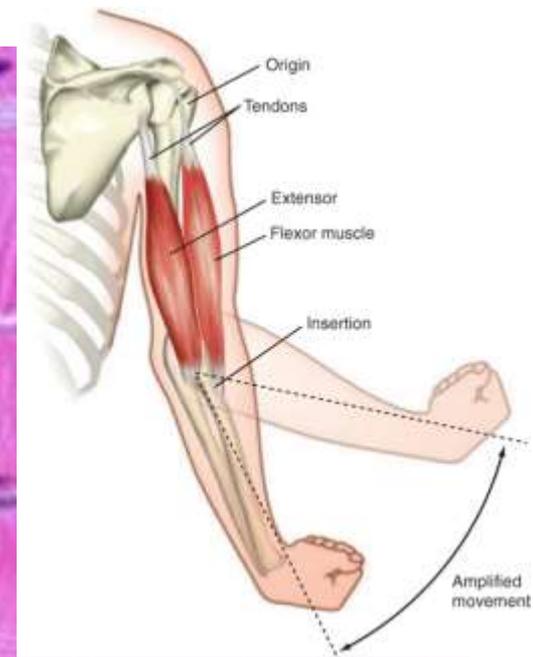
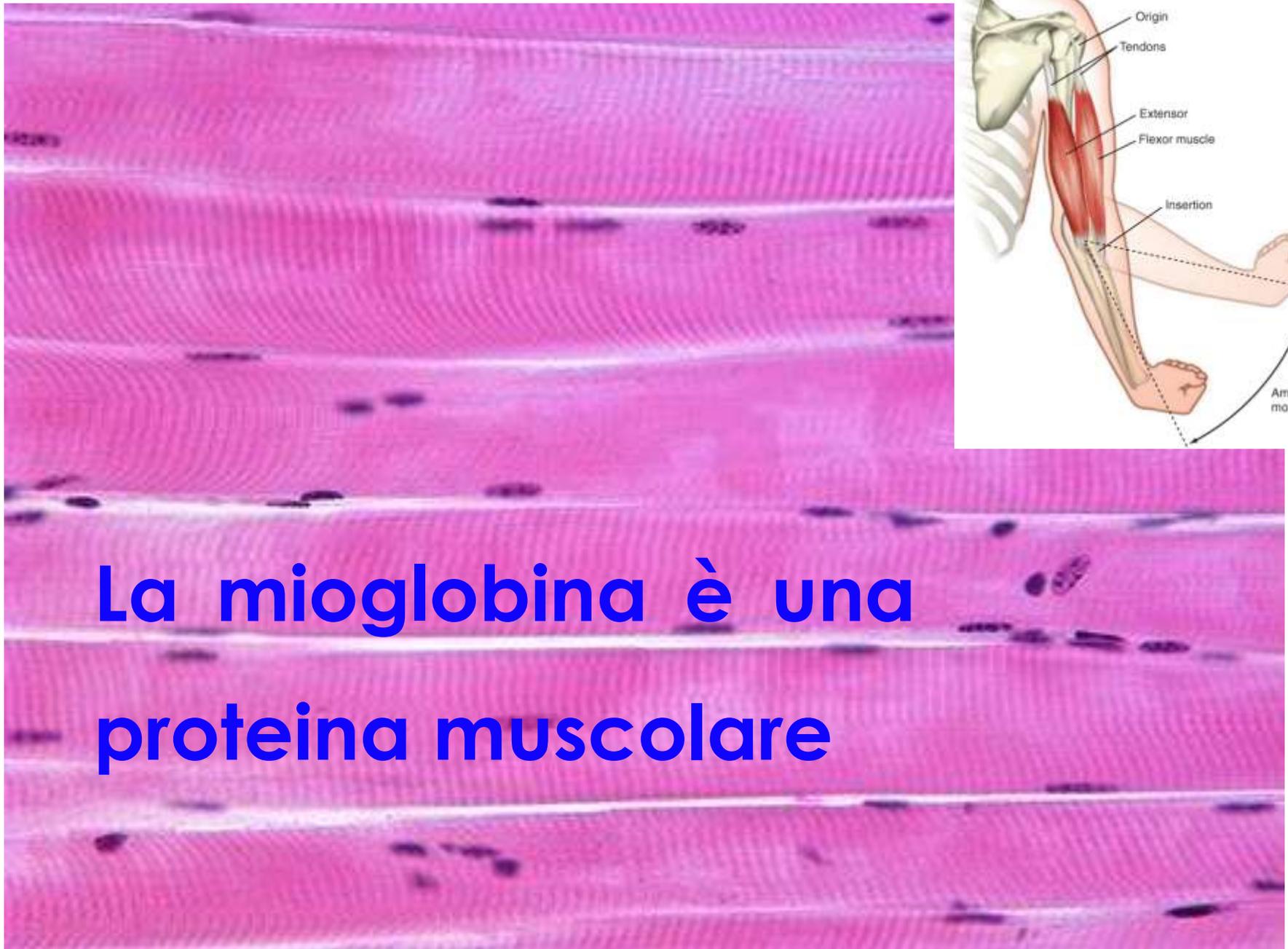


Mioglobina ed Emoglobina





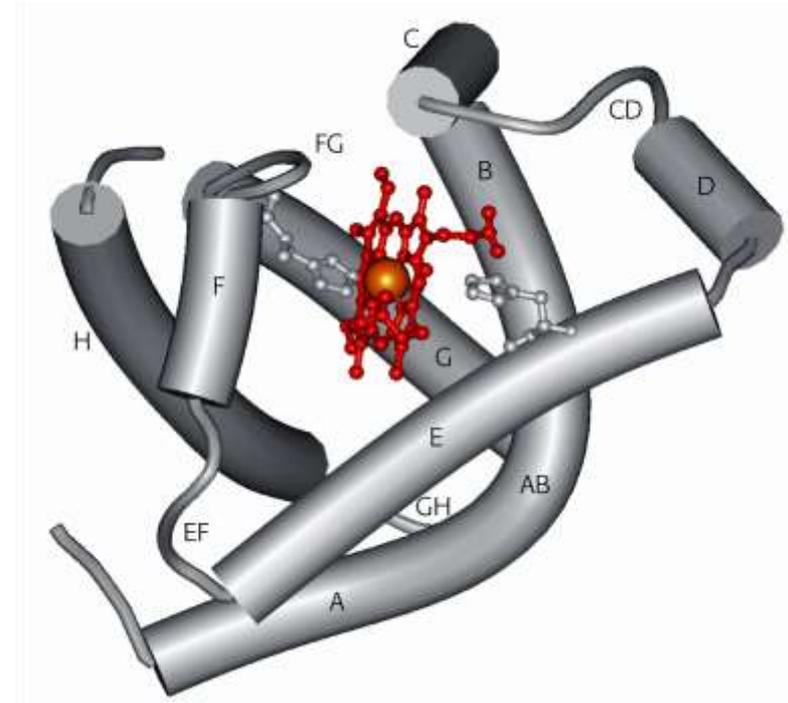
**La mioglobina è una
proteina muscolare**

Mioglobina

La **mioglobina** è una **proteina** che **lega l'ossigeno** e ne facilita l'**accumulo nelle cellule muscolari** a riposo e il suo rilascio rapido quando si contraggono.

