidina distale E7 (His⁶⁴) crea un impedimento sterico per cui il CO non si può legare con un legame lineare, ma si lega con un legame ad angolo, mentre non crea alcun impedimento al legame ad angolo con O₂, anzi lo stabilizza con un legame H



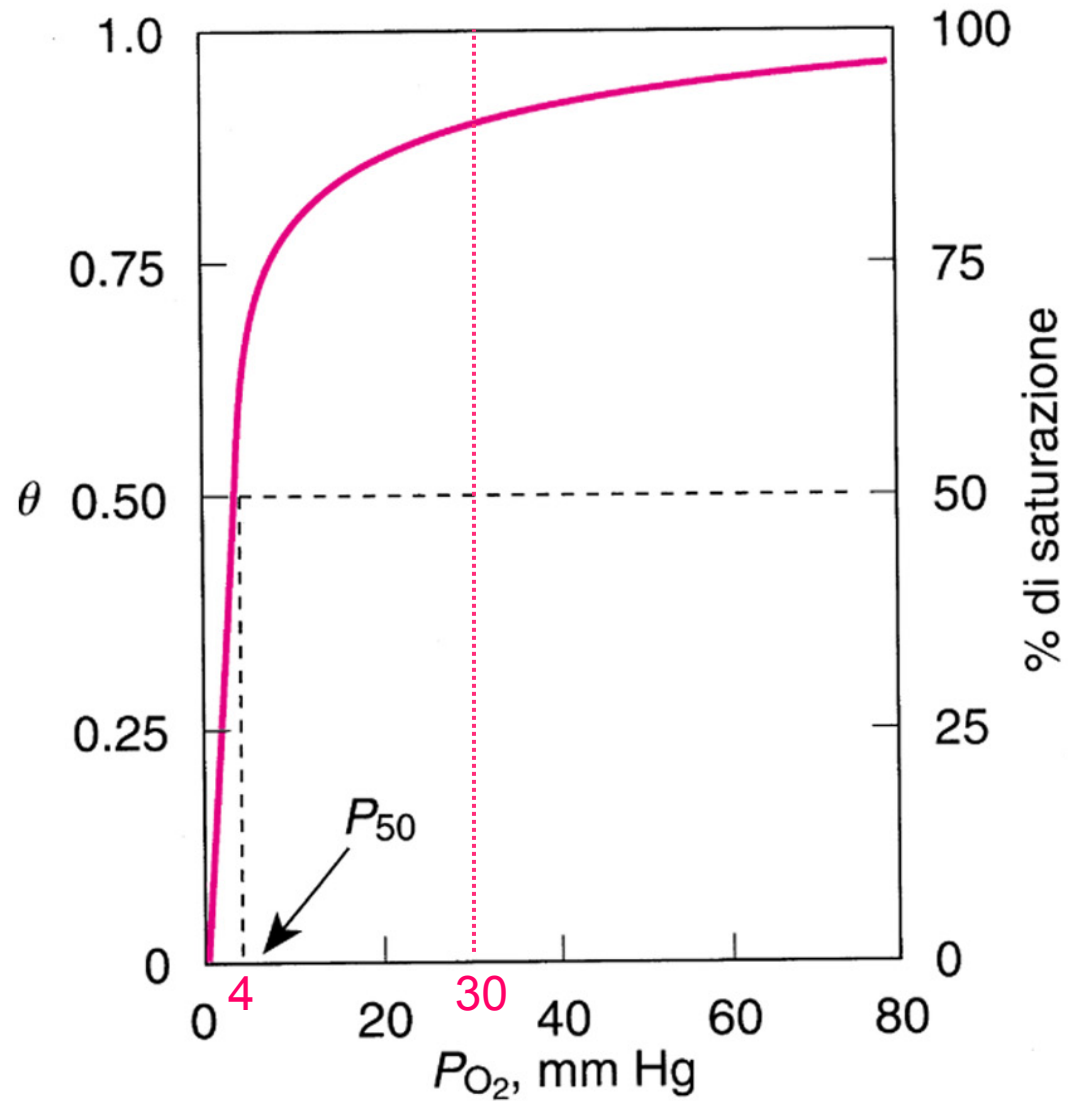


HB β 146 aa
 HB α 141 aa
 Mb 153 aa

Circa il 17% dei residui sono conservati

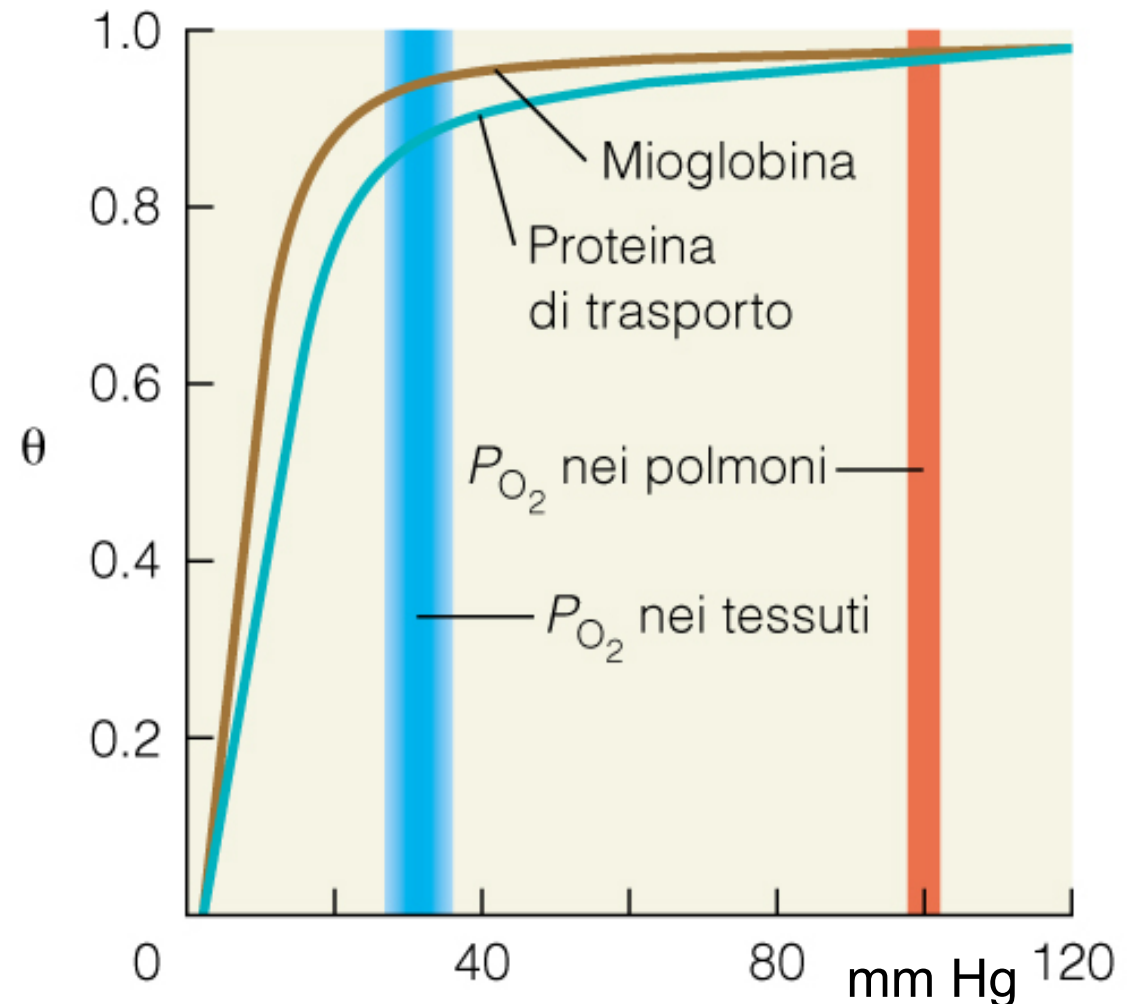
	Mb Hb β	Mb Hb α	Mb Hb β
1	VVV	EP-	YNN
	-H-	AD-	LFF
	LLL	EA-	ERK
	STS	MV-	FLL
	EPP	KM-	ILL
	GEA	AGG	SGS
	EED	SNS	ENH
	WKK	EPA	AVC
	QST	DKQ	ILL
	LAN	LVV	IVL
	VVV	KKK	HCV
	LTK	KAG	VVT
	HAA	HHH E7	LLL
	VLA	GGG	HAA
	WWW	VKK	SHA
	AGG	TKK	RHH
	KKK	VVV	120 HFL
	VVV	LLA	PGP
	E-G	TGD	GKA
	A-A	AAA	DEE
	DNH	LFL	FFF
	VVA	GST	GTT
	ADG	ADN	APP
	GEE	IGA	DPA
	HVY	LLV	AVV
	GGG	KAA	QQH
	QGA	KHH	GAA
	DEE	80 KLV	AAS
	IAA	GDD	MYL
	LLL	HND	NQD
	IGG	HLM	KKK
	RRR	EKP	AVF
	LLM	AGN	LVL
	FLF	ETA	EAA
	KVL	LFL	LGS
	SVS	KAS	FVV
	HYF	PTA	RAS
	PPP	LLL	KNT
	EWT	ASS	DAV
40	TTT	QED	ILL
	LQK	STL	AAT
	ERT	HHH F8	AHS
	KFY	ACA	KKK
	FFF	TDH	YYY
	DEP	KKK	KHR
	RSH	HLL	E
	FFF	KHR	L
	KG-	IVV FG5	G
	HDD	PDD	Y
	LLL	IPP	Q
	KSS	KEV	154 G
	TTH		

$$\theta = \frac{\text{siti occupati}}{\text{siti disponibili totali}}$$



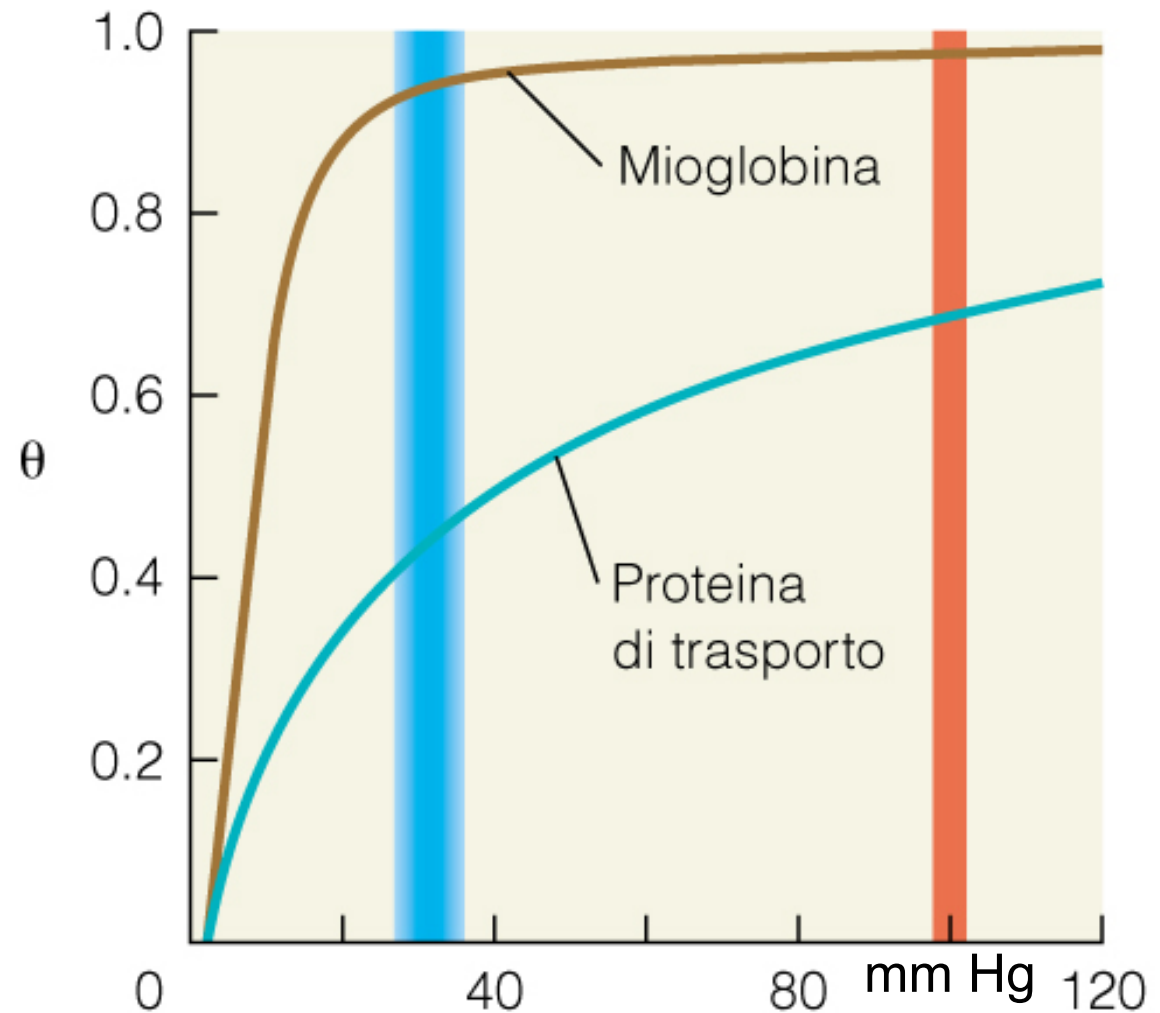
Curva di legame dell'ossigeno per la mioglobina

$$\theta = \frac{\text{siti occupati}}{\text{siti disponibili totali}}$$



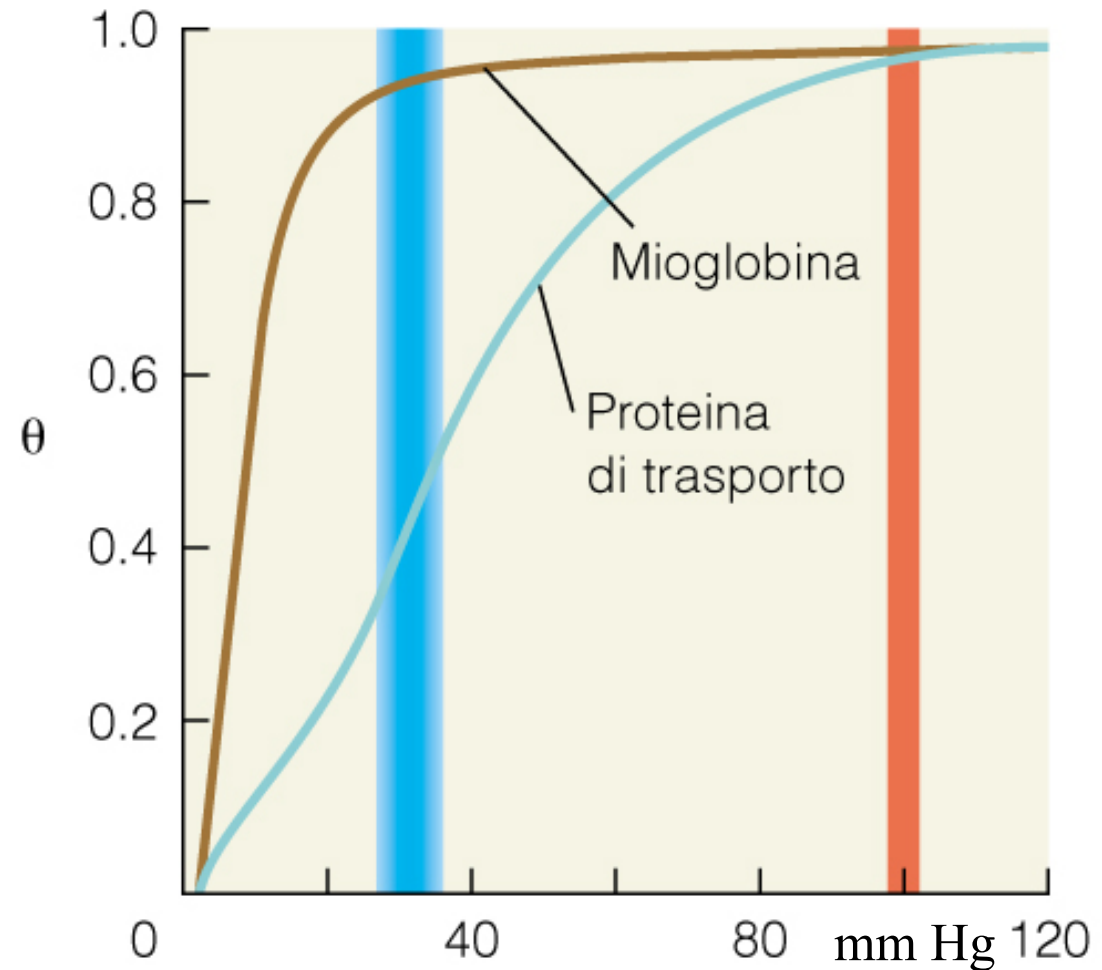
(a) Proteina di trasporto efficiente nel legame ma inefficiente nel rilascio

$$\theta = \frac{\text{siti occupati}}{\text{siti disponibili totali}}$$



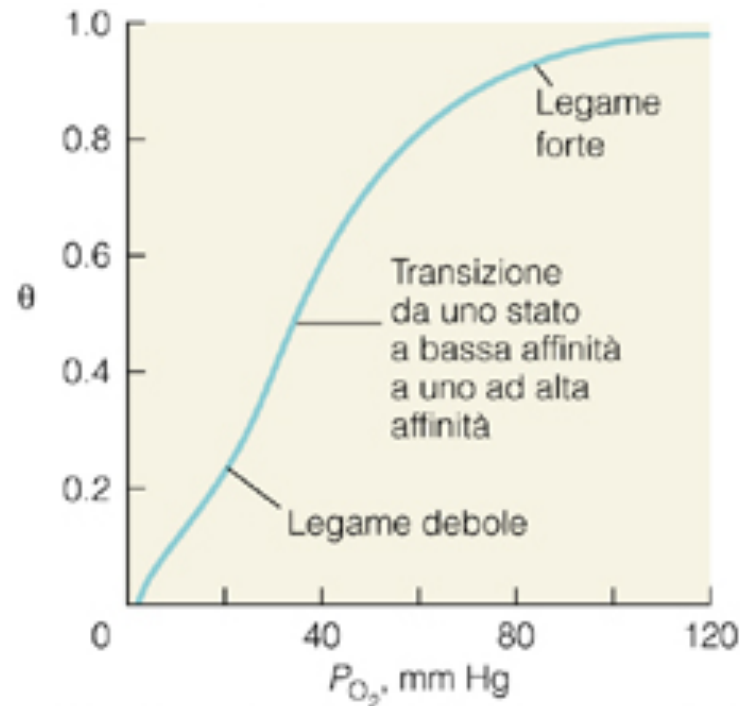
(b) Proteina di trasporto efficiente nel rilascio ma inefficiente nel legame

$$\theta = \frac{\text{siti occupati}}{\text{siti disponibili totali}}$$



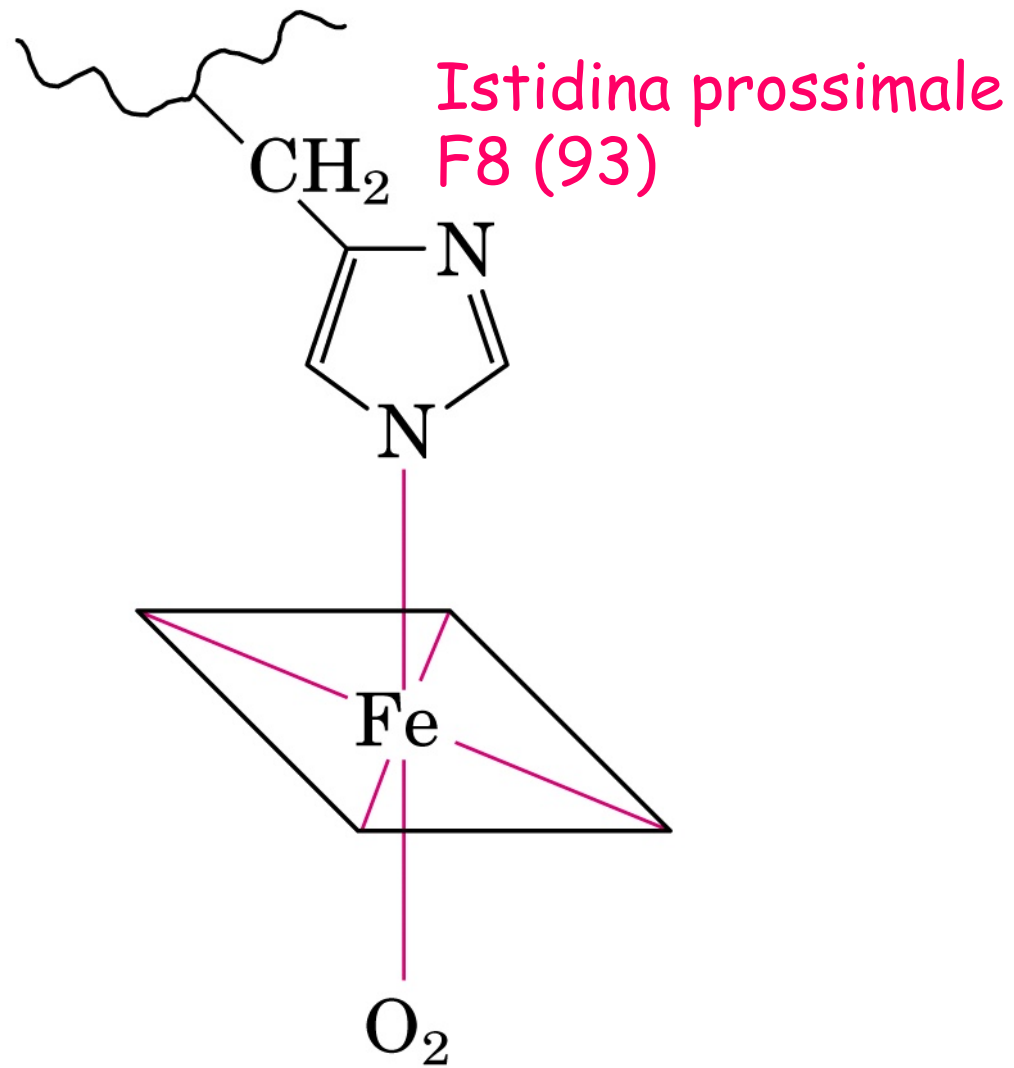
(c) Proteina di trasporto efficiente sia nel legame sia nel rilascio

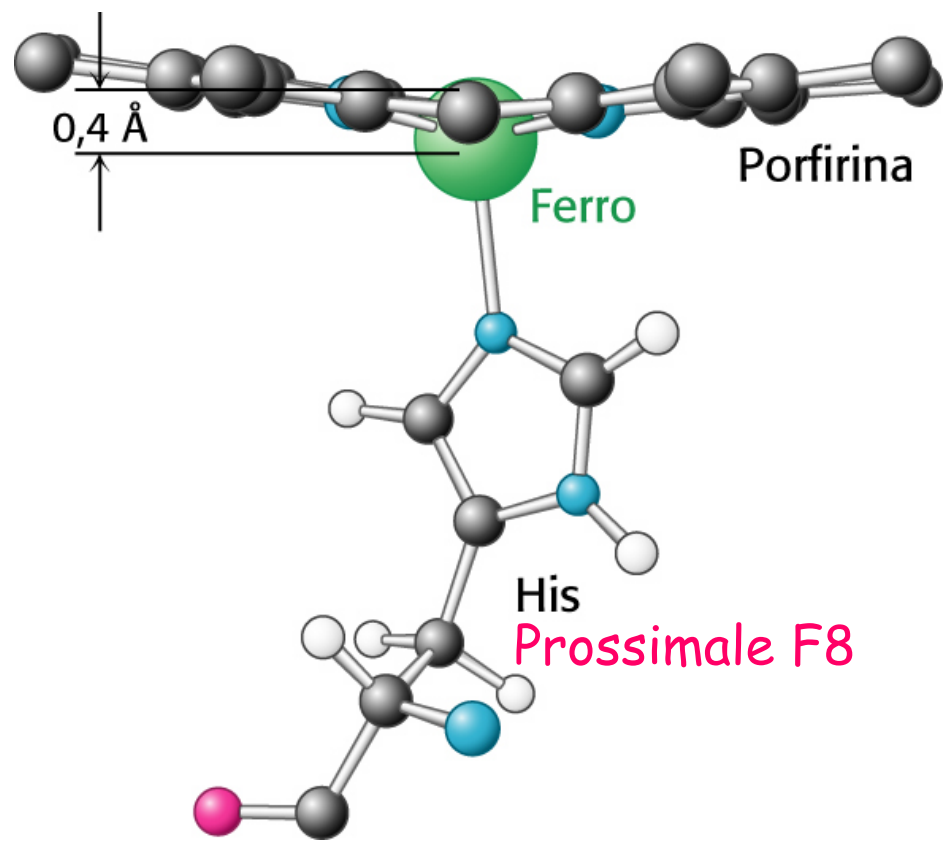
$$\theta = \frac{\text{siti occupati}}{\text{siti disponibili totali}}$$

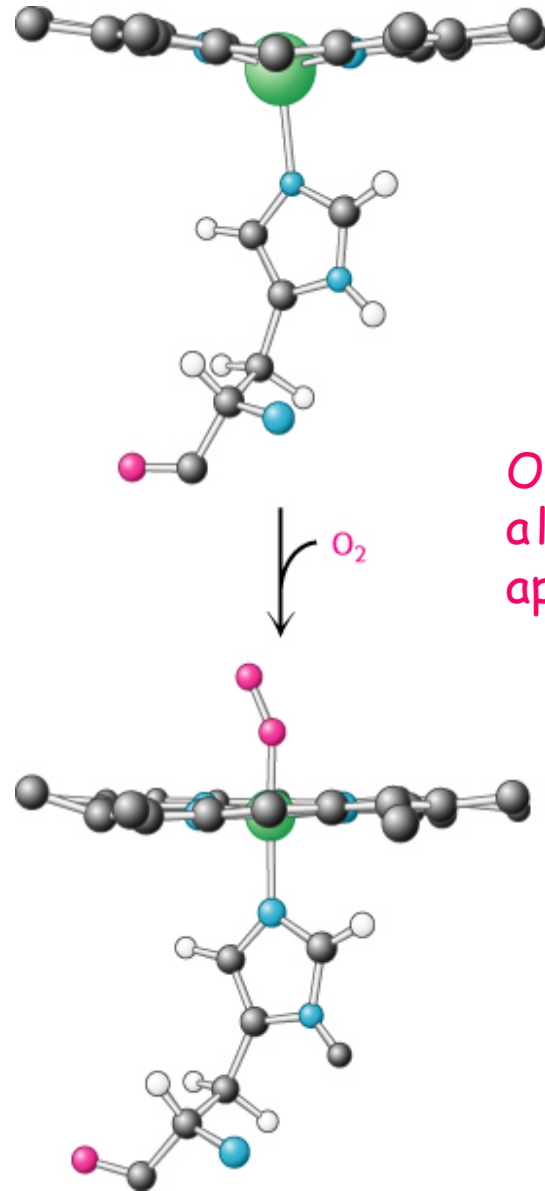


(d) La transizione tra gli stati di legame debole e forte spiega la curva sigmoide

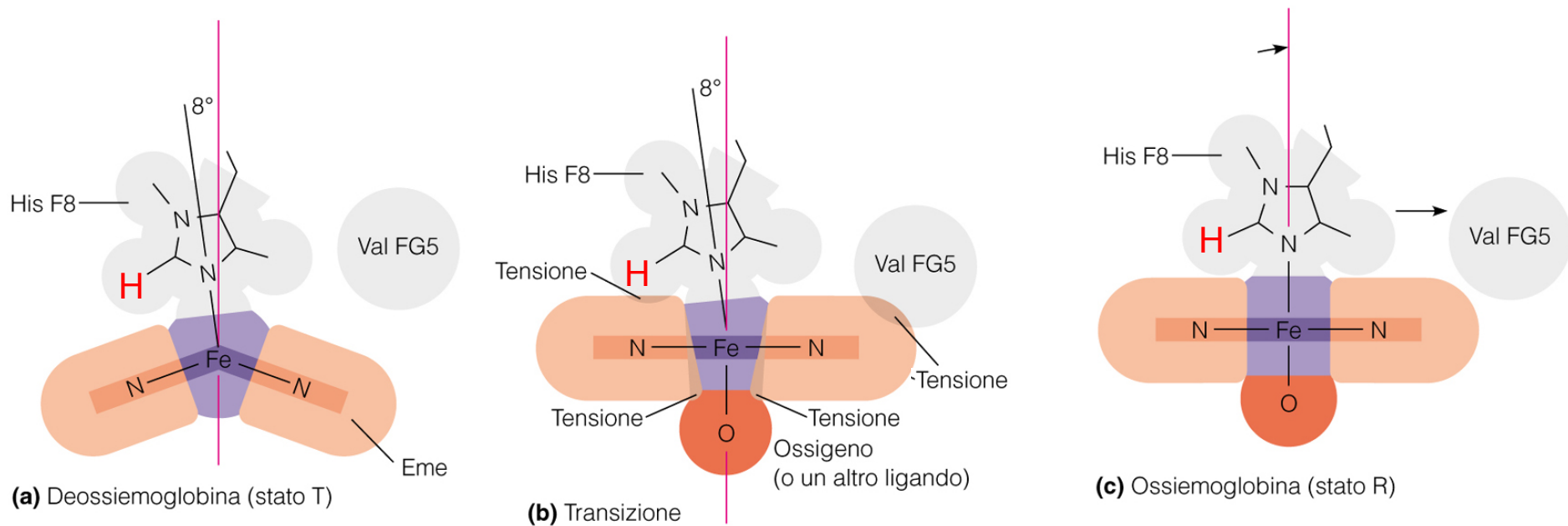
La curva di legame dell'ossigeno **sigmoide** implica che esiste una **interazione cooperativa** tra i siti di legame per l'ossigeno nella emoglobina. Per capire ciò è necessario rivedere il legame dell'ossigeno al Fe²⁺ dell'anello porfirinico