È costituita da una **catena di 153 aminoacidi** e da un **gruppo eme** (ferroporfirinico).

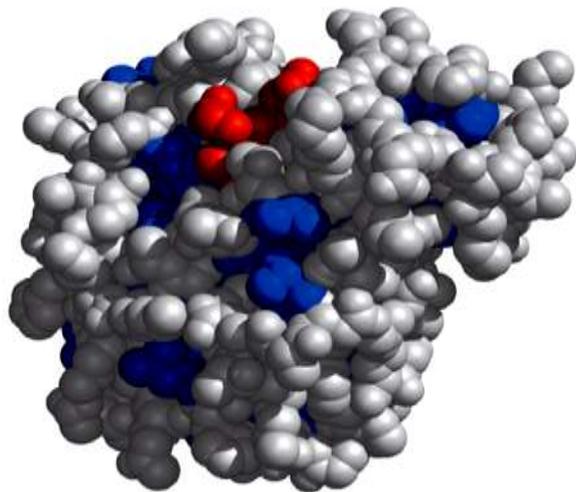
Lo scheletro della mioglobina è costituito da **8 segmenti compatti di α eliche destrorse** (78% della molecola) interrotte da ripiegamenti.



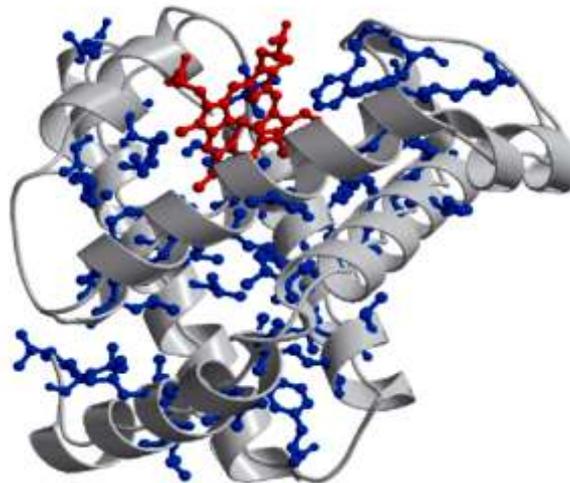
Struttura terziaria della mioglobina

La maggior parte degli **AA idrofobici** si trova **all'interno della molecola** (lontano dall'acqua).

La maggior parte degli **AA polari** si trovano **alla superficie della molecola** **tranne 2 His**, molto importanti per il meccanismo di cattura dell'O₂



modello a sfere



modello a nastro



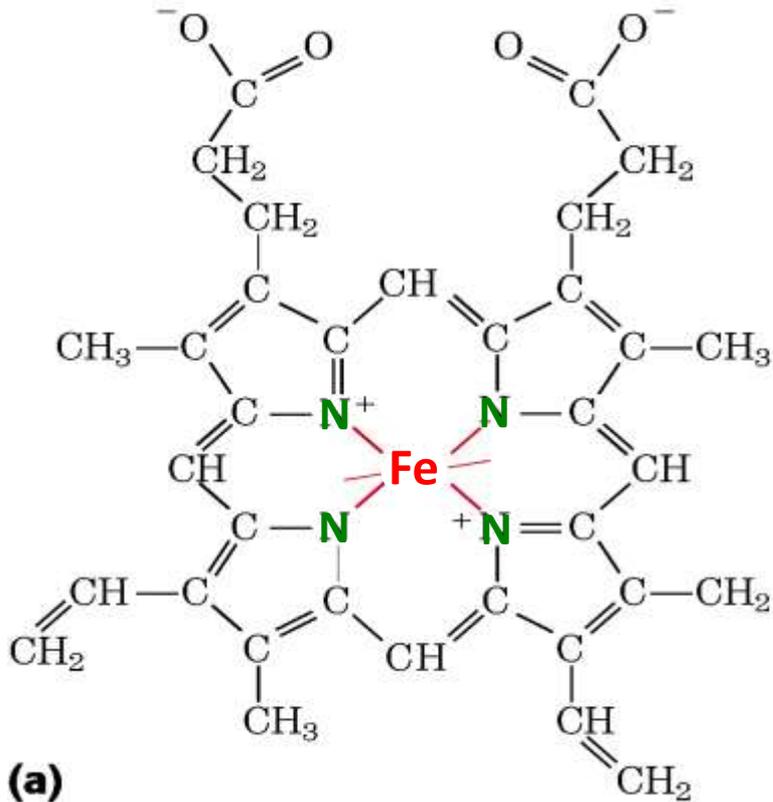
modello culinario

in **blu** le catene laterali degli **AA idrofobici**.

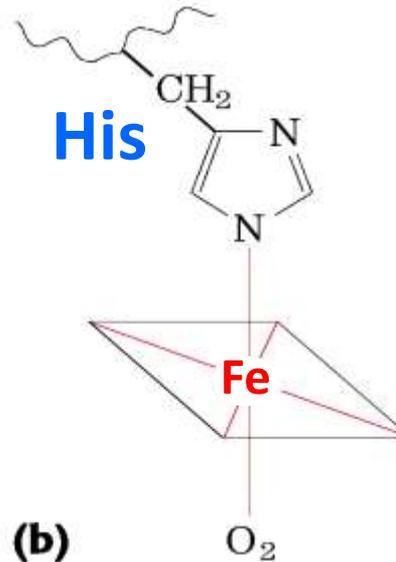
In **rosso** il gruppo **eme** infilato in una profonda e stretta tasca.