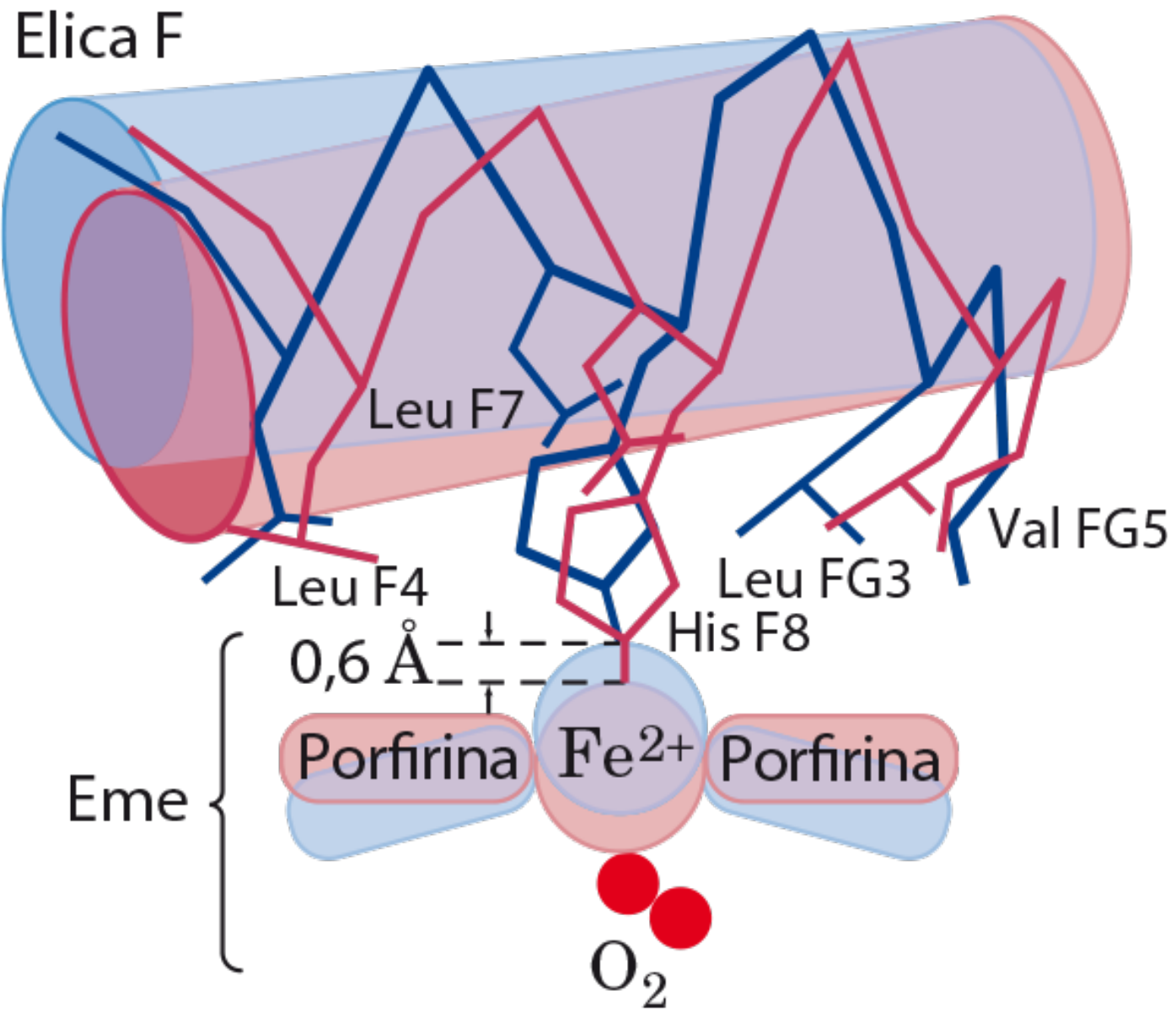


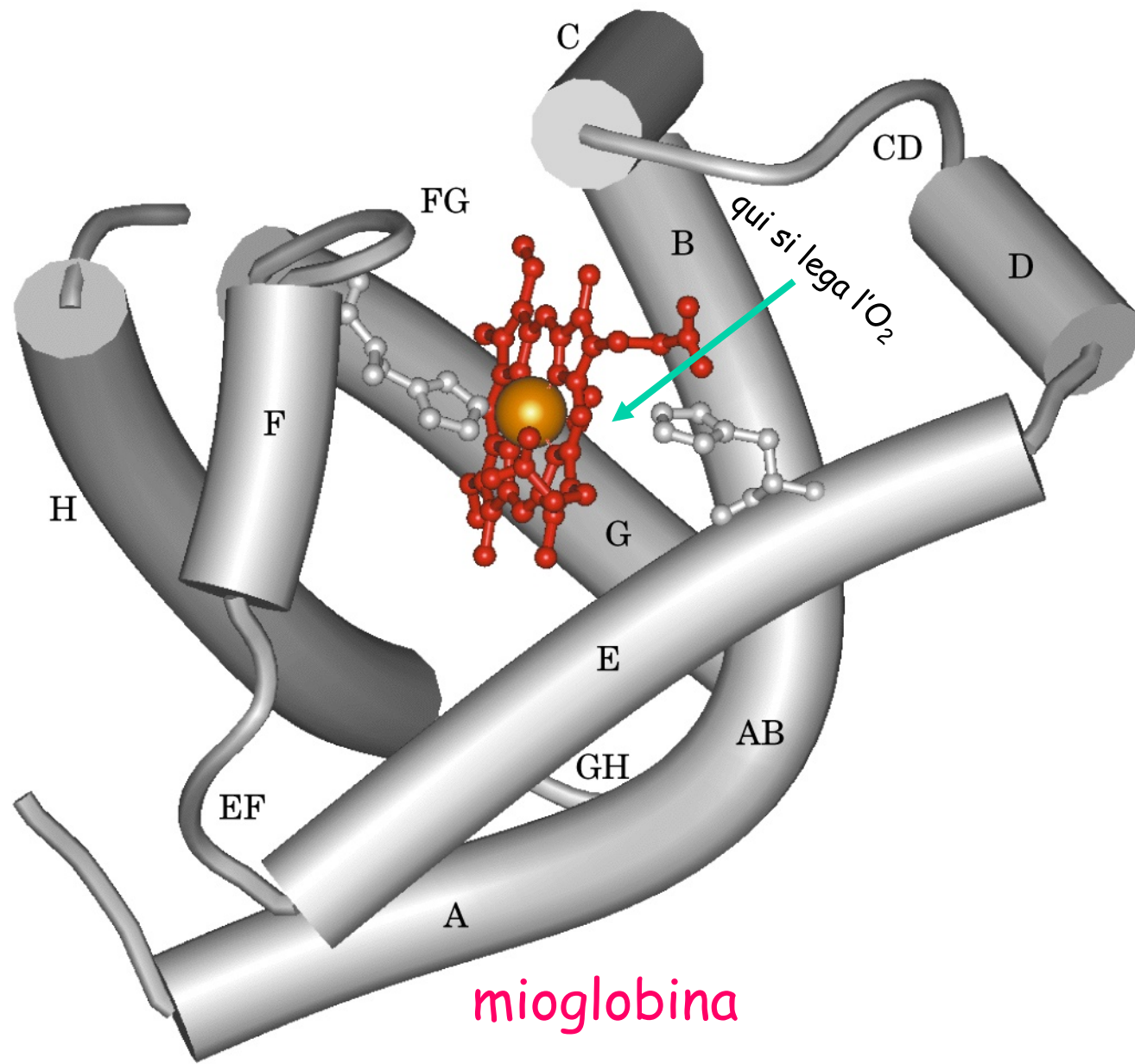


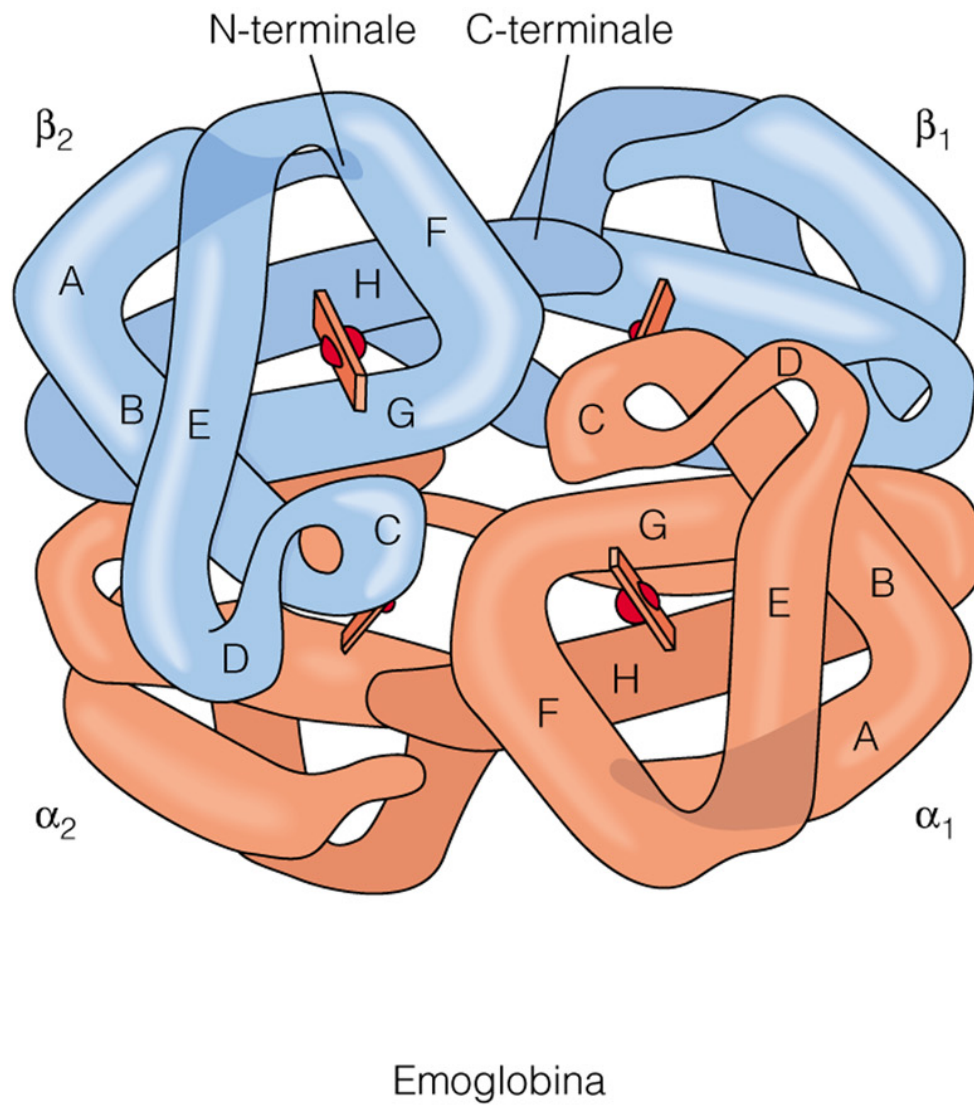
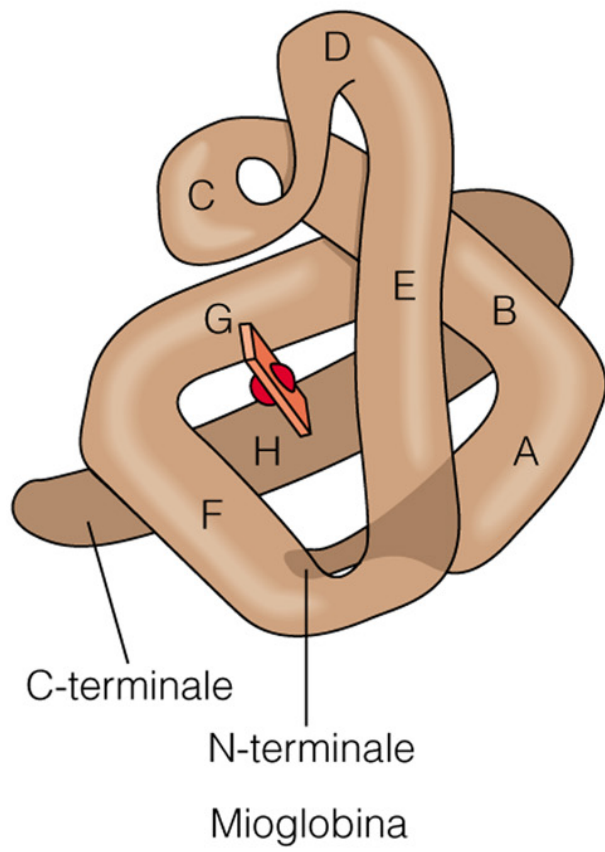
O_2 legandosi al Fe^{2+} lo trascina all'interno dell'eme che si appiattisce.

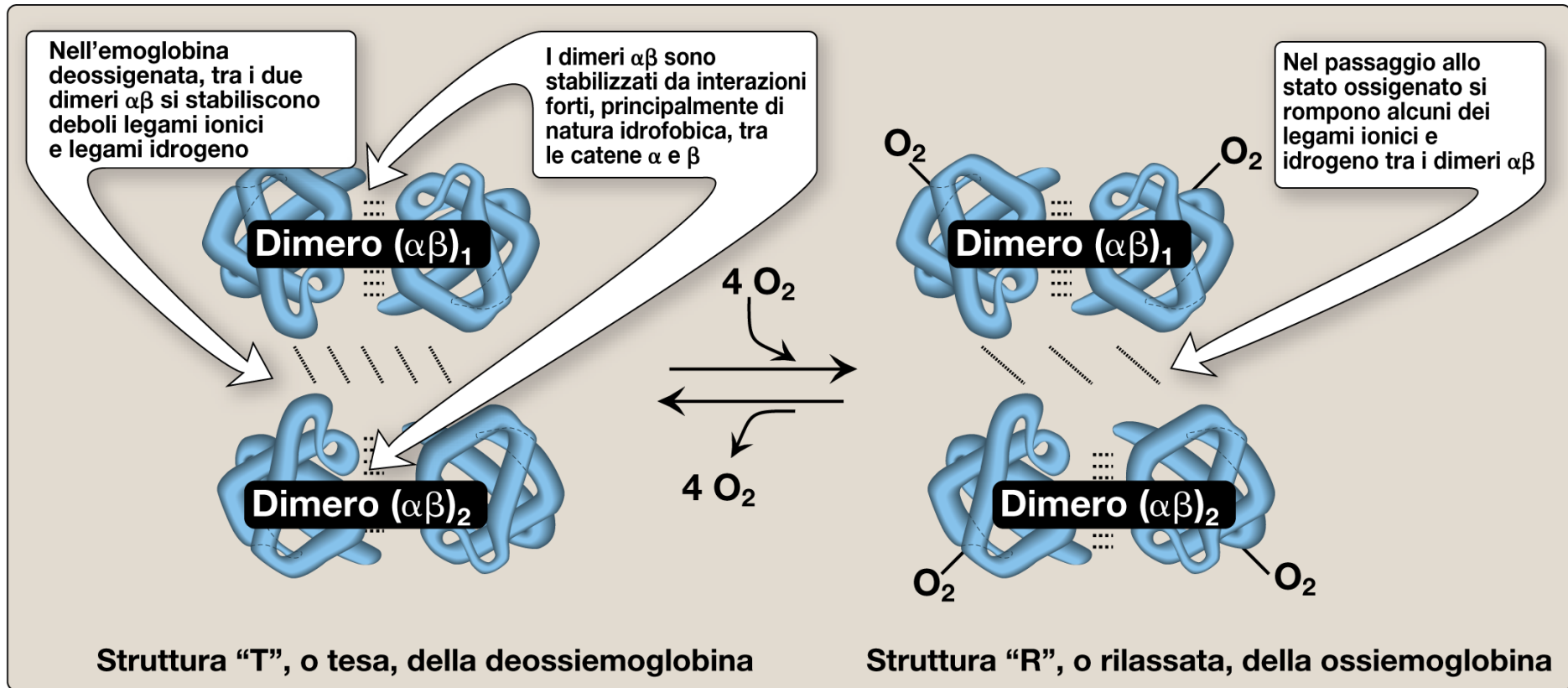


L'O₂ legandosi al Fe²⁺ lo trascina all'interno dell'eme che si appiattisce. Per allentare le tensioni generate, la catena laterale dell'His F8 si sposta diventando perpendicolare all'eme e di conseguenza si sposta l'elica F e la connessione FG. Ciò accade alla mioglobina (cambiamento della struttura terziaria) e alle singole subunità dell'emoglobina (cambiamento della struttura terziaria e della struttura quaternaria)



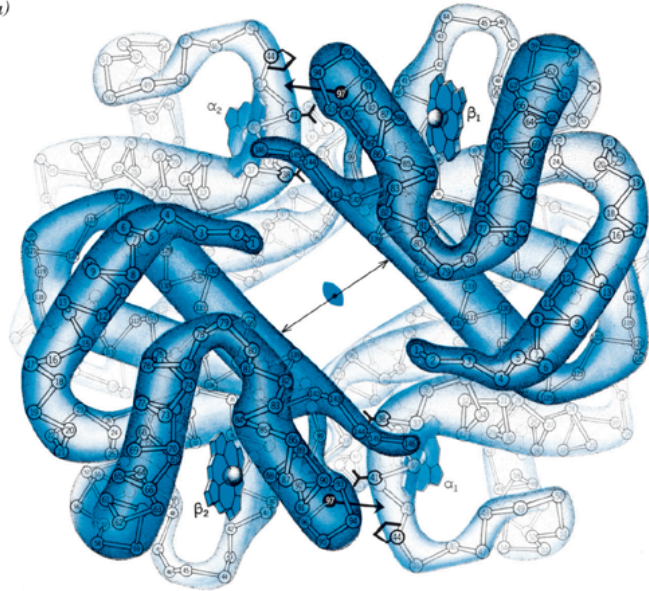




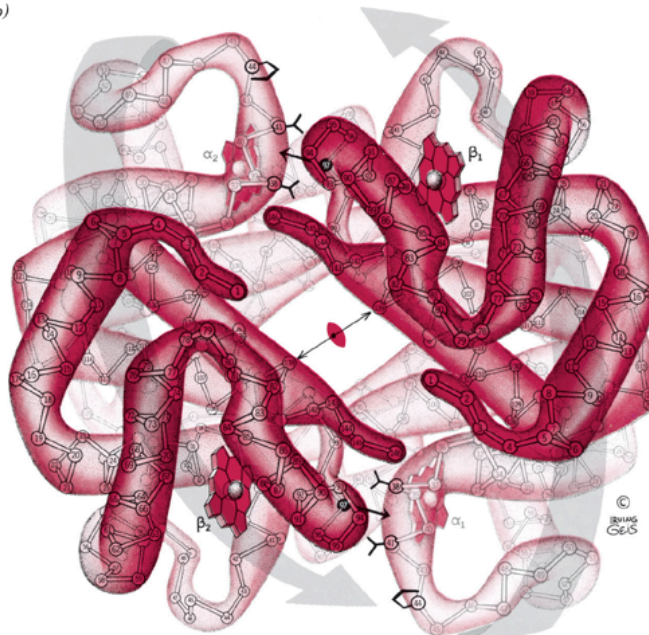


Due diverse strutture quaternarie dell'emoglobina

(a)

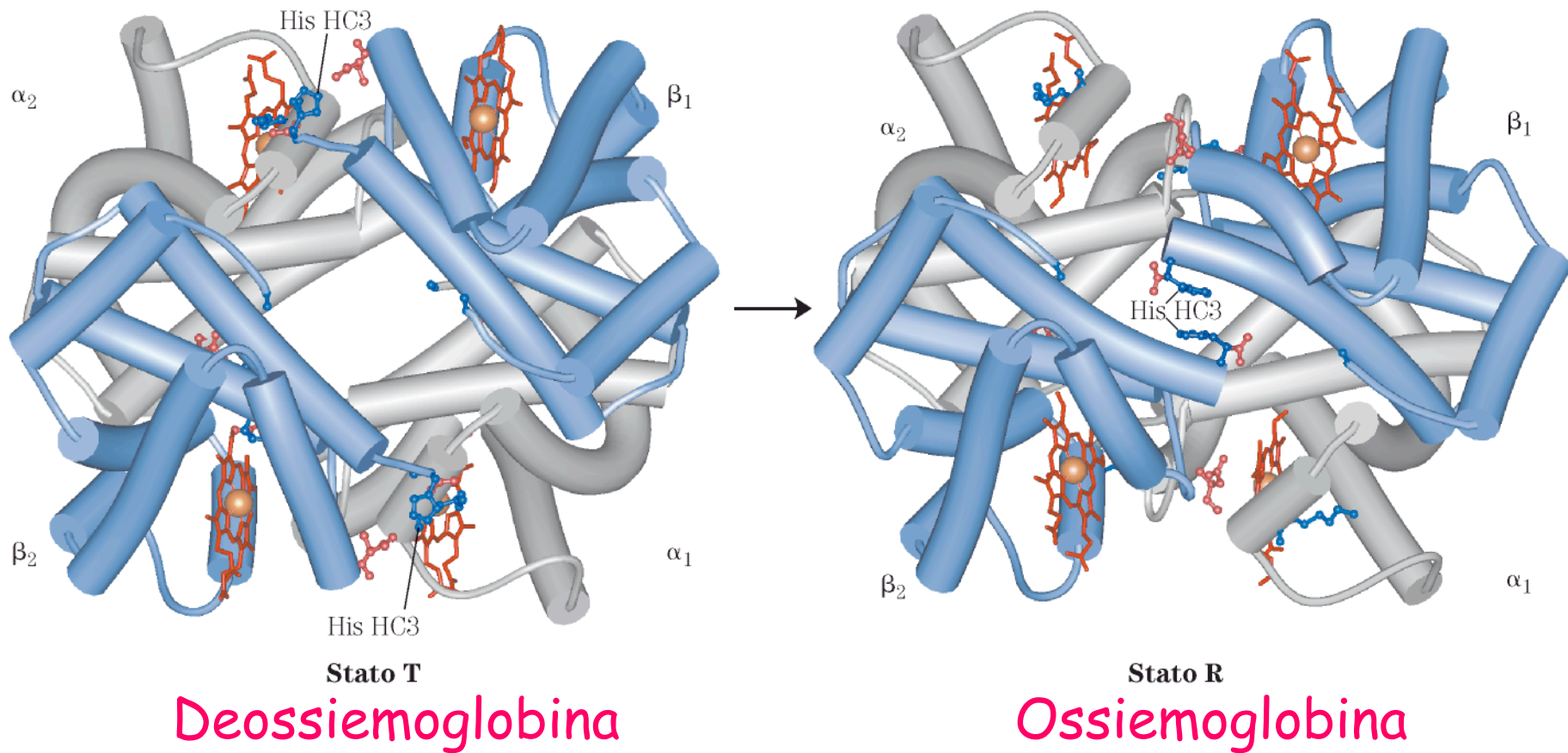


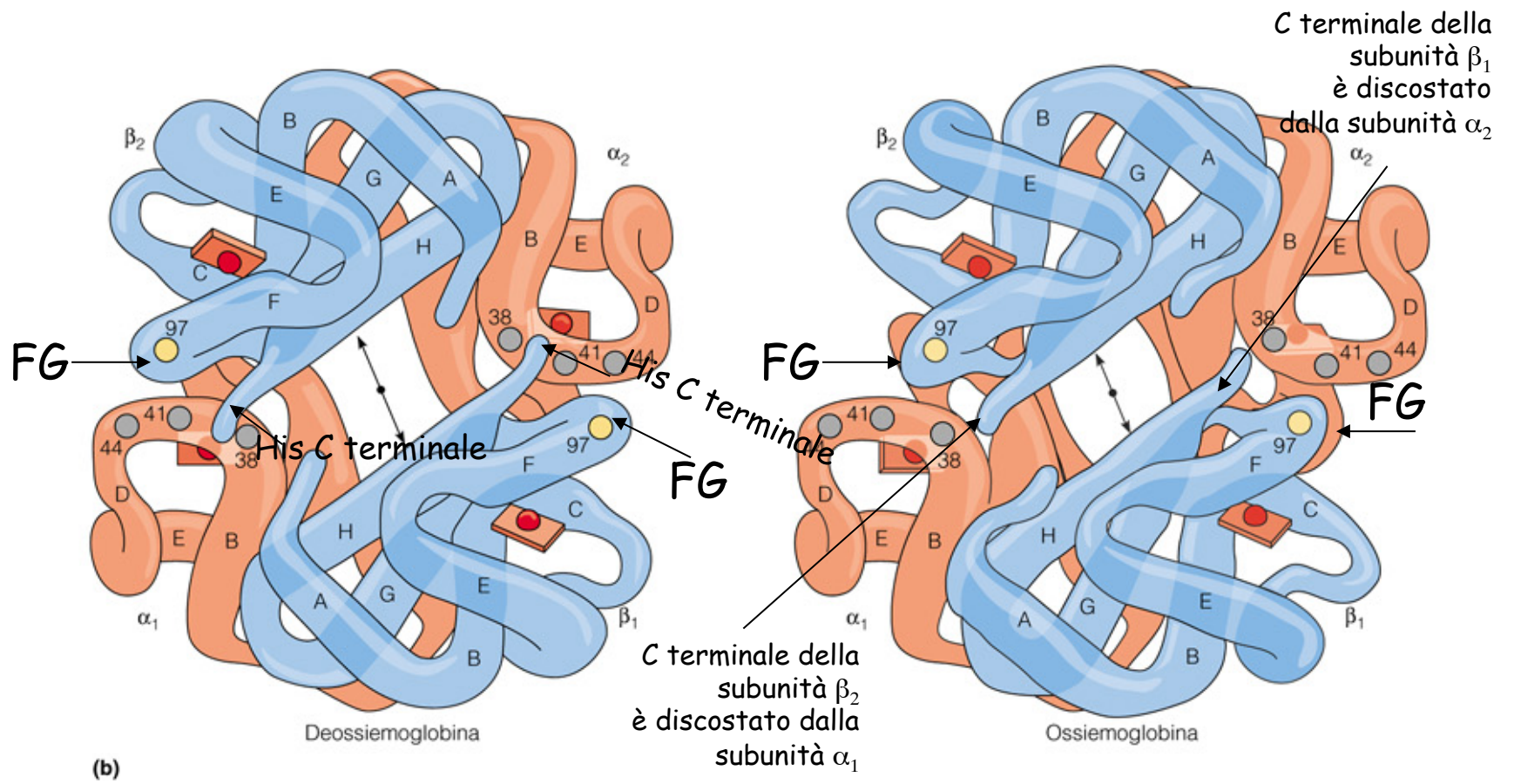
(b)

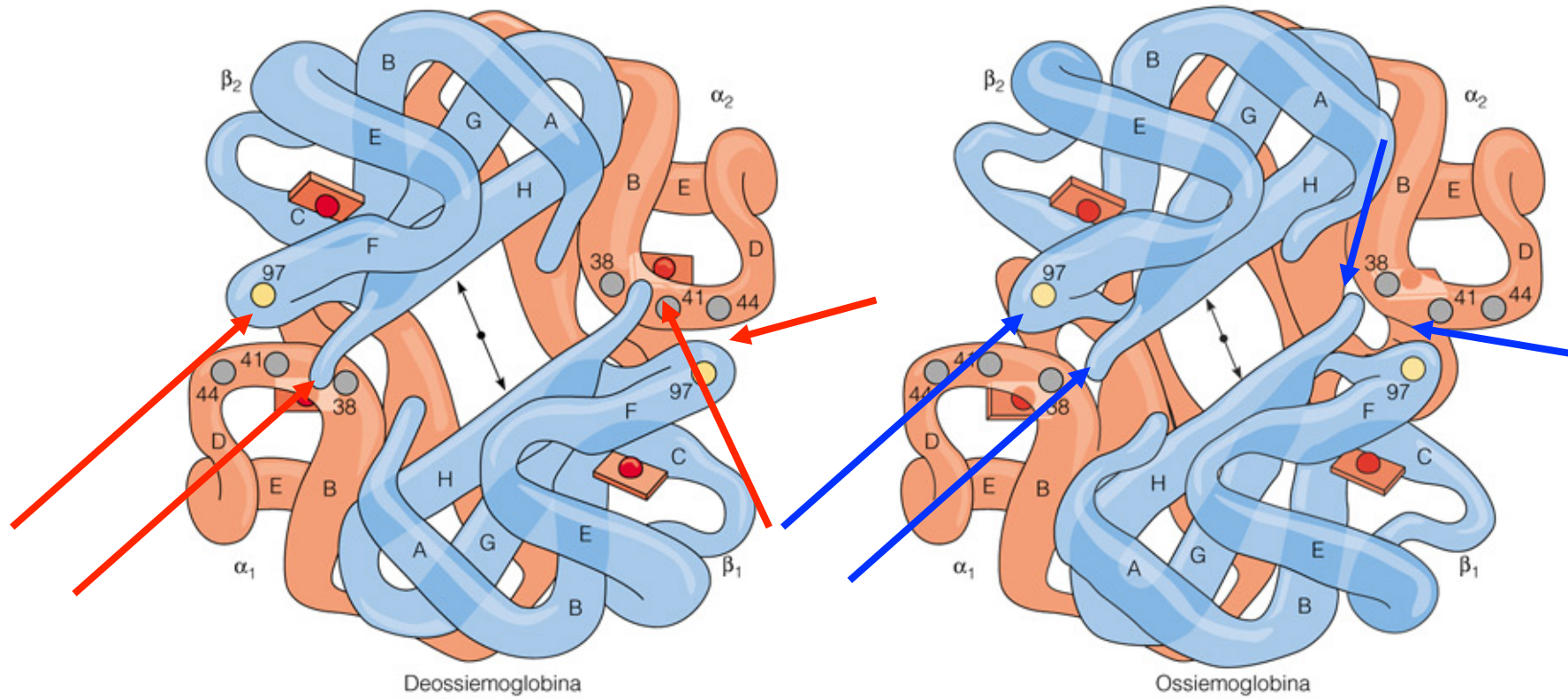


Variazioni conformazionali

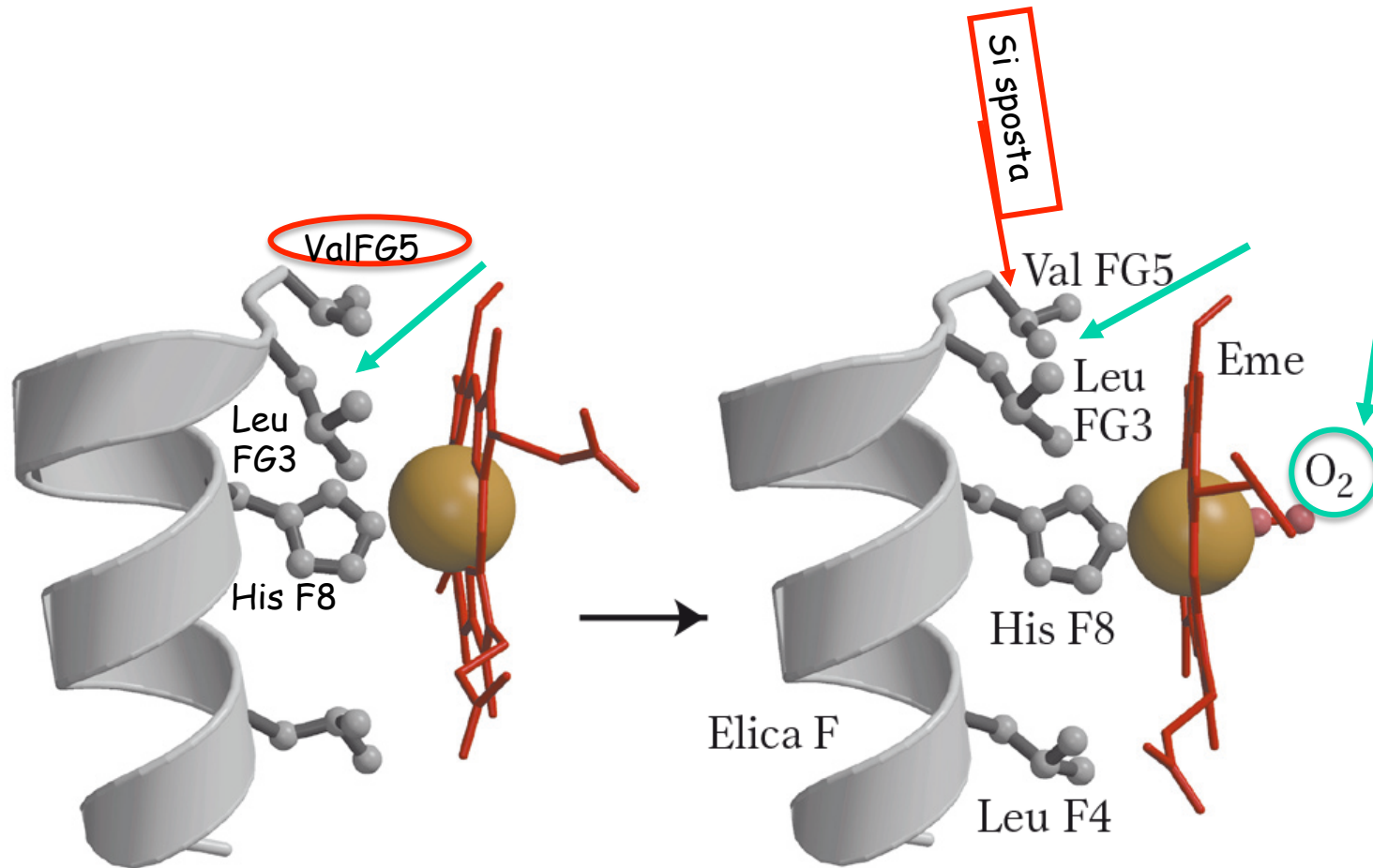
Rotazione e scivolamento di un dimero α/β sull'altro e la tasca tra le subunità β si restringe







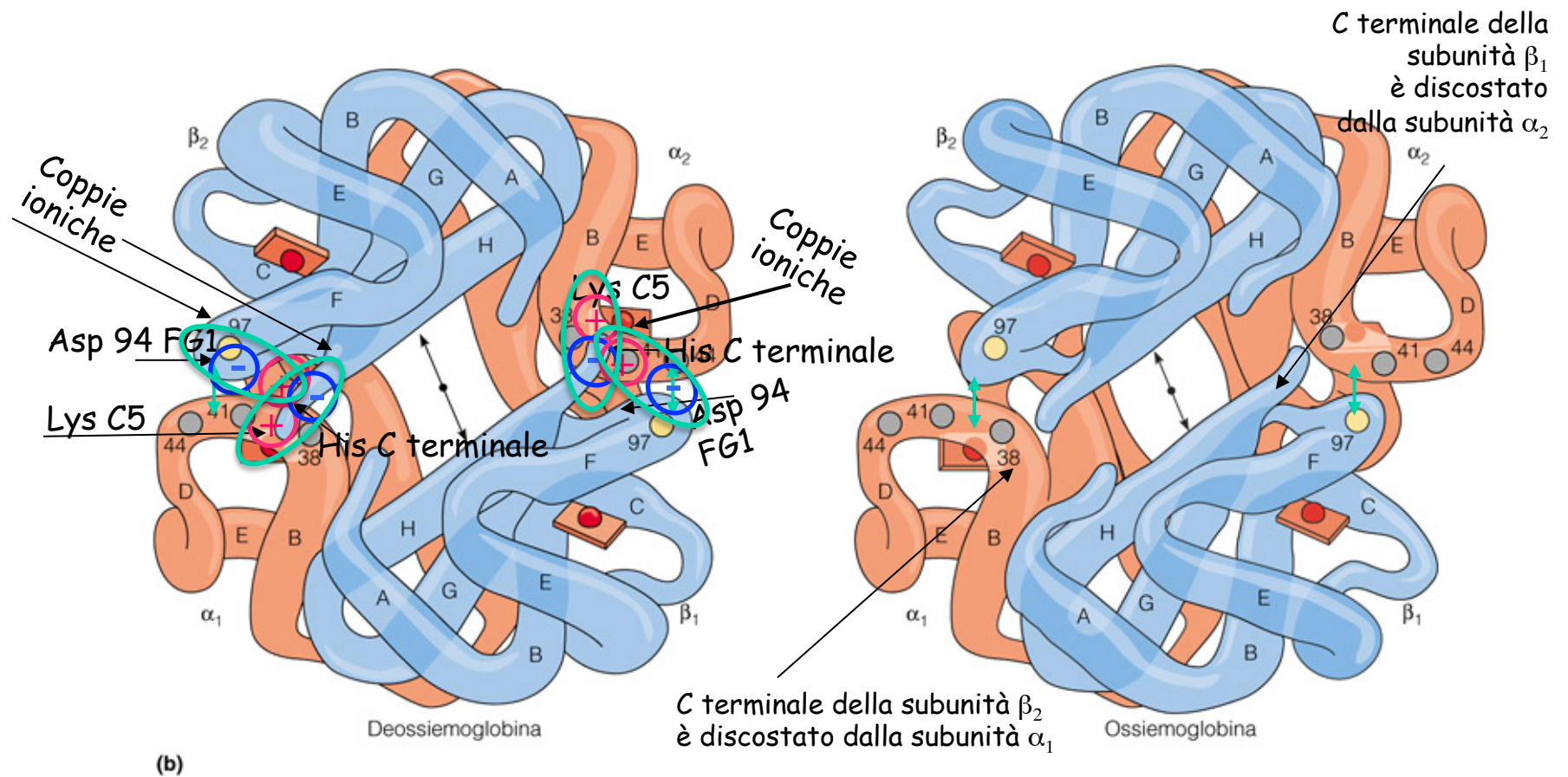
(b)



Deossiemo globina

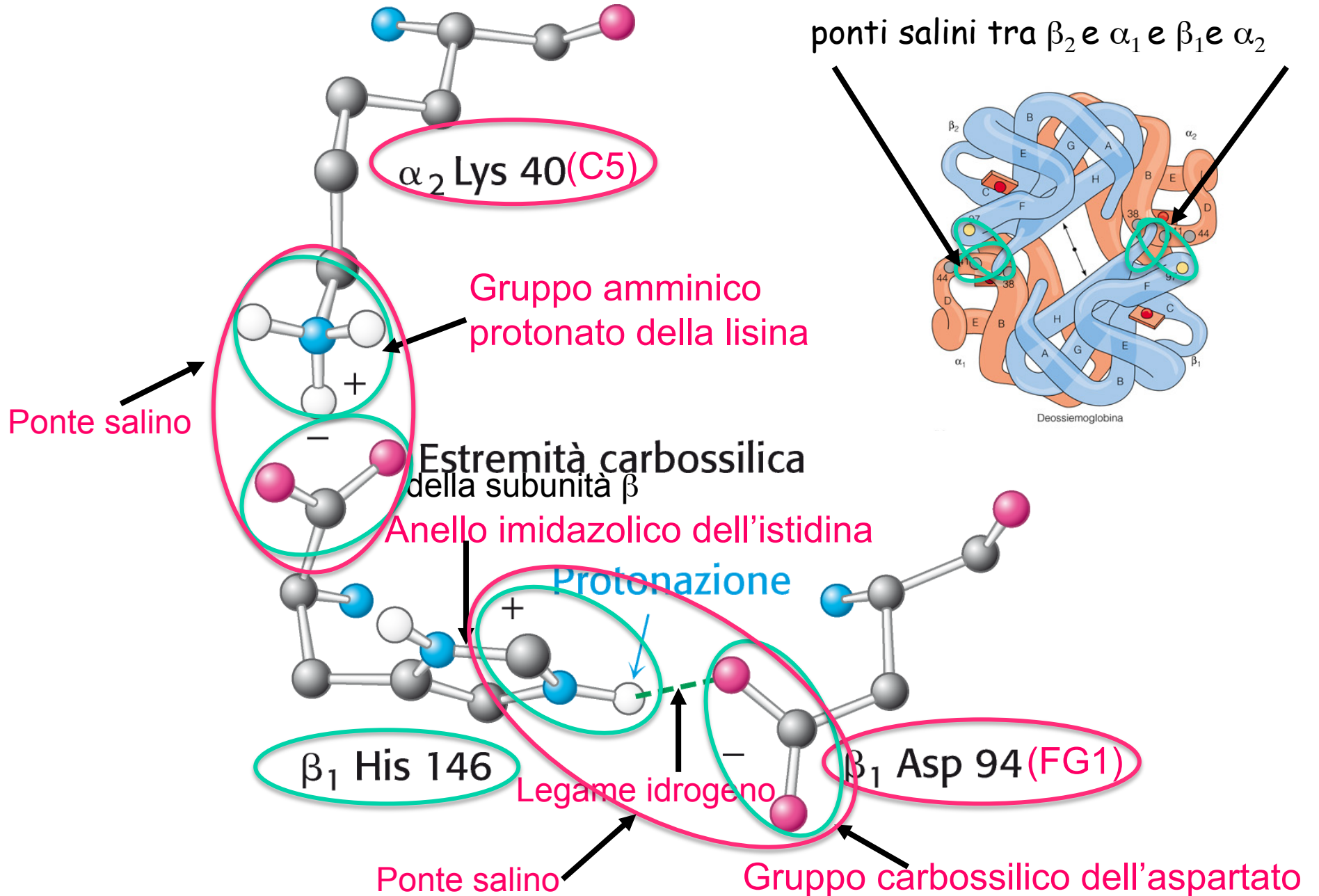
ossiemo globina

L'O₂ legandosi al Fe²⁺ lo trascina all'interno dell'eme che si appiattisce. Per allentare le tensioni generate, la catena laterale dell'His F8 si sposta diventando perpendicolare all'eme e di conseguenza si sposta l'elica F e la connessione FG e questo movimento a sua volta distorce ed indebolisce l'intero complesso si legami H e ponti salini che connette gli angoli FG di una subunità β con l'elica C della subunità α

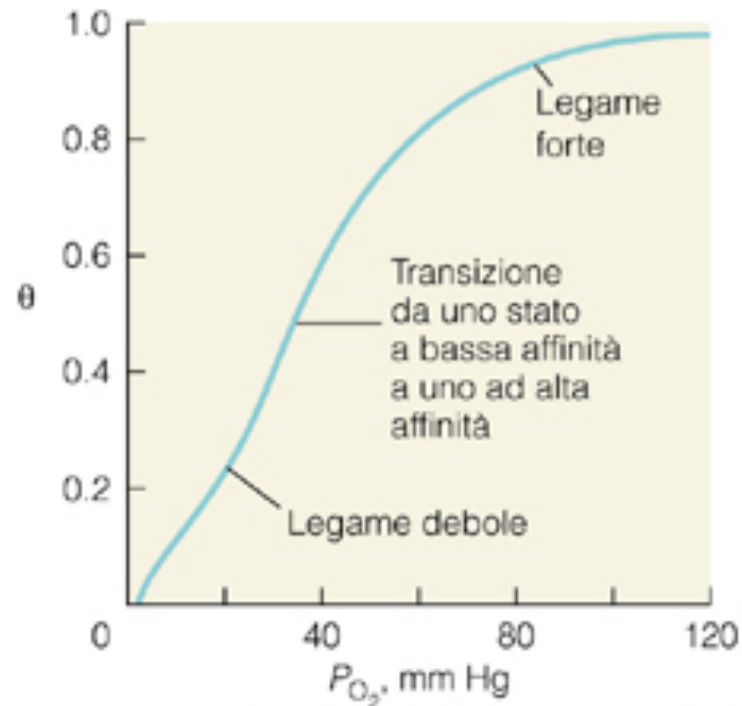


Nella Forma T: L' His 146 \oplus della subunità β protonata forma una coppia ionica con l' asp 94 (FG1) \ominus della connessione FG della stessa subunità β .
 Il gruppo carbossilico dissociato della stessa His 146 C-terminale \ominus della subunità β forma una coppia ionica con la Lys C5 \oplus della subunità α vicina.