Il gruppo eme

è presente nella **mioglobina**, **emoglobina** e **citocromi**



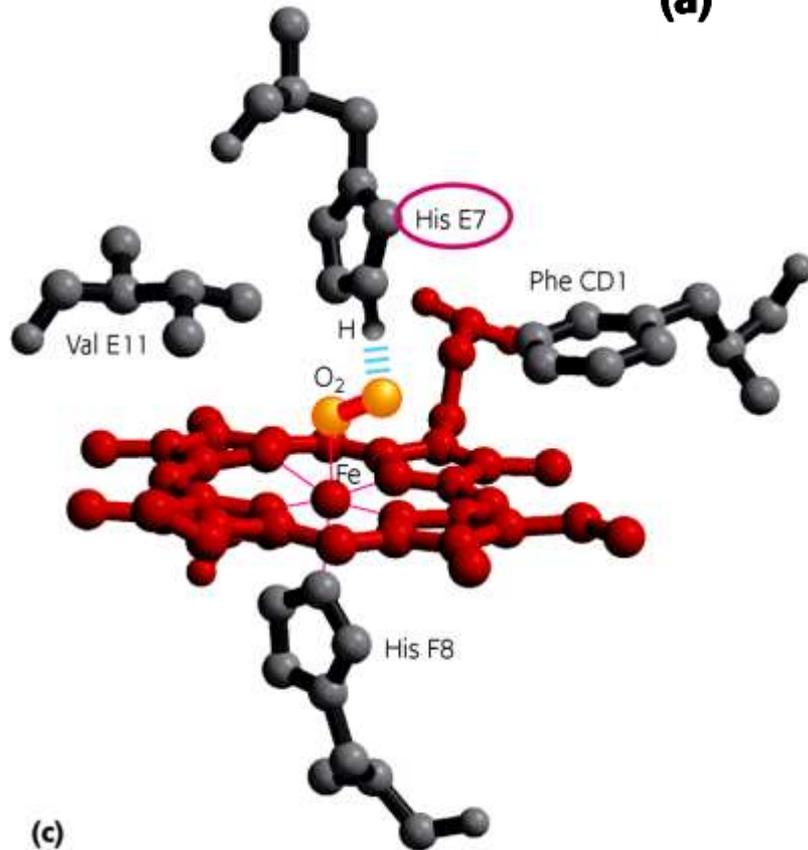
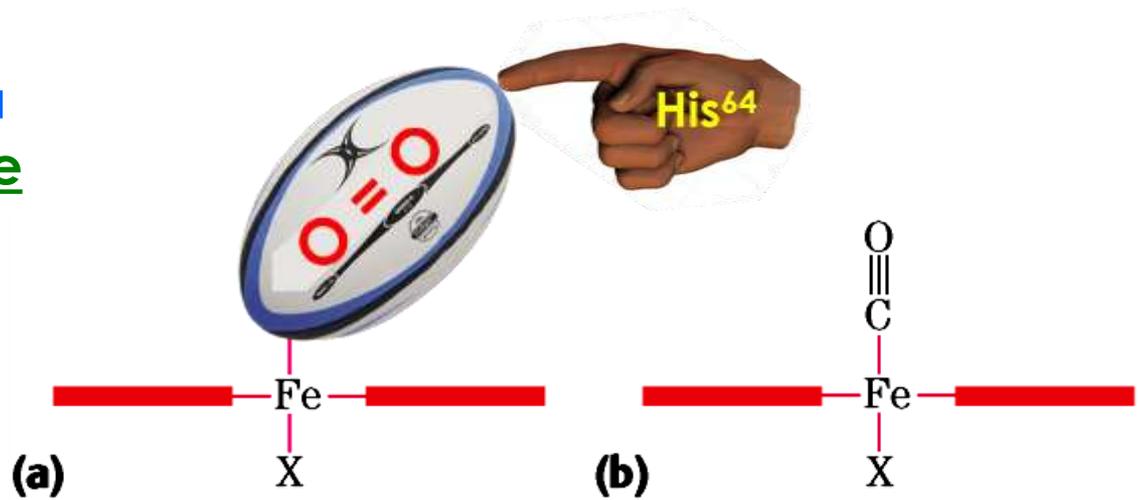
His della proteina che tiene bloccato l'eme nella tasca idrofobica



Il **Fe²⁺** forma **6 legami di coordinazione** (in rosso), di cui **4** con gli atomi di **N** dell'**anello tetrapirrolico** della **protoporfirina**, che sono **disposti nel piano dell'anello**; gli **altri 2** sono **perpendicolari ad esso** (uno dei 2 lega l'N di un'**His**, mentre l'altro lega una **molecola di ossigeno**).

Il gruppo EME è infossato all'interno della struttura globulare della proteina in una tasca idrofobica che impedisce l'accesso alle molecole di acqua. In questo modo il **Fe²⁺** non ha contatti con l'acqua che lo ossiderebbe a **Fe³⁺**, **una valenza che non è in grado di legare l'O₂**.

nella **Mioglobina** (ma anche nell'**Hb**) l'**O₂** si lega al **Fe**, formando un **legame angolato** rispetto al piano dell'eme e **instabile**.



il monossido di carbonio si lega al **Fe del gruppo eme** all'interno della tasca mioglobinica con una **efficienza 200 volte superiore all'O₂** e **irreversibilmente**.

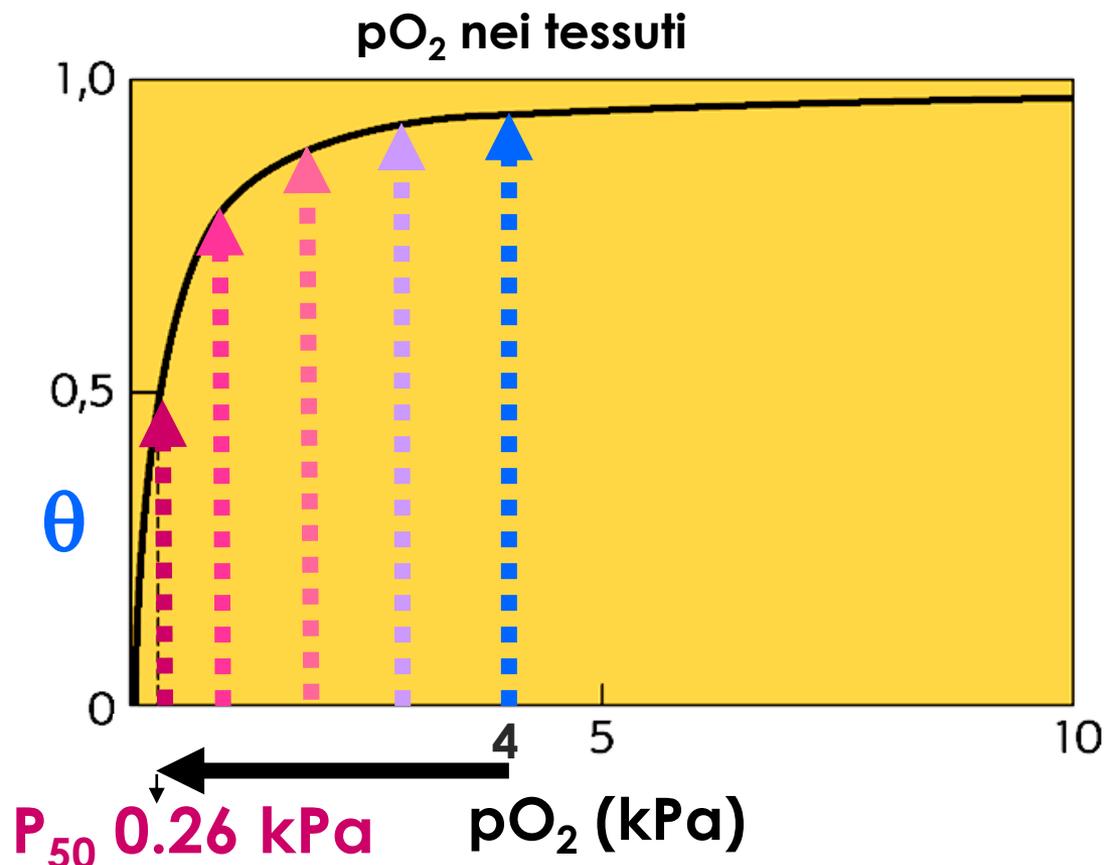
un **legame idrogeno con l'His⁶⁴ (E7)** stabilizza il legame dell'**O₂** con il **Fe** del gruppo eme.

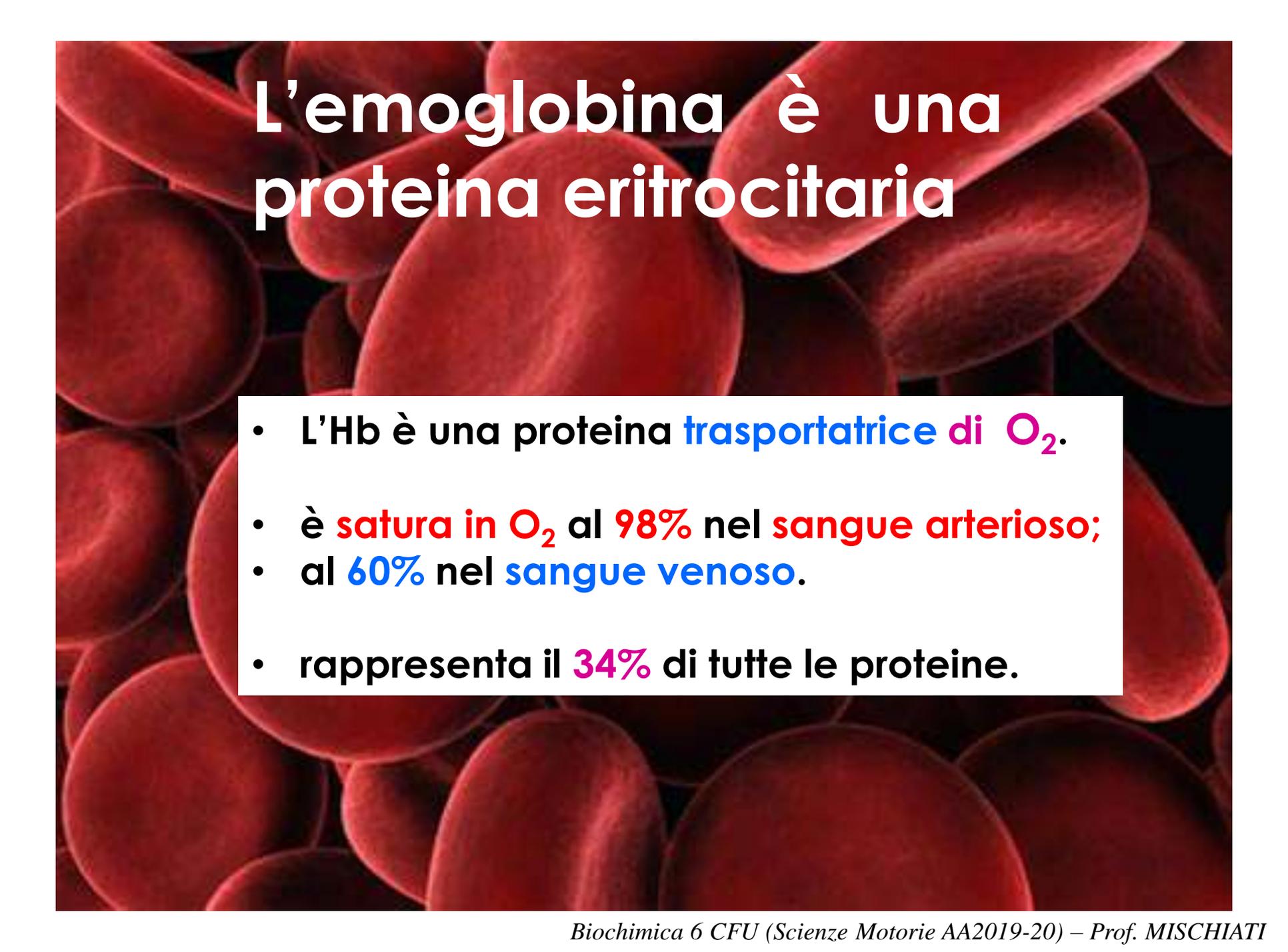
La **curva di legame** dell'**O₂** alla **mioglobina** è un'**iperbole rettangolare**. Il legame della Mb all'O₂ è insensibile a piccole variazioni della [O₂] disciolto (curva iperbolica). **Funziona bene per il deposito**, trattiene cioè l'O₂ e lo **cede**, per la respirazione cellulare (catabolismo ossidativo), **solo quando la [O₂] citoplasmatica è molto bassa**.

La **frazione di siti di legame mioglobinici occupati dall'ossigeno** (θ) è riportata in funzione della **pO₂**, pressione parziale di ossigeno presente nell'aria in contatto con la soluzione.

$$P_{50} = 0.26 \text{ kPa}$$

Mioglobina cede la metà dell'O₂ legato a 0.26 kPa pO₂



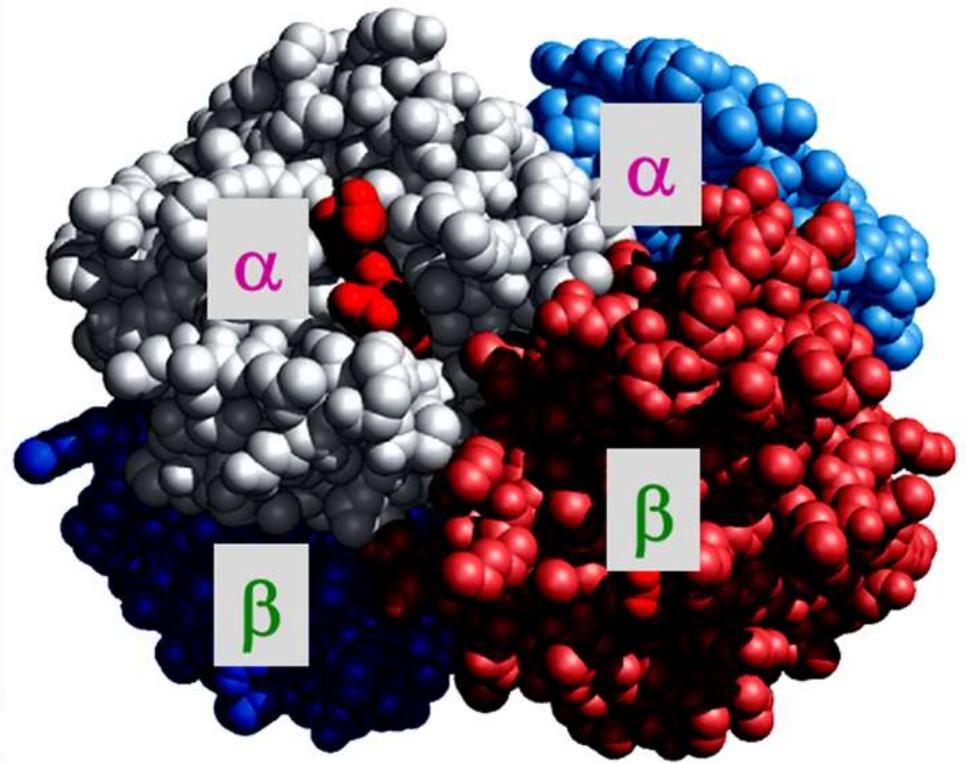
A microscopic view of numerous red blood cells, which are biconcave discs, filling the frame. The cells are a deep red color and are set against a dark background. The lighting highlights the texture and shape of the cells, creating a sense of depth and focus.