ponti salini e legame idrogeno tra β_2 e α_1 e β_1 e α_2



$$\theta = \frac{\text{siti occupati}}{\text{siti disponibili totali}}$$

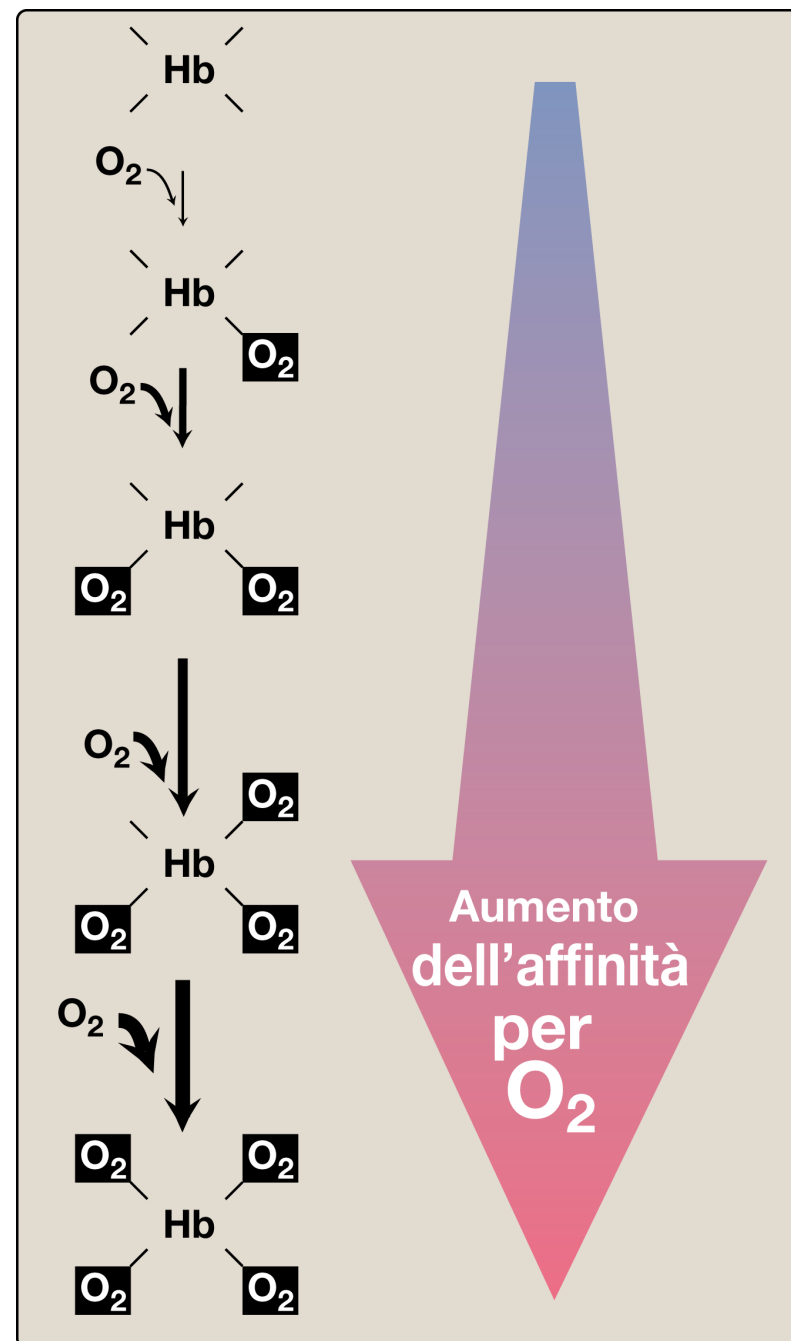


(d) La transizione tra gli stati di legame debole e forte spiega la curva sigmoide

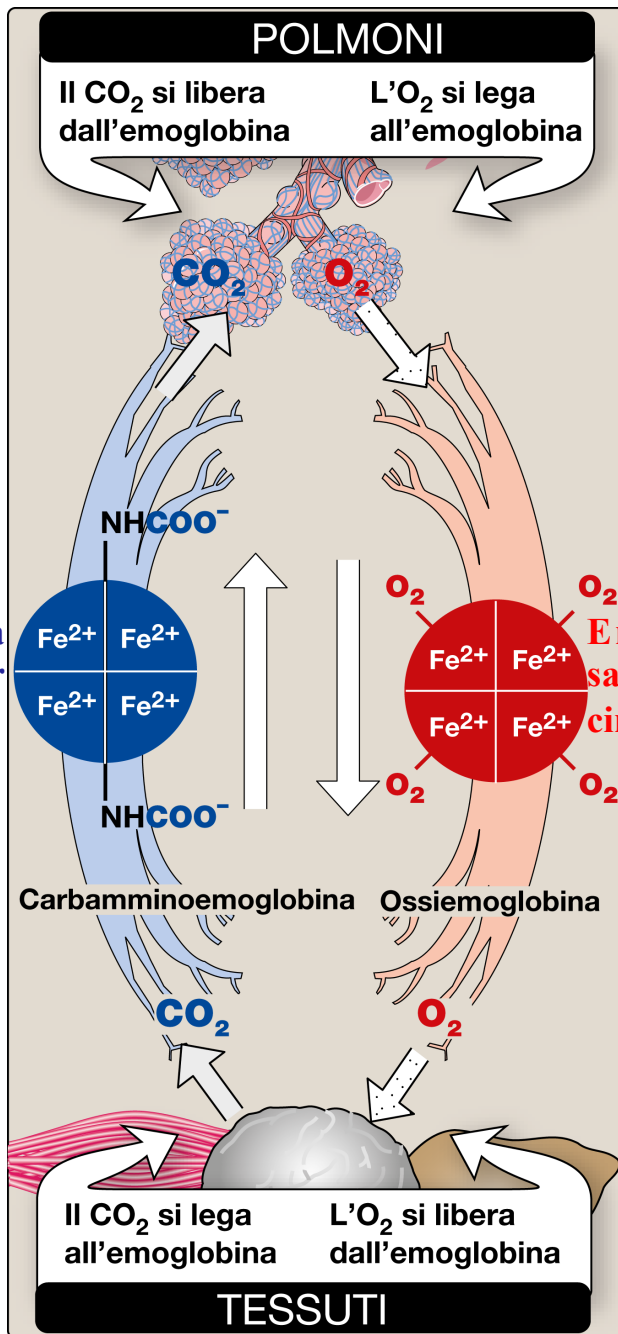
La curva di legame dell'ossigeno **sigmoide** implica che esiste una **interazione cooperativa** tra i siti di legame per l'ossigeno nella emoglobina

Cooperatività tra i siti di legame

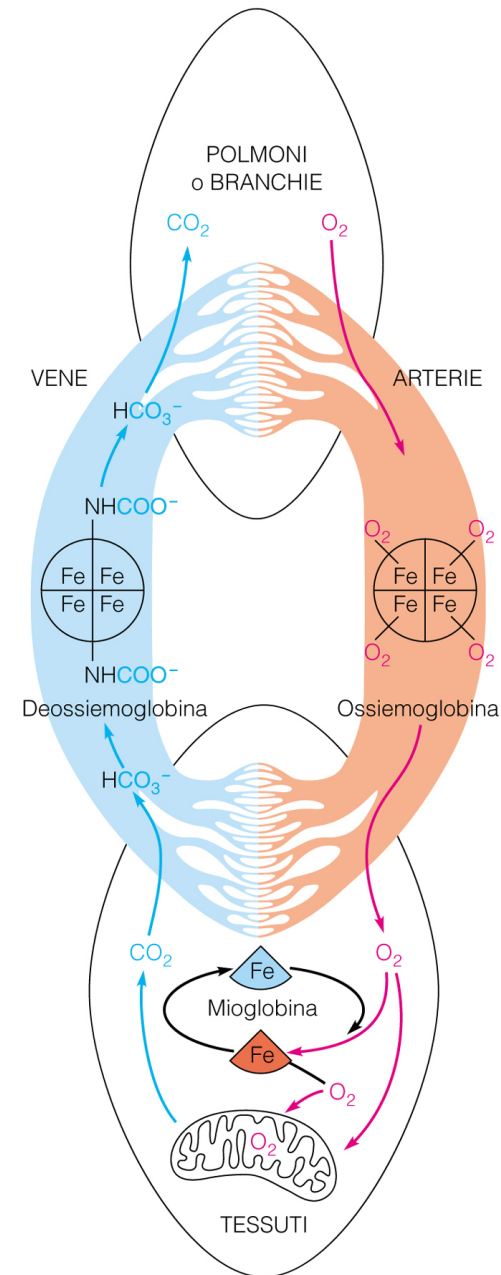
- Aumento dell'affinità per il ligando in una subunità in seguito al legame del ligando in un' altra subunità
- Si osserva nelle **proteine allosteriche**
- Il ligandi possono anche essere **modulatori** e possono essere **attivatori** o **inibitori**
- Se il ligando è anche modulatore l'interazione è detta **omotropica**
- Se il modulatore è una molecola diversa dal ligando l'interazione è detta **eterotropica**
- L'ossigeno è sia **ligando** che **modulatore omotropico**



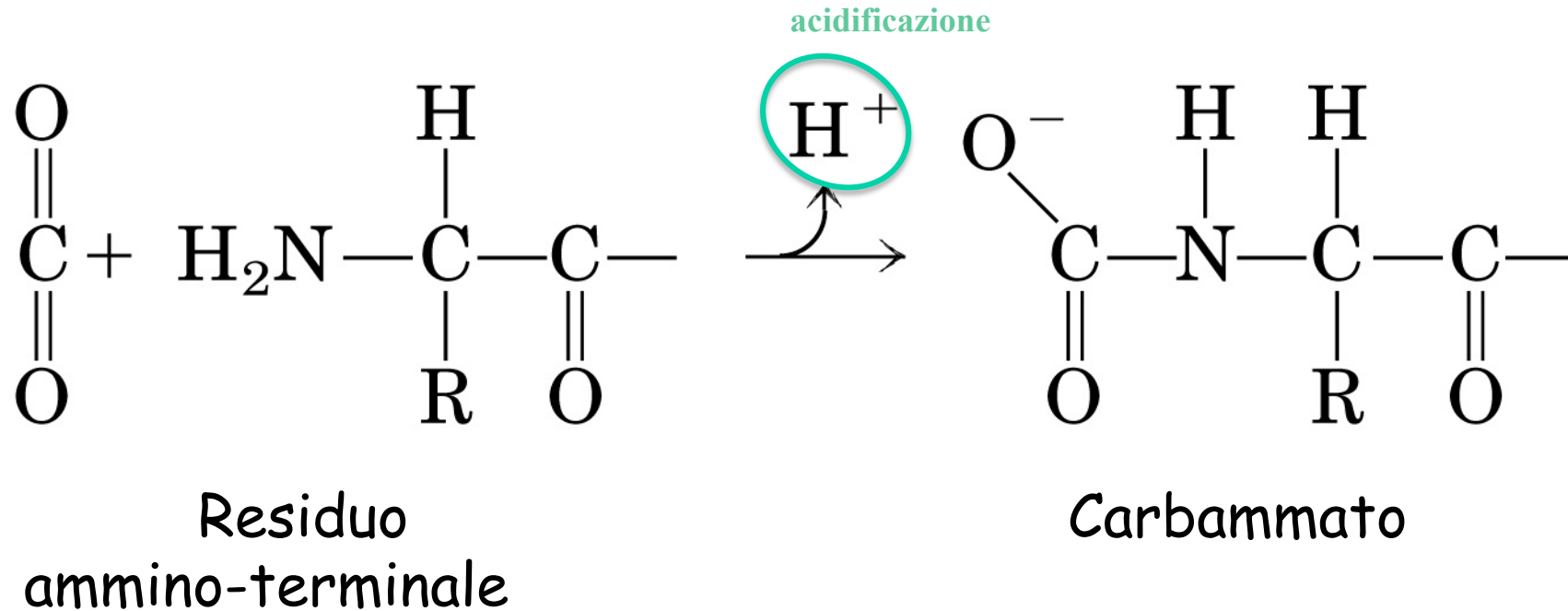
Emoglobina saturata per circa il 64 %



Emoglobina saturata per circa il 96 %

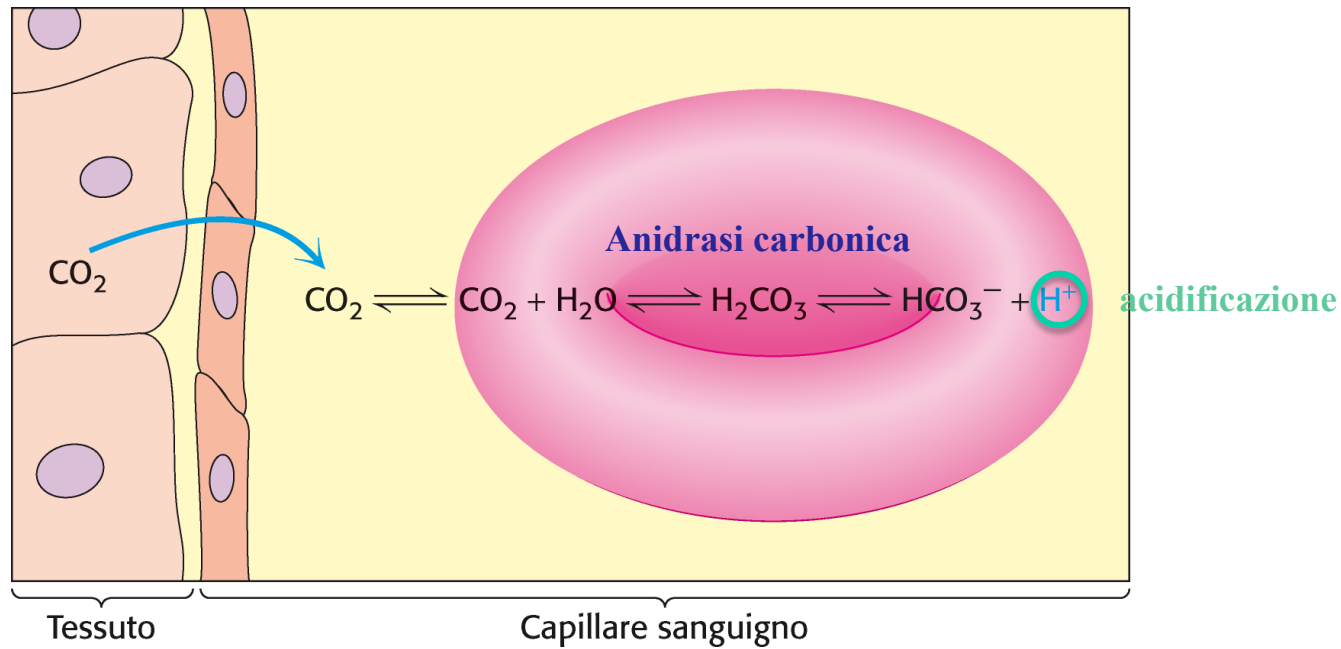


Nei capillari dei tessuti corporei



Circa il 14 % della CO_2 è trasportata dai tessuti ai polmoni sotto forma di carbammato legata alle estremità N-terminali delle subunità dell'emoglobina

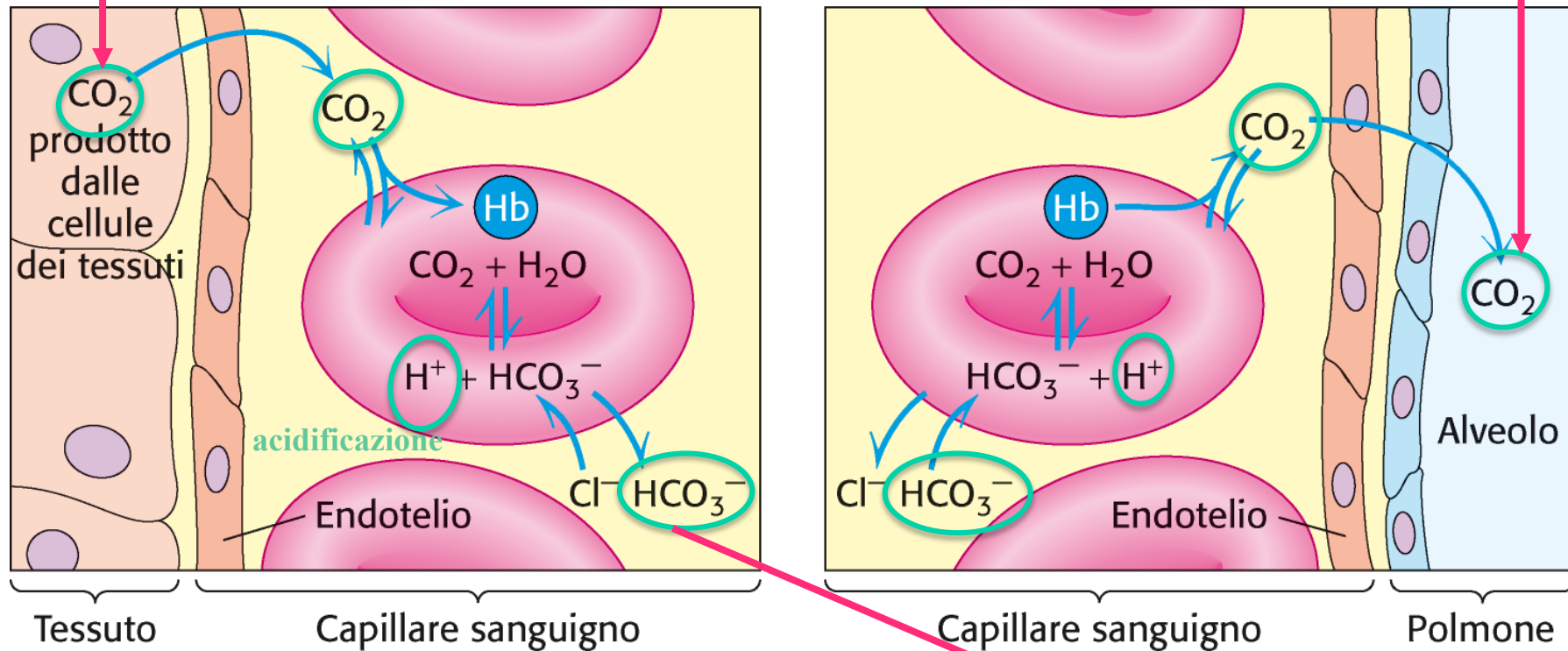
Trasferimento di CO_2 dai tessuti al sangue