L'emoglobina è una proteina eritrocitaria

- L'Hb è una proteina **trasportatrice di O_2** .
- è **satura in O_2 al 98%** nel **sangue arterioso**;
- al **60%** nel **sangue venoso**.
- rappresenta il **34%** di tutte le proteine.

L'emoglobina

- è una proteina **multimerica** formata da **4 subunità (monomeri)**, ognuna costituita da **una catena peptidica** e da **un gruppo eme**.
- le catene proteiche si chiamano **globine** (di due tipi: **globina α** e **globina β** , di 141 e 146 aa) e formano un **tetramero $\alpha_2\beta_2$** nell'HbA (A=adulto)

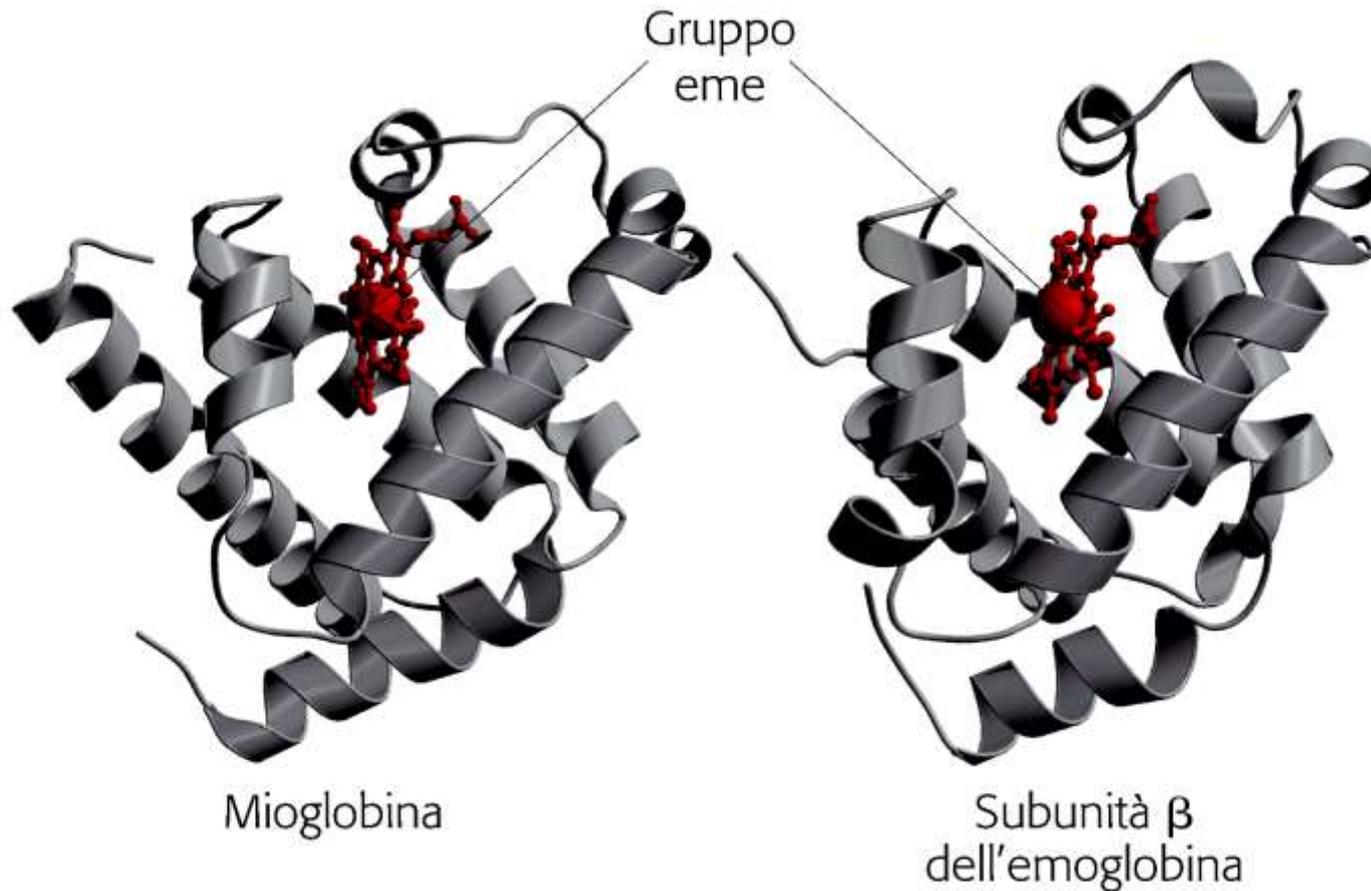


HbA

HbA2

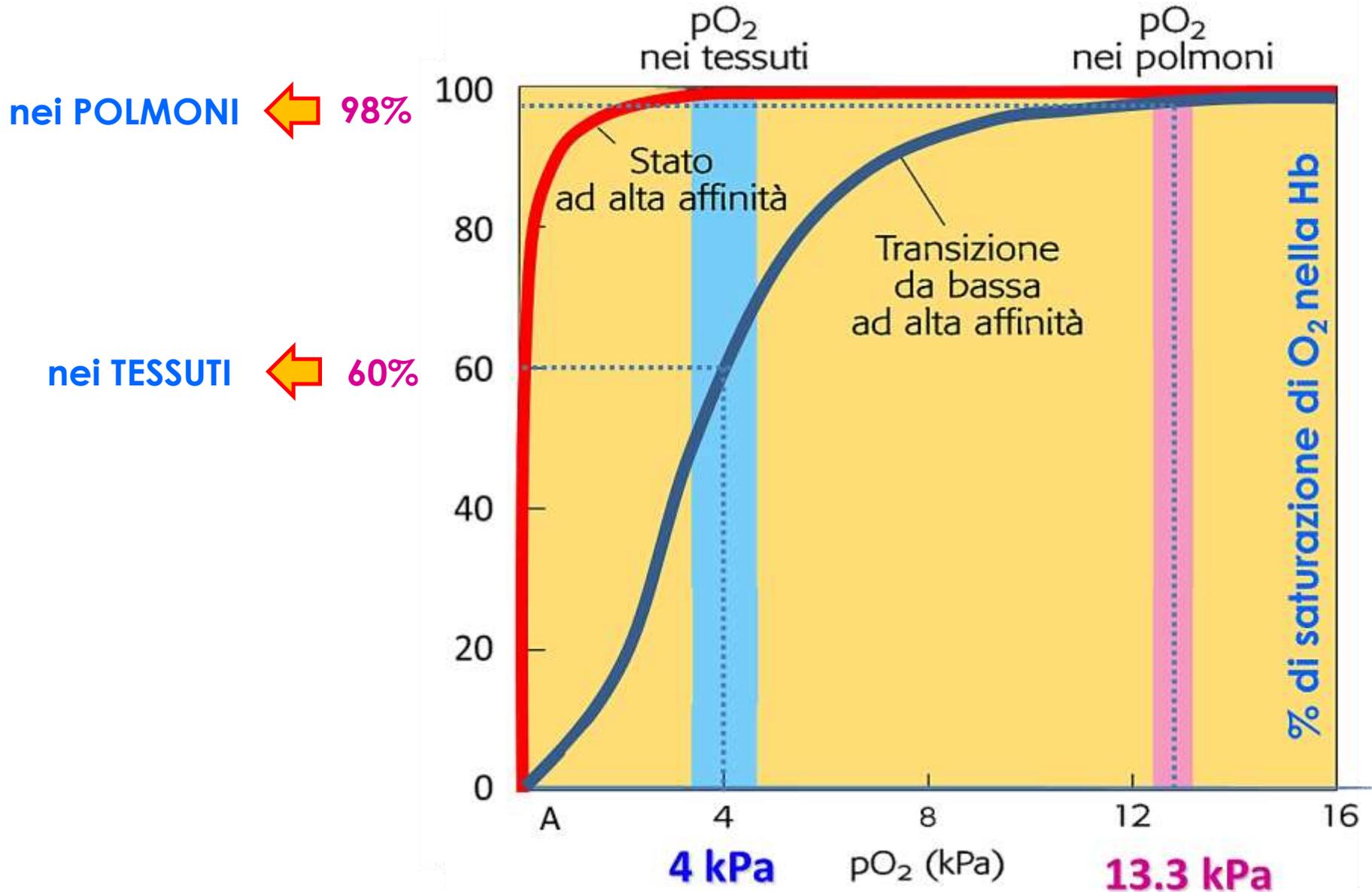
HbF

La **Mioglobina ed un monomero dell'emoglobina hanno strutture tridimensionali molto simili**



Strutture simili ma differente affinità per l'O₂

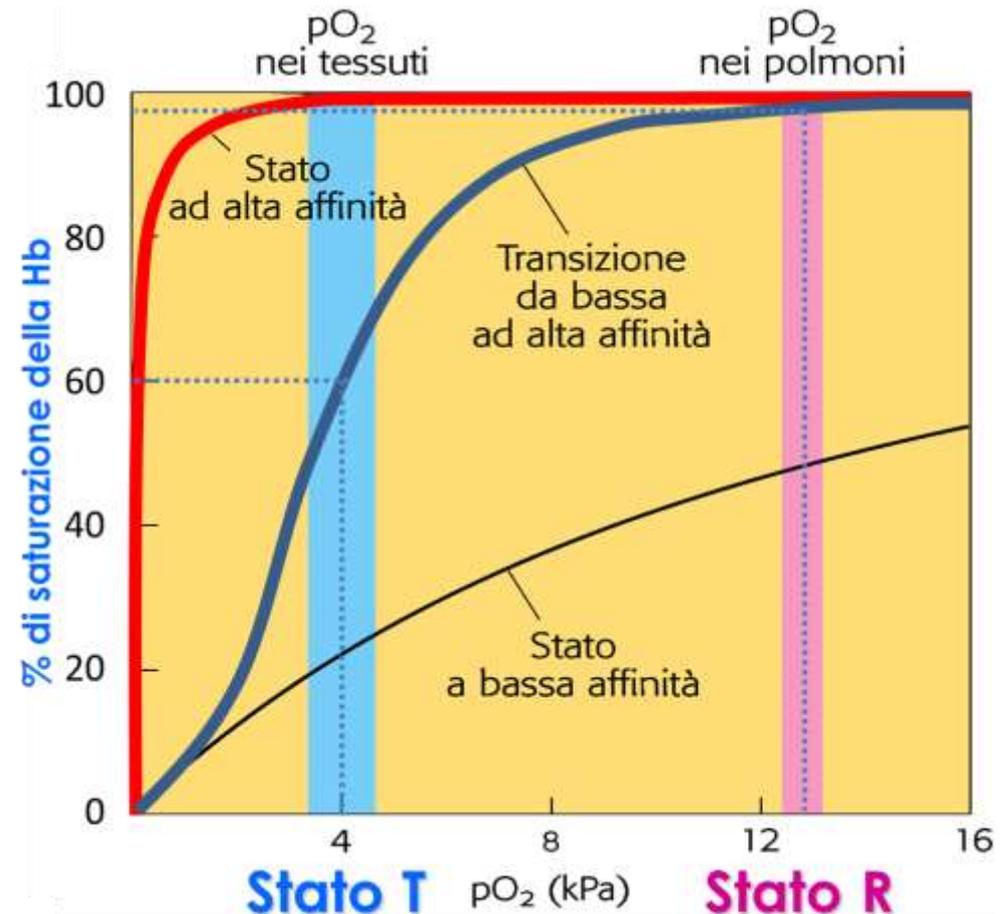
La curva di saturazione dell'O₂ alla Hb è sigmoide

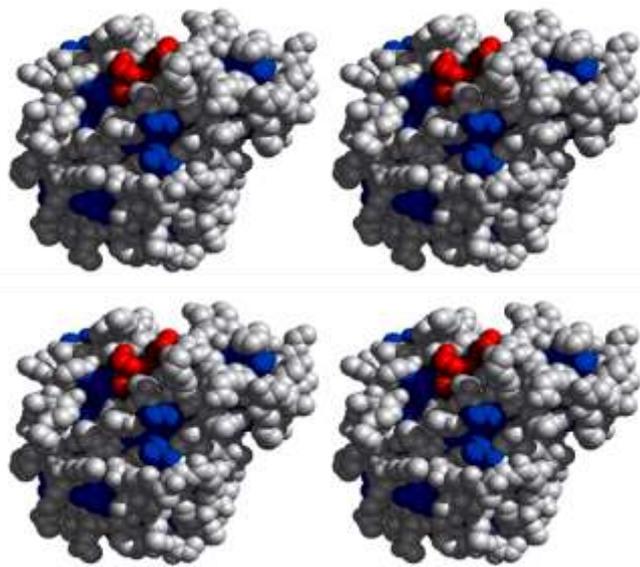


l'Hb esiste in due conformazioni con diversa affinità per l'O₂ (stato T ed R).

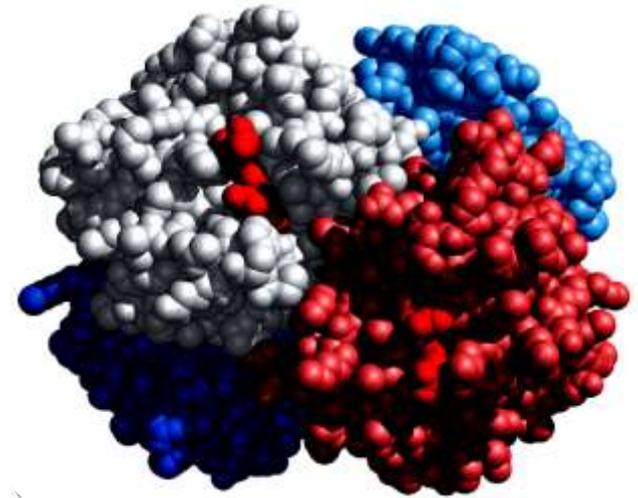
Hb lega l'O₂ nei polmoni (stato R, ad alta affinità) e lo rilascia nei tessuti (stato T, a bassa affinità)

NB se l'Hb esistesse solo nello stato ad alta affinità si caricherebbe bene di O₂ nei polmoni ma non lo rilascerebbe nei tessuti.