Trasporto di CO_2 dai tessuti ai polmoni

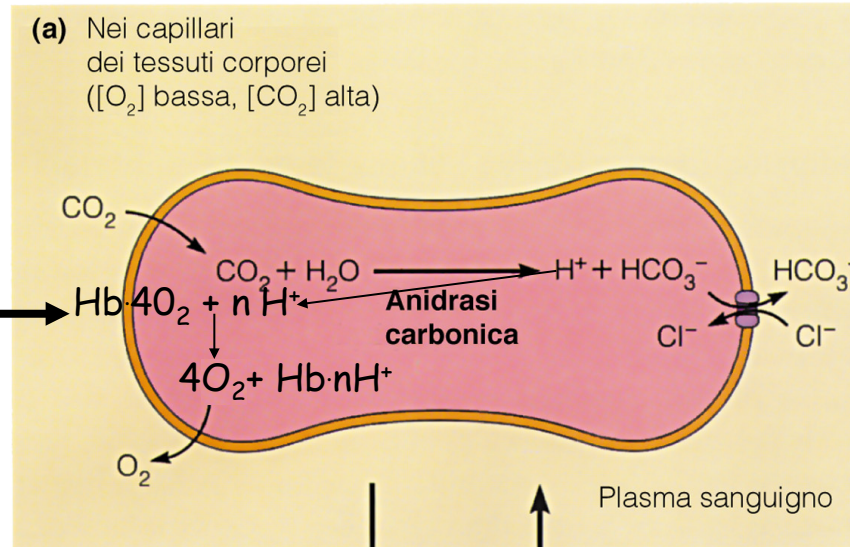
La CO_2 prodotta nei tessuti dal catabolismo ossidativo delle molecole organiche

viene eliminata con l'espiazione

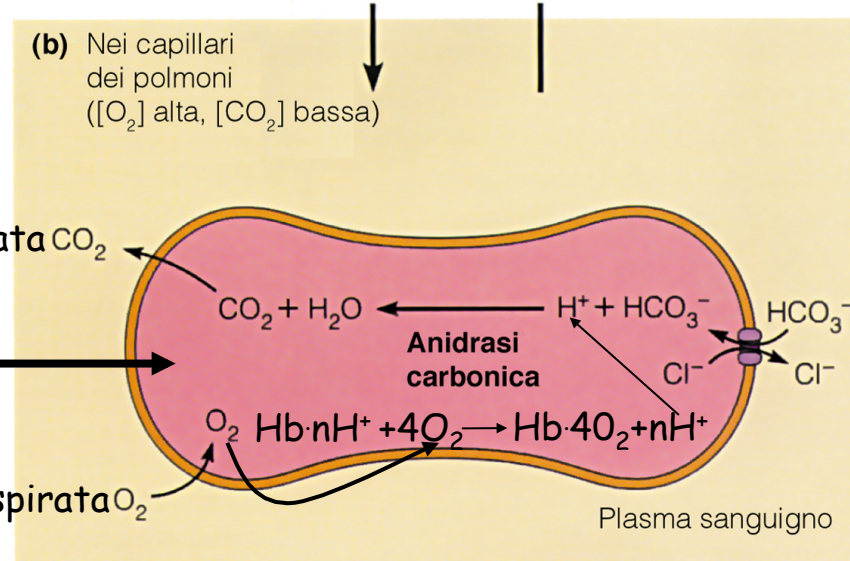


La maggior parte della CO_2 è trasportata ai polmoni sotto forma di bicarbonato

Gli H^+ liberati nei tessuti nei globuli rossi dalla dissociazione dell'acido carbonico si legano all'emoglobina che diventa meno affine per l' O_2 e lo rilascia



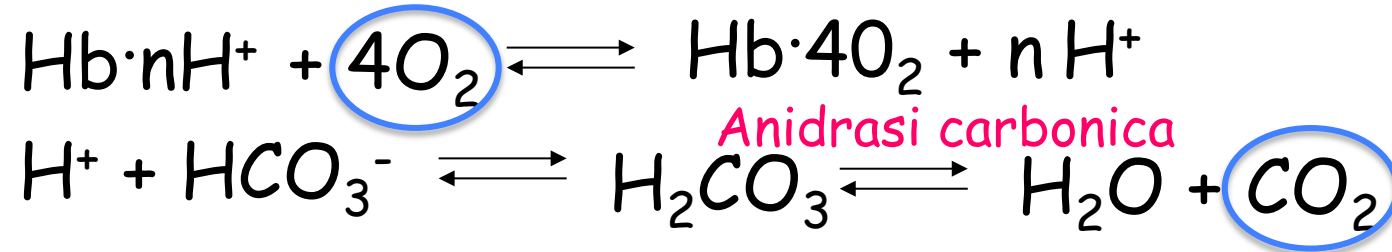
Nei polmoni l'elevata pressione di O_2 ne favorisce il legame all'emoglobina con rilascio di H^+ e conseguente emissione di CO_2



La maggior parte della CO_2 è trasportata ai polmoni sotto forma di bicarbonato

È legato all'emoglobina per essere trasportato ai tessuti

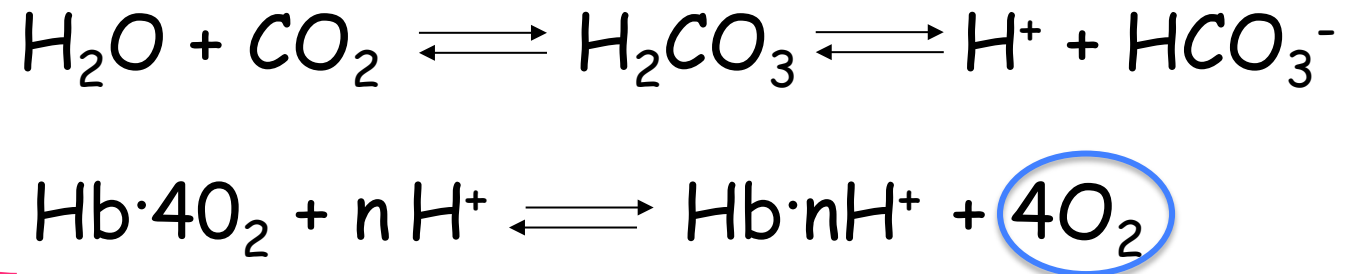
Polmoni



È rilasciato con l'espiazione

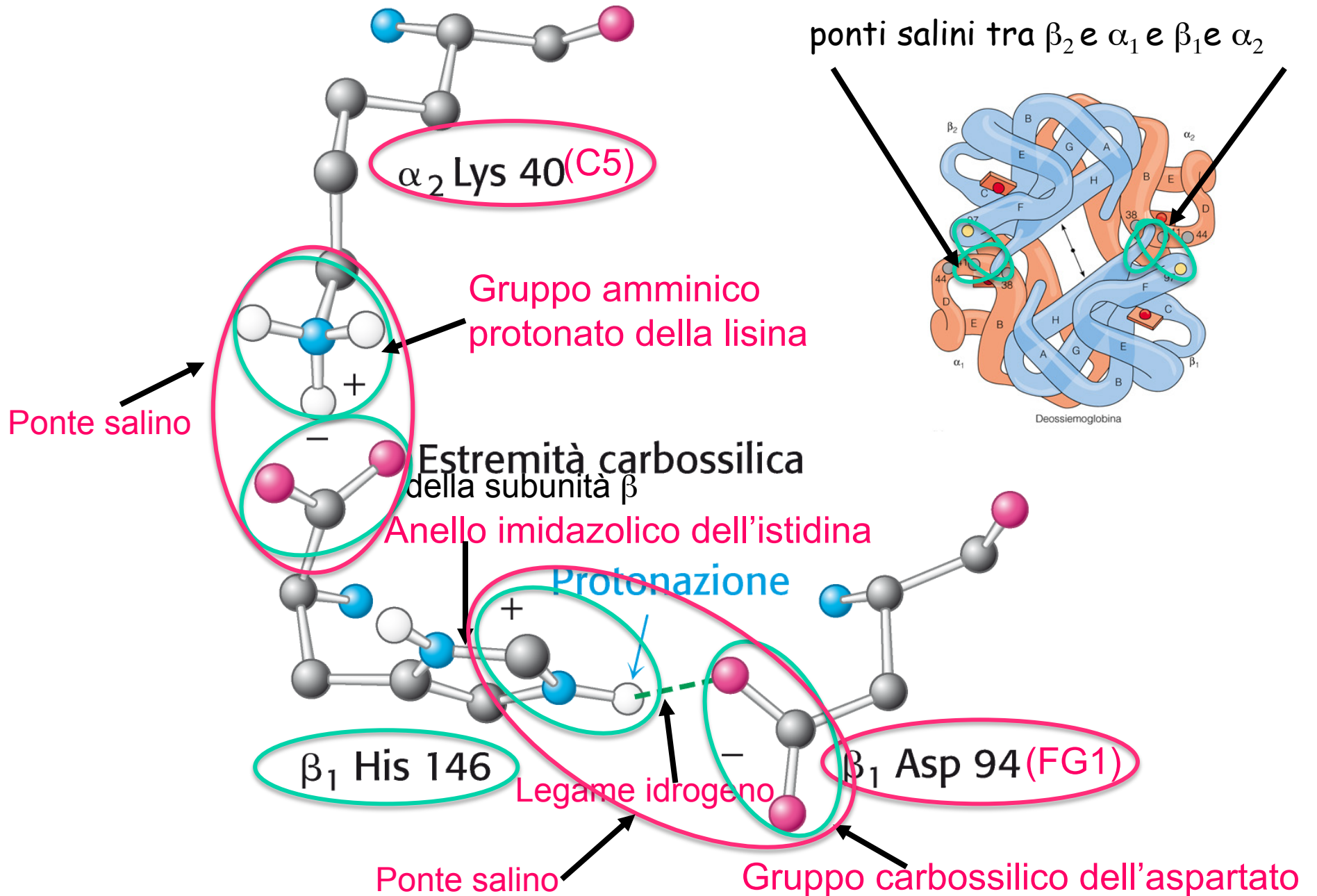
Anidrasi carbonica

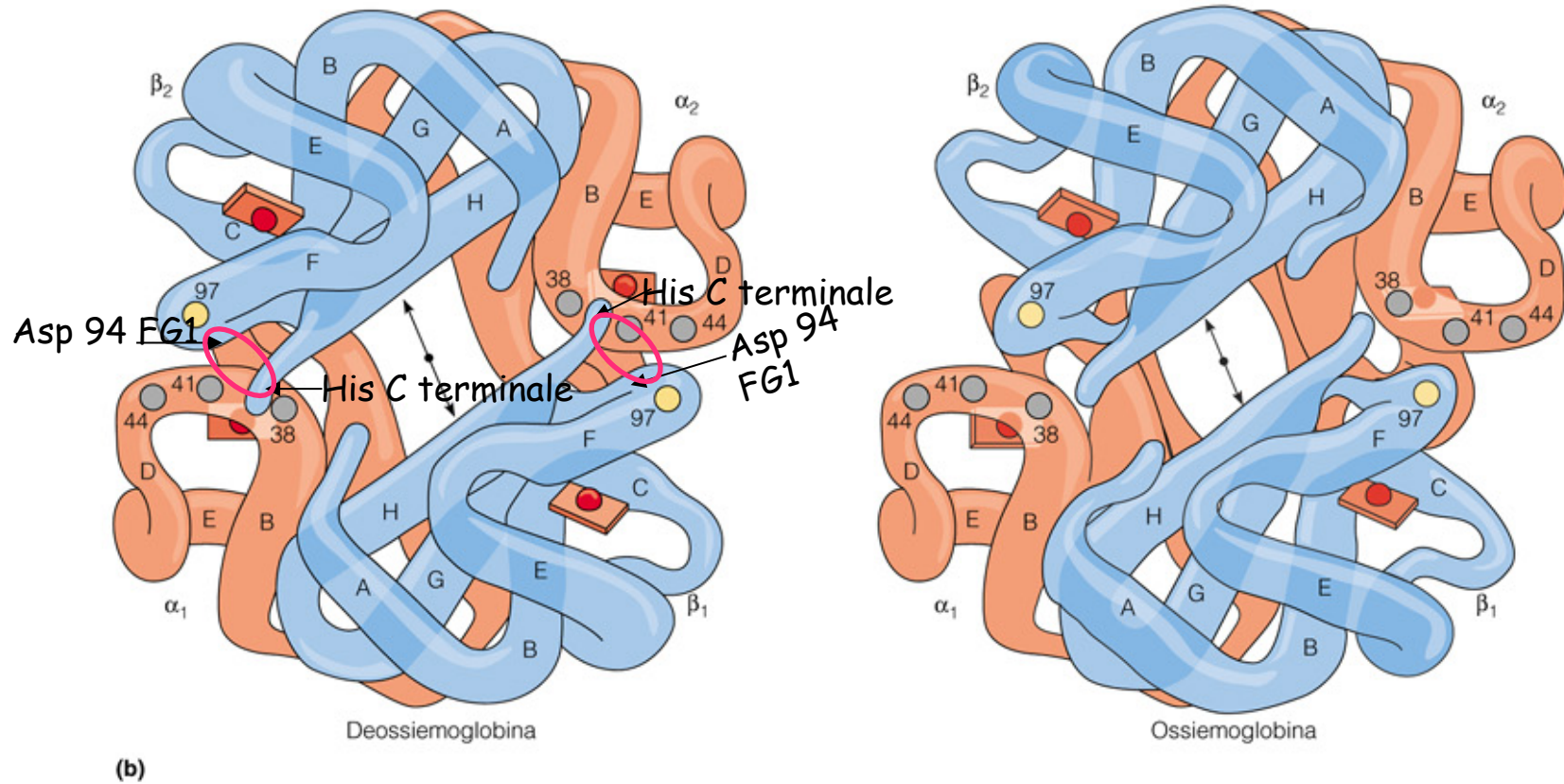
Tessuti



È rilasciato dall'emoglobina per la riossidazione mitocondriale dei coenzimi ridotti

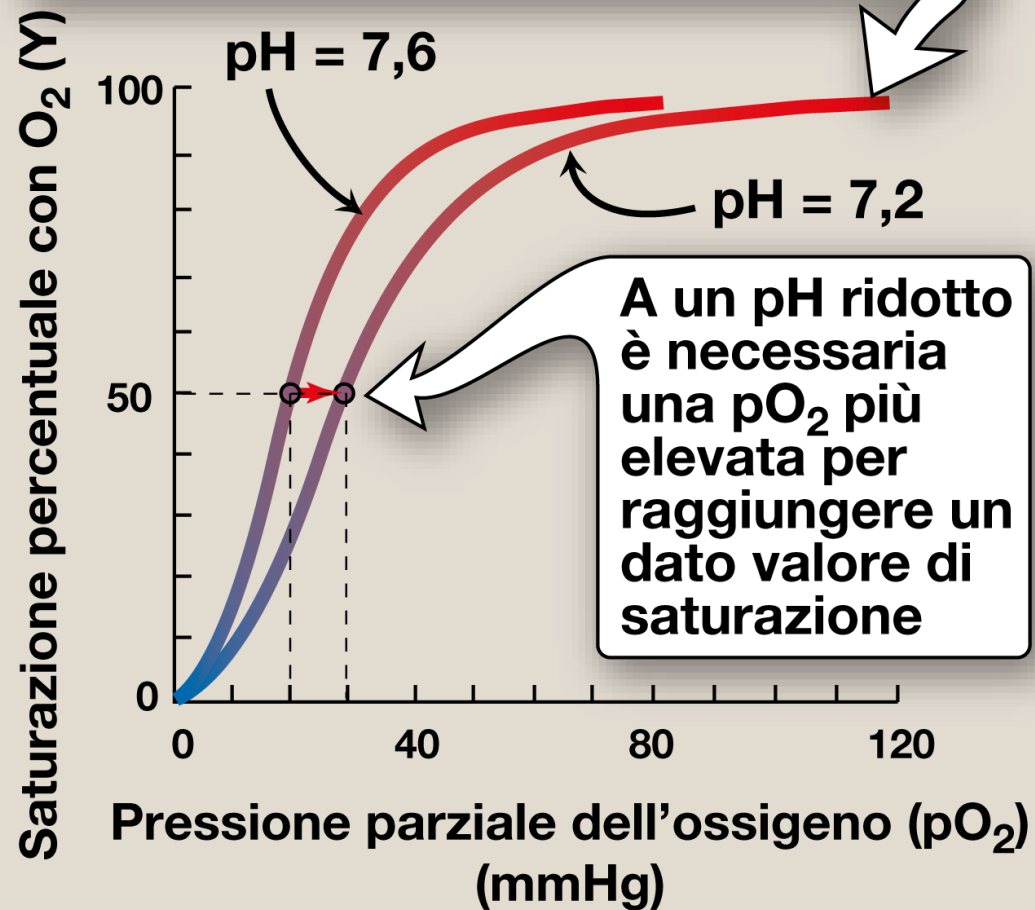
ponti salini e legame idrogeno tra β_2 e α_1 e β_1 e α_2



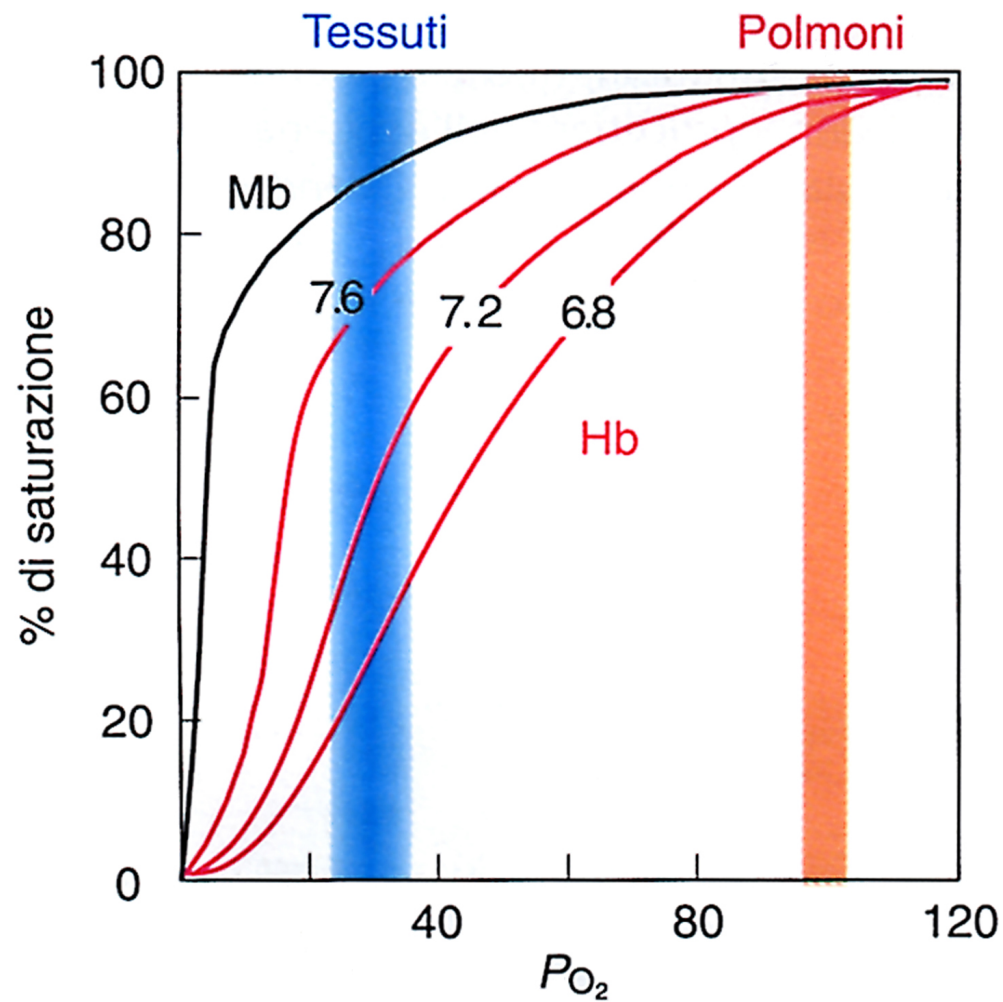


La protonazione dell' His 146 della subunità β fa formare una coppia ionica con l' Asp 94 (FG1) della connessione FG della stessa subunità β stabilizzando la forma T deossigenata e favorendo il rilascio di ossigeno ai tessuti

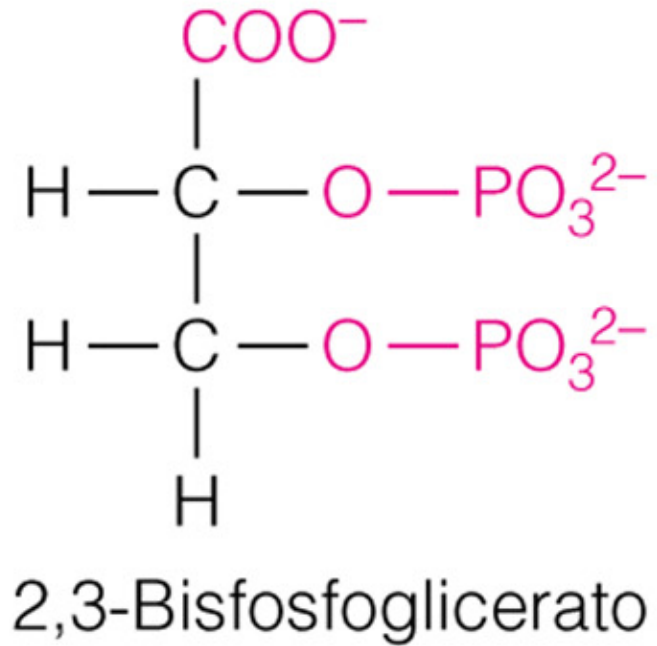
Una diminuzione del pH fa ridurre l'affinità dell'emoglobina per l'ossigeno, producendo quindi uno spostamento a destra della curva di dissociazione dell'ossigeno



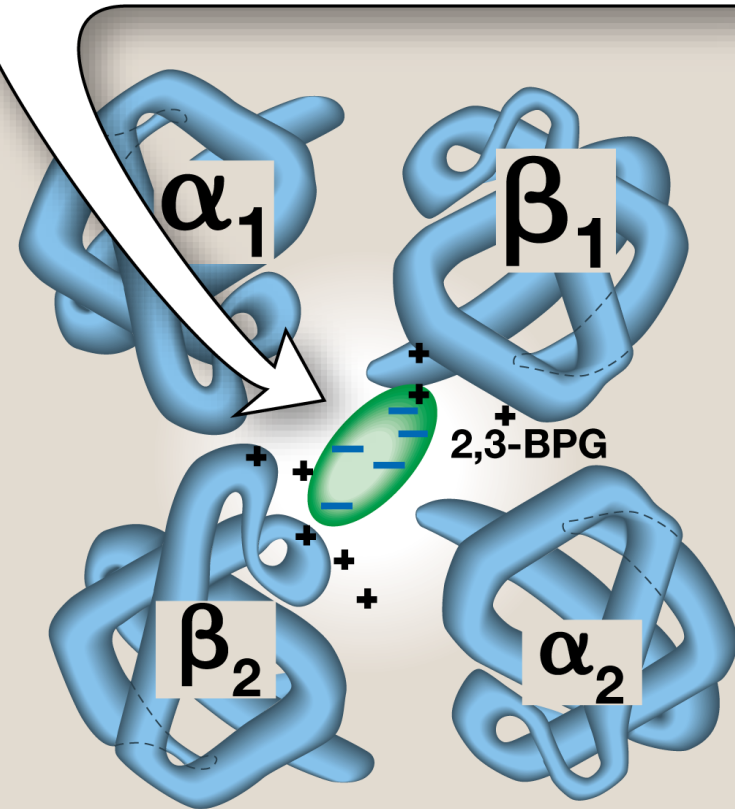
A un pH ridotto è necessaria una pO_2 più elevata per raggiungere un dato valore di saturazione

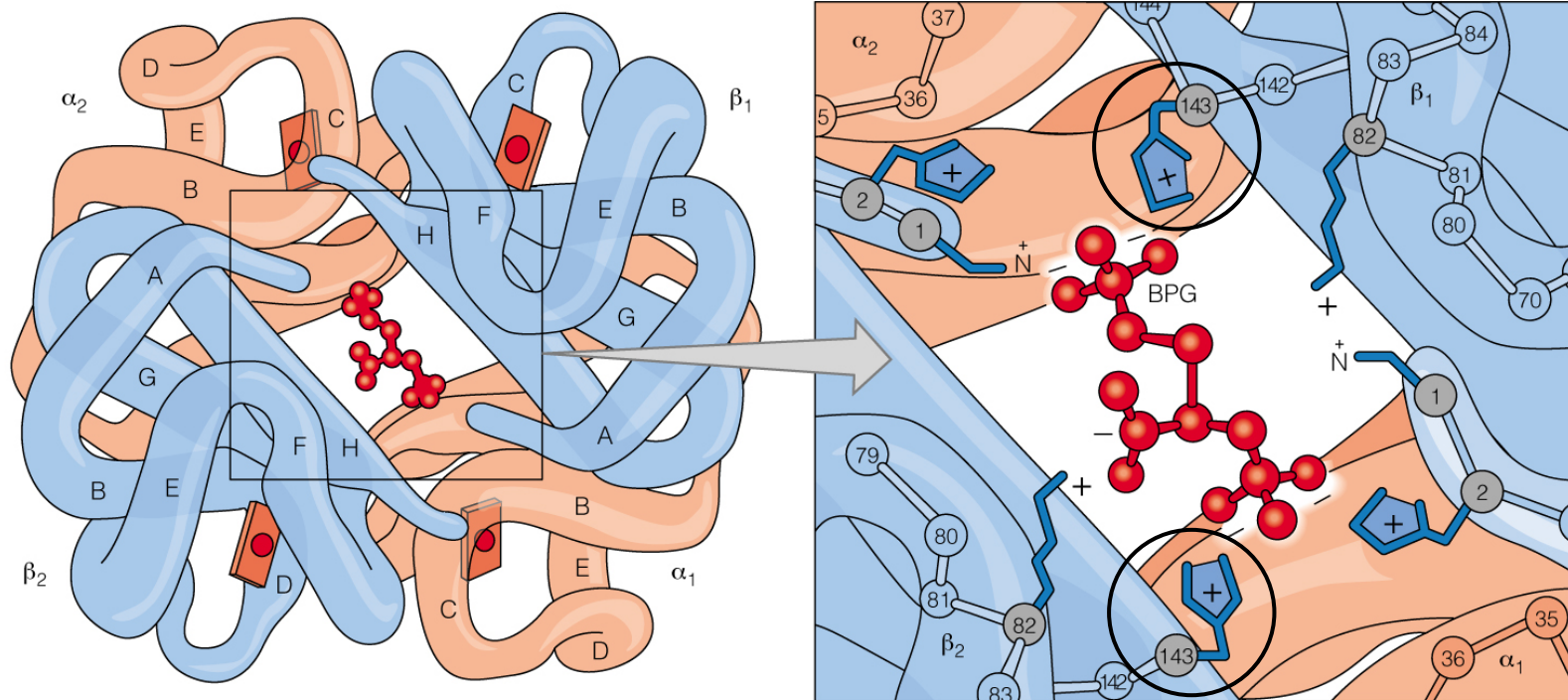


Effetto Bohr: **effetto del pH e della concentrazione di CO_2 sul legame e sul rilascio dell'ossigeno dall'emoglobina**



Un'unica molecola di 2,3-BPG si lega a una cavità dotata di carica positiva formata dalle catene β della deossiemoglobina

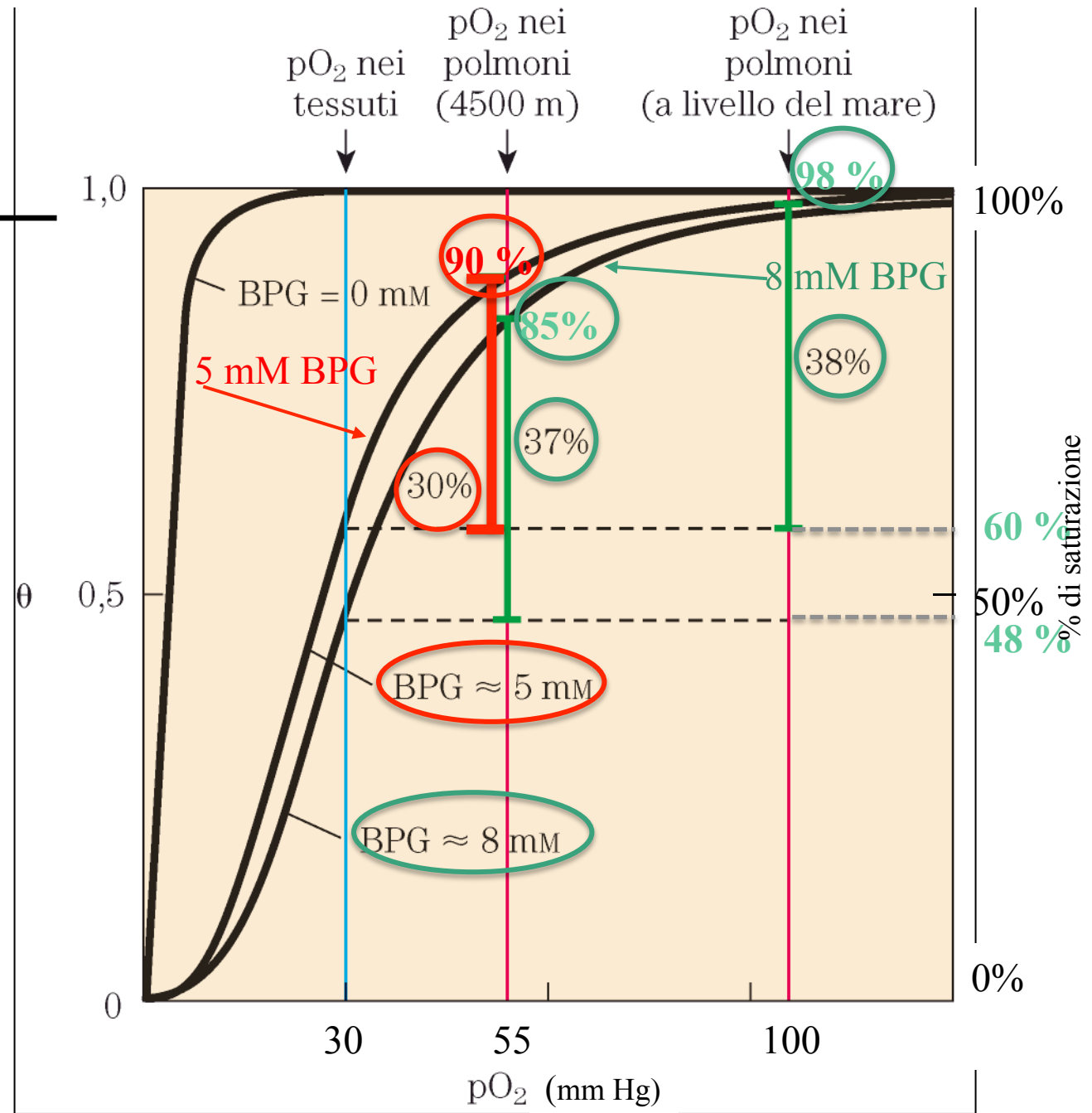




Le curve di legame dell'ossigeno per l'emoglobina sono prodotte in presenza di 2,3-bisfosfoglicerato 5 mM (concentrazione nei globuli rossi umani di un individuo sano ed al livello del mare)

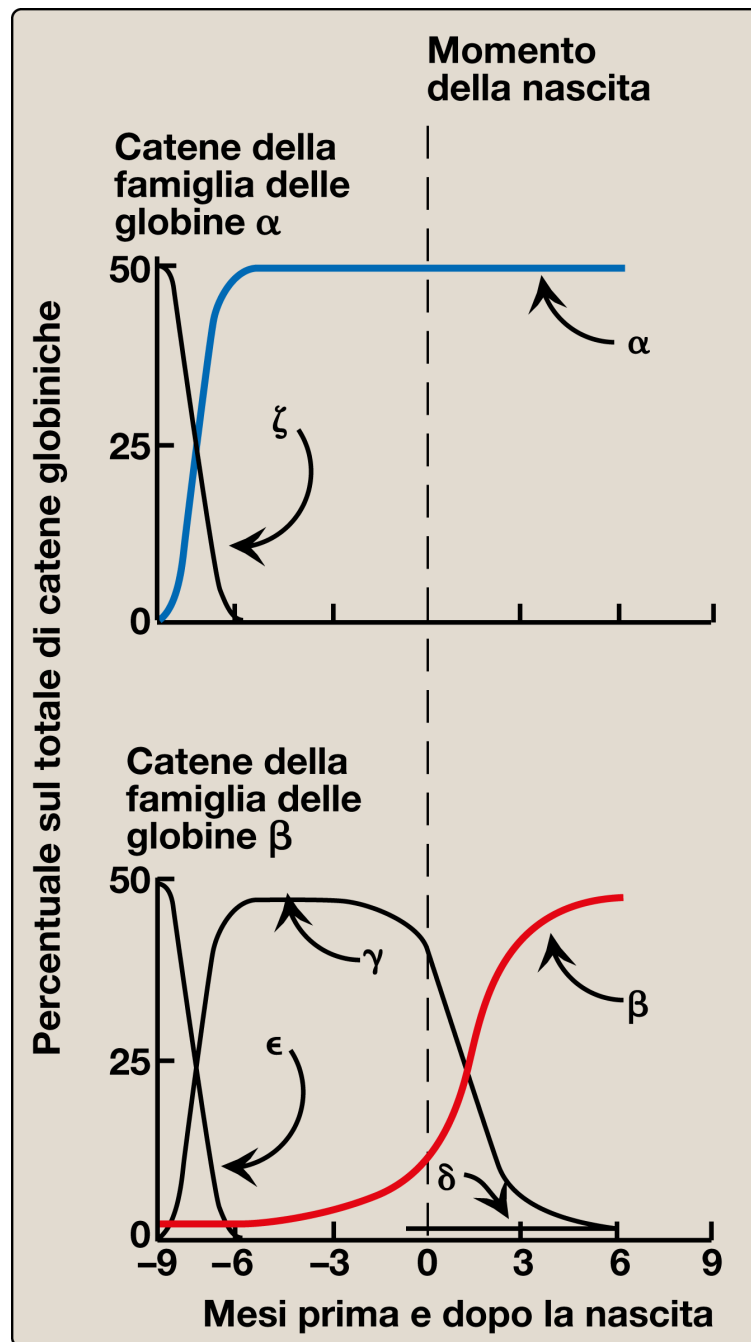
$$\theta = \frac{\text{siti occupati}}{\text{siti disponibili totali}}$$

- Il legame dell'ossigeno all'emoglobina è regolato in modo che l'O₂ trasferito ai tessuti sia circa il 40% (37-38%) della quantità totale di gas che l'emoglobina può trasportare nel sangue per il fabbisogno cellulare sia al livello del mare che in alta montagna
- L'aumento di BPG provoca solo un piccolo effetto sul legame dell'ossigeno nei polmoni, ma un effetto molto evidente sul rilascio dell'O₂ a livello dei tessuti periferici. Così il trasferimento di ossigeno ai tessuti continua a essere circa il 40% (37%) della totale quantità di gas che il sangue può trasportare

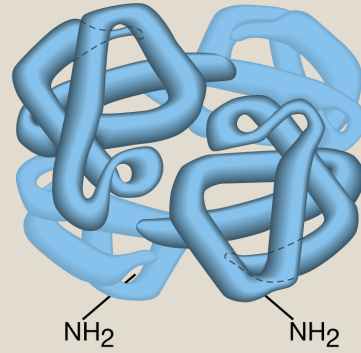




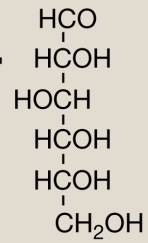
Nell' emoglobina fetale i residui 143 d'istidina delle catene β sono sostituiti nelle catene γ con residui di serina per cui diminuisce l'affinità per il 2,3-bisfosfoglicerato ed aumenta l'affinità per l'ossigeno



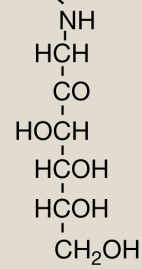
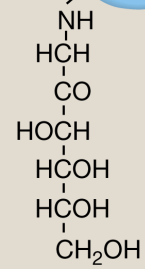
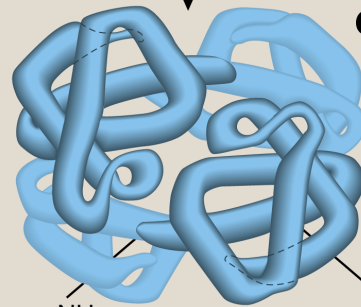
Tipo	Composizione (catene globiniche)	Frazione dell'emoglobina totale
HbA	$\alpha_2\beta_2$	90%
HbF	$\alpha_2\gamma_2$	< 2%
HbA ₂	$\alpha_2\delta_2$	2-5%
HbA _{1c}	$\alpha_2\beta_2$ -glucosio	3-9%