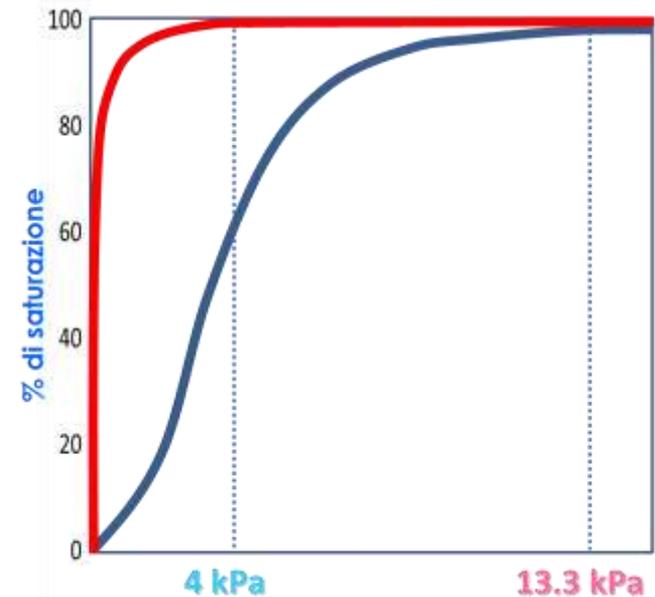


4 Mb \neq 1 Hb



Le diverse curve di saturazione della **Hb** e **Mb** con l'O₂ indicano che *il tetramero Hb non si comporta come se fosse formato da 4 subunità indipendenti* (cioè come se fosse formato da 4 subunità di **Mb**)

Le subunità della Hb collaborano per legare l'O₂:
effetto cooperativo

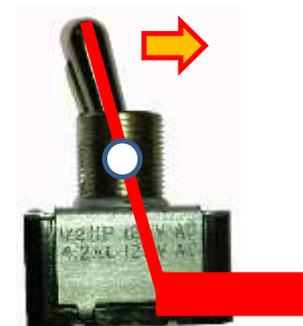
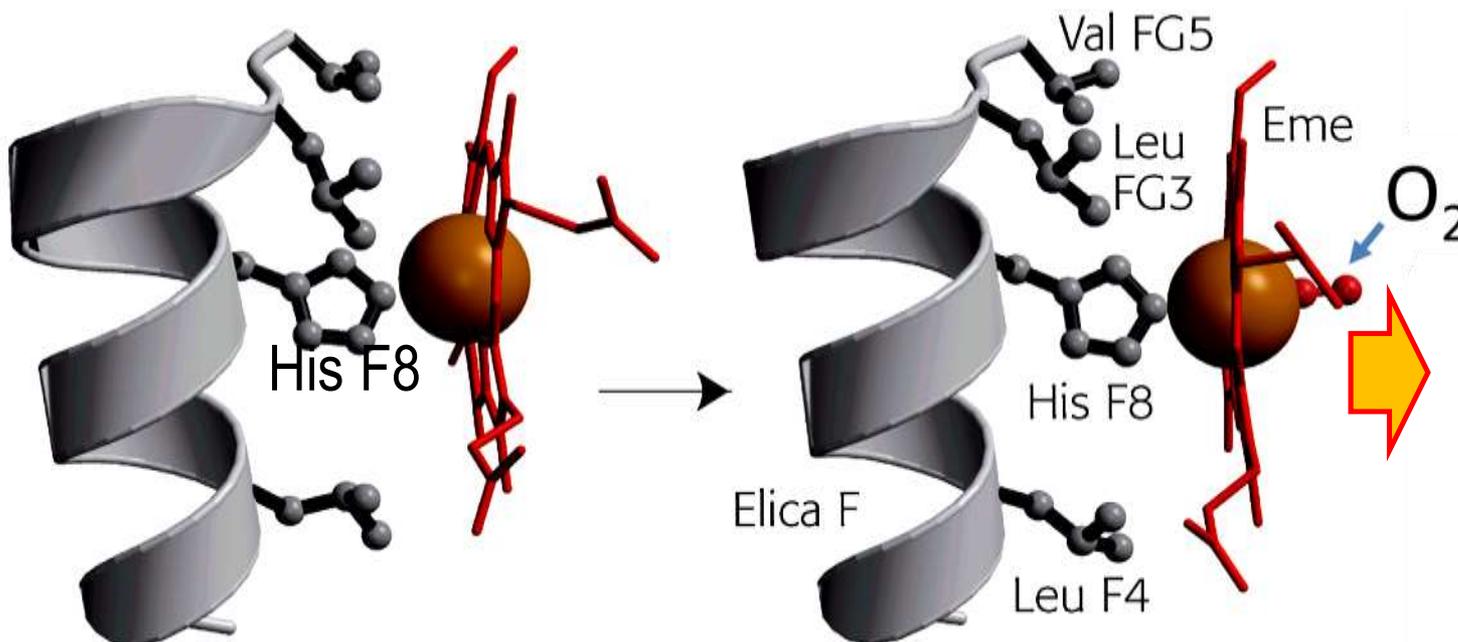


- Hb curva sigmoide
- Mb iperbole

Il legame con l'Ossigeno (fase di caricamento)

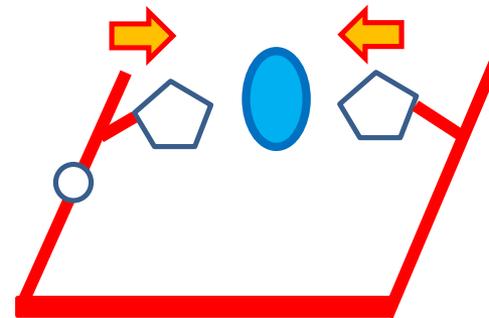
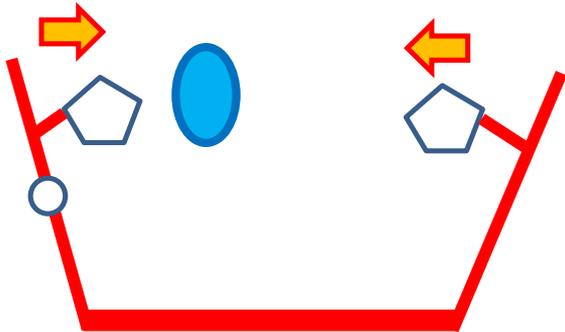
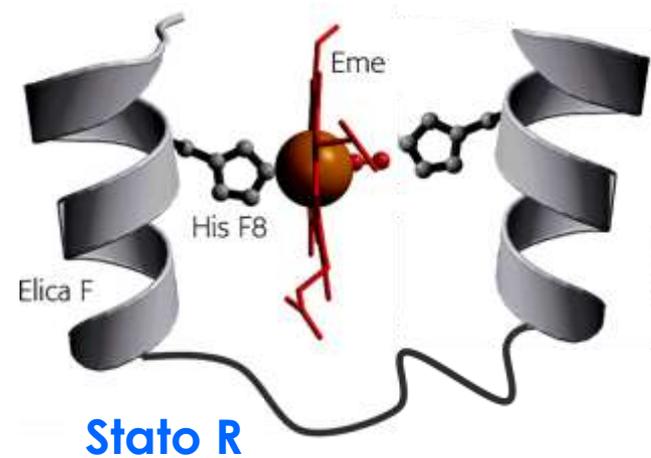
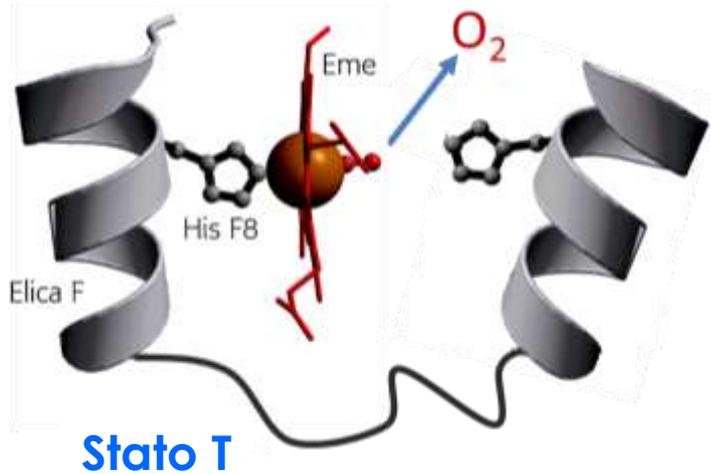
la **struttura della globina** in vicinanza del **gruppo eme** cambia conformazione in seguito al **legame con l'ossigeno**.