Emoglobina A



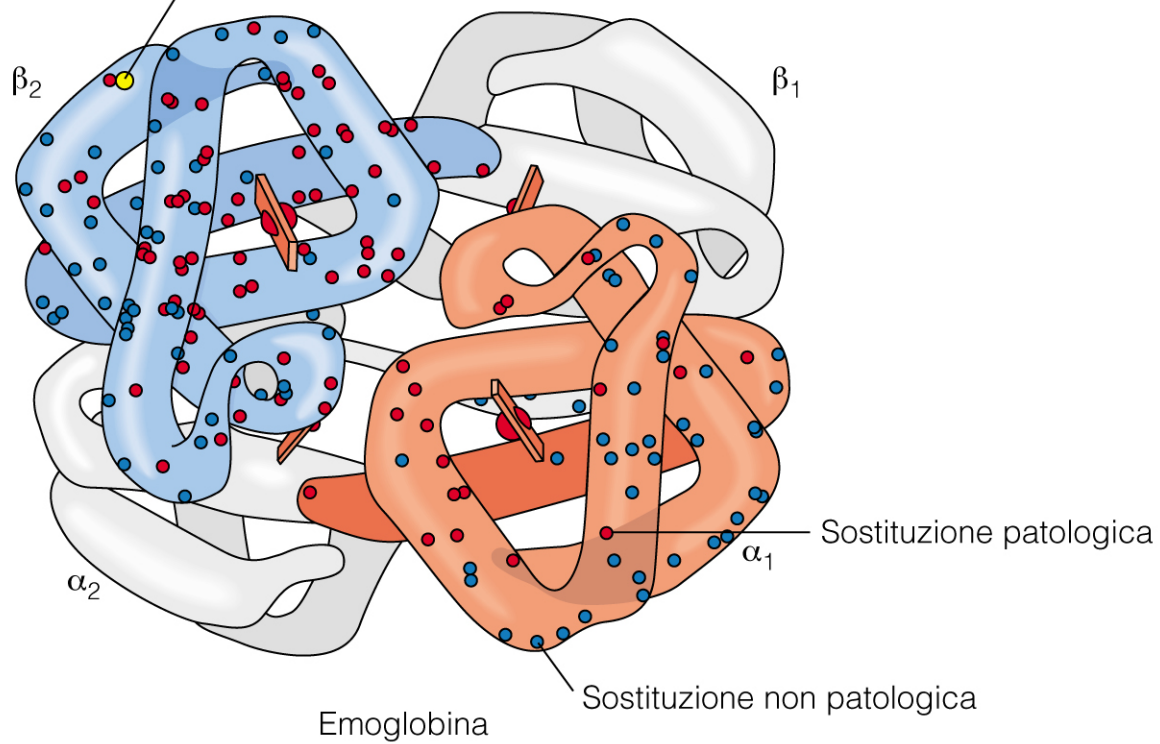
Glucosio

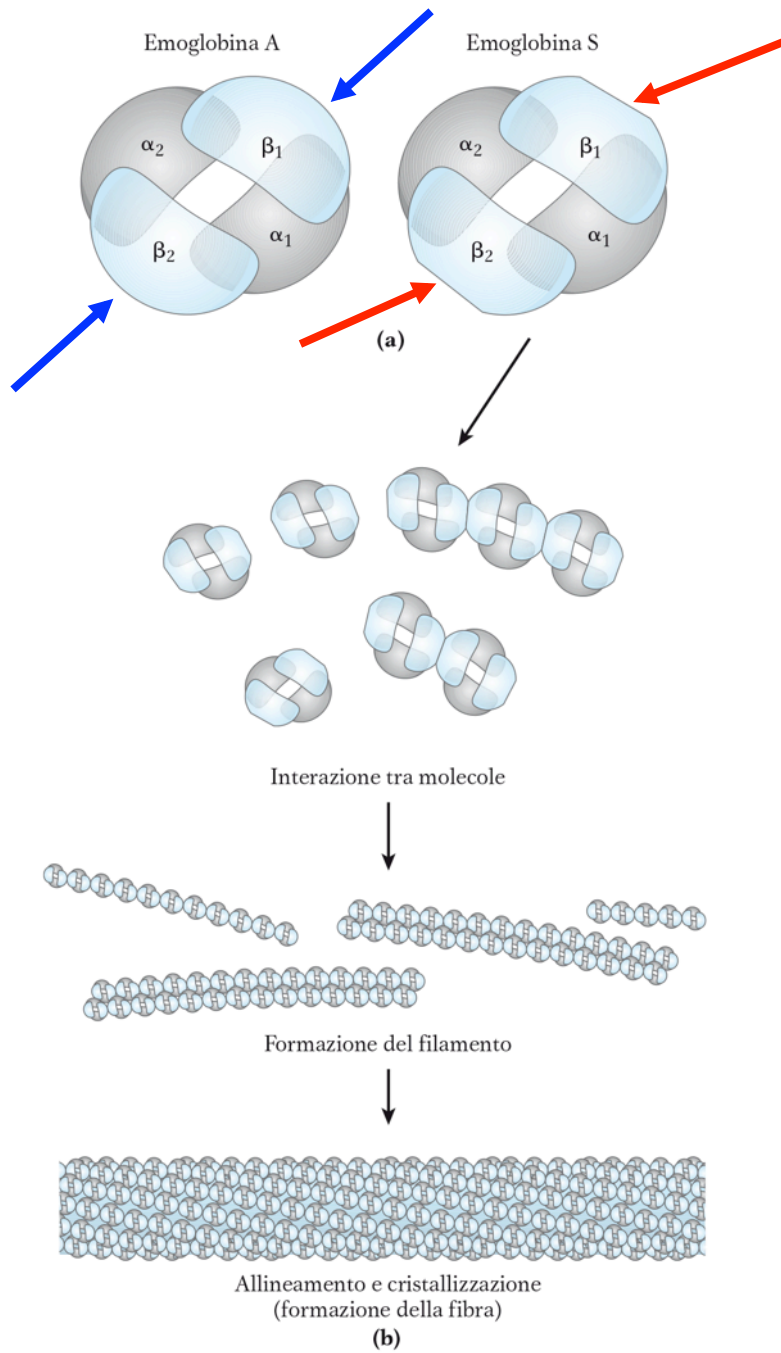


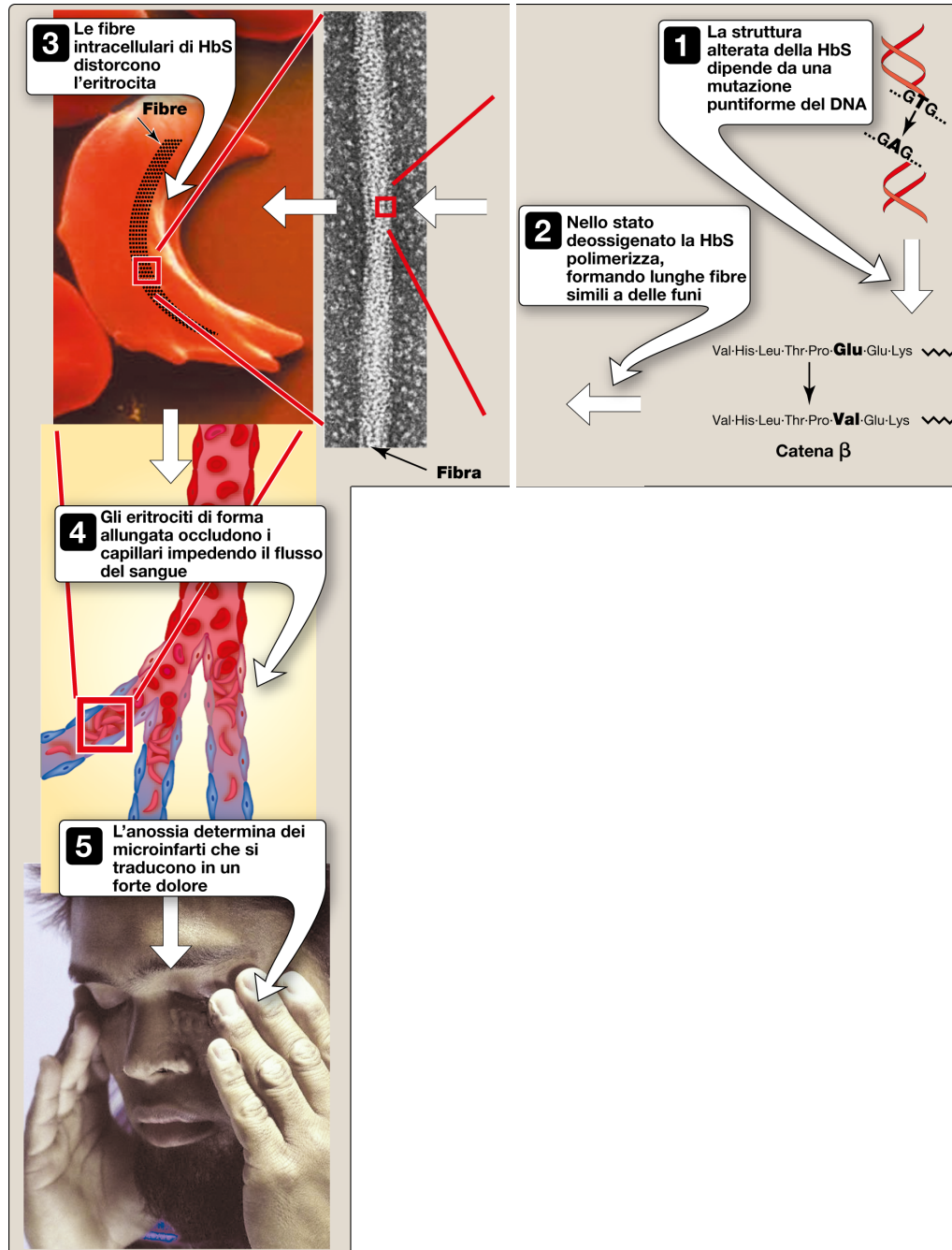
Emoglobina A_{1c}

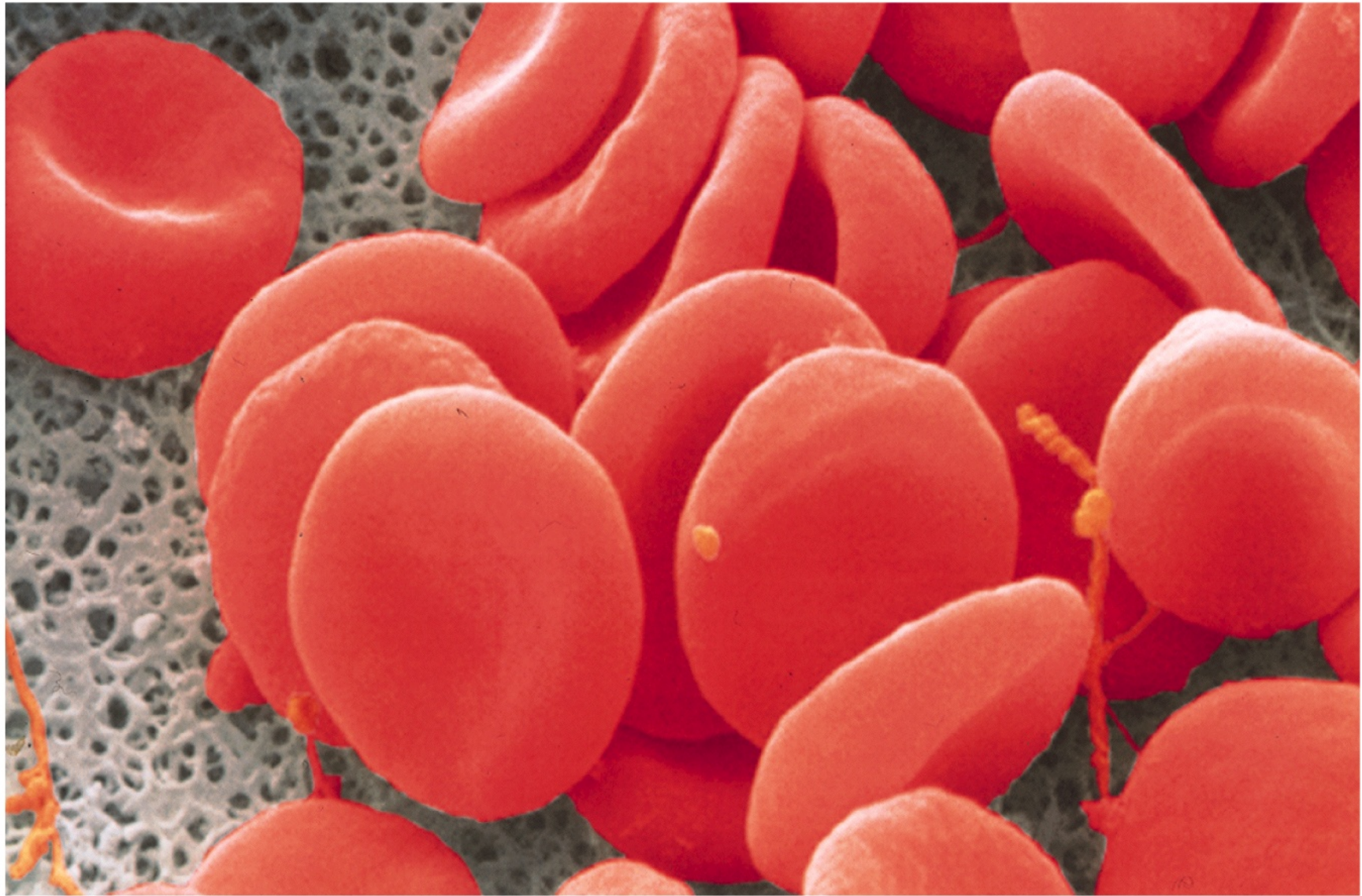
Il glucosio si lega non enzimaticamente ai residui di valina delle estremità N-terminali delle subunità β dell'emoglobina

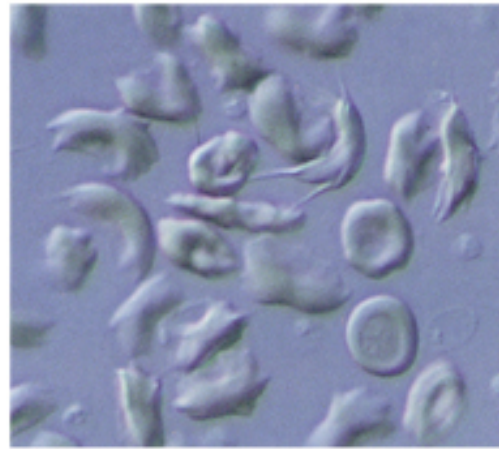
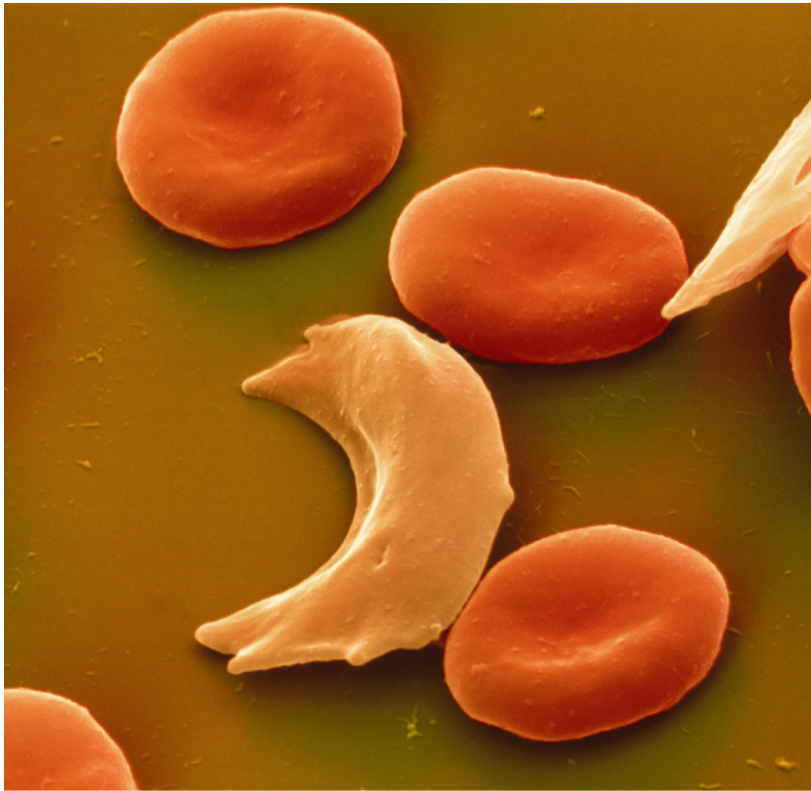
Mutazione dell'anemia falciforme



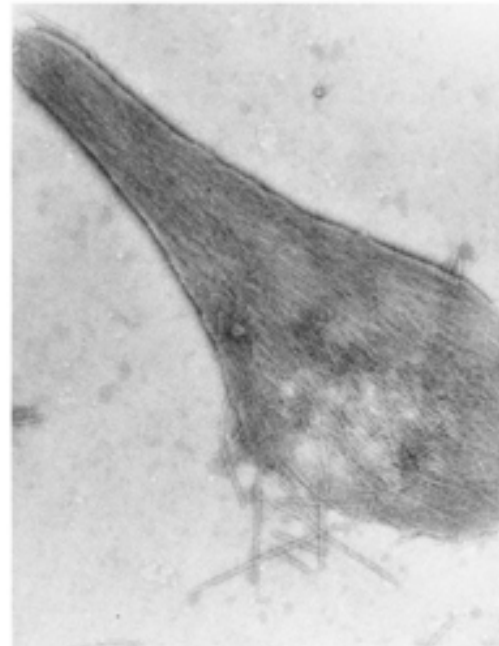




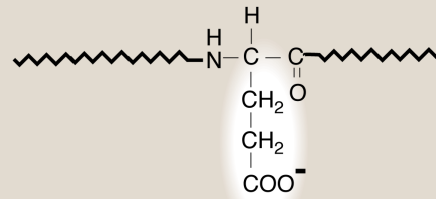




(a)

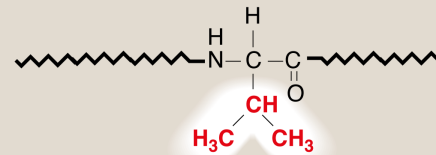


(b)



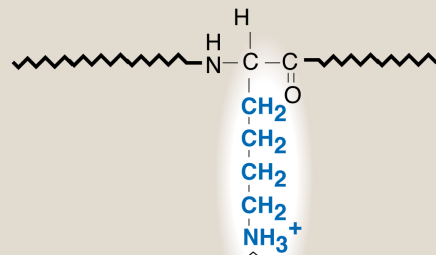
Val · His · Leu · Thr · Pro · **Glu** · Glu · Lys ~~~~~
 1 2 3 4 5 6 7 8

HbA



Val · His · Leu · Thr · Pro · **Val** · Glu · Lys ~~~~~
 1 2 3 4 5 6 7 8

HbS



Val · His · Leu · Thr · Pro · **Lys** · Glu · Lys ~~~~~
 1 2 3 4 5 6 7 8

HbC