Nello stato T la porfirina ha una forma a cupola (il **Fe** protrude verso l'**His F8**); in seguito al legame con l' O_2 , l'**eme** diventa **planare** e **trascina l'His F8** e quindi **l'elica F**: questo spostamento innesca un effetto domino che porta alla **transizione da T a R** (nel polmone) che stabilizza l'interazione con l'ossigeno.

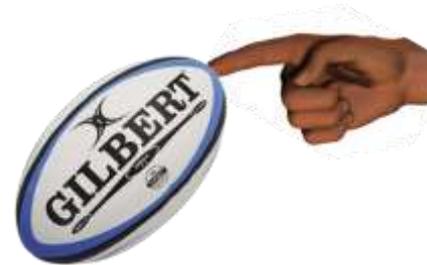


O₂: interruttore molecolare che determina il cambiamento della struttura della Hb

Nei polmoni

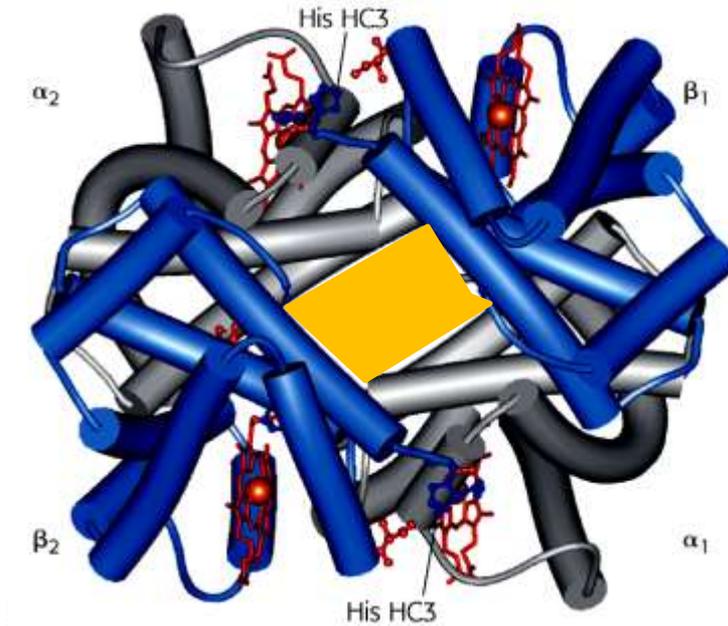


→ Le modificazioni strutturali in ciascun monomero modificano anche la struttura del tetramero

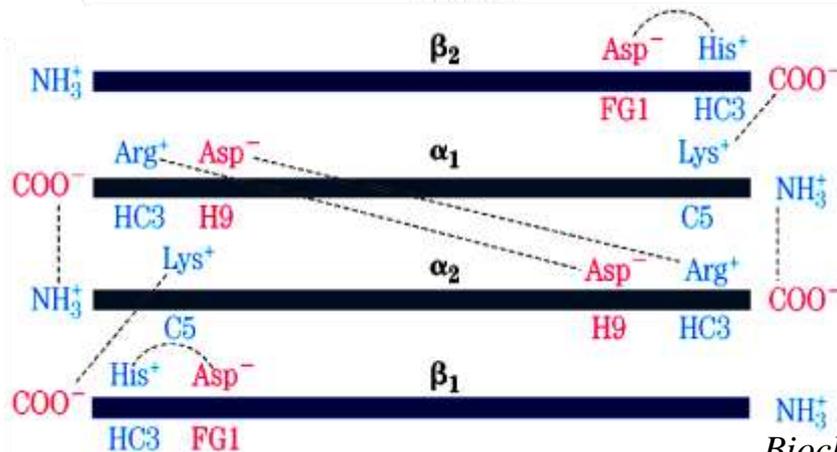
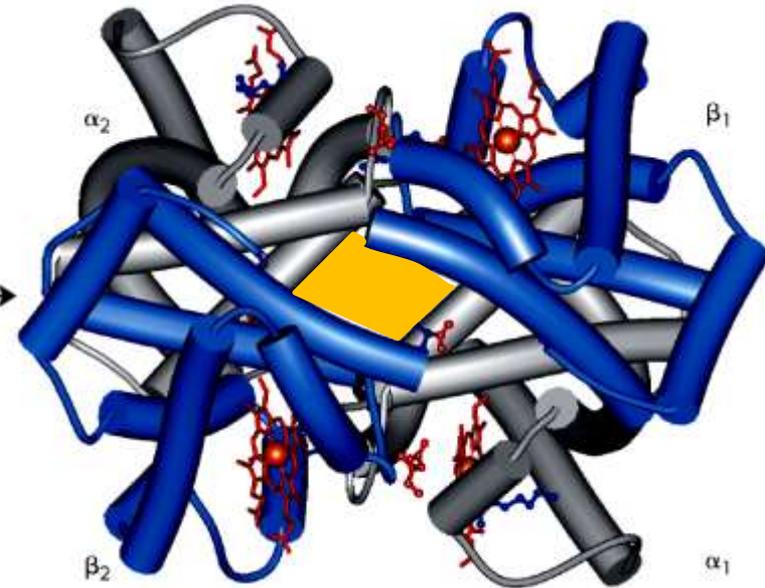


Analizzando la struttura della proteina (tetramero) → Il legame con l'O₂ modifica la struttura da T a R

Stato T, deossiHb



Stato R, ossiHb



nella transizione dallo stato **T** a **R** si perdono alcuni legami salini (His HC3 C-terminali delle catene β si liberano da legami elettrostatici, ruotano verso il centro, restringendo la tasca tra le subunità β).

Perché nei tessuti l'O₂ viene rilasciato?

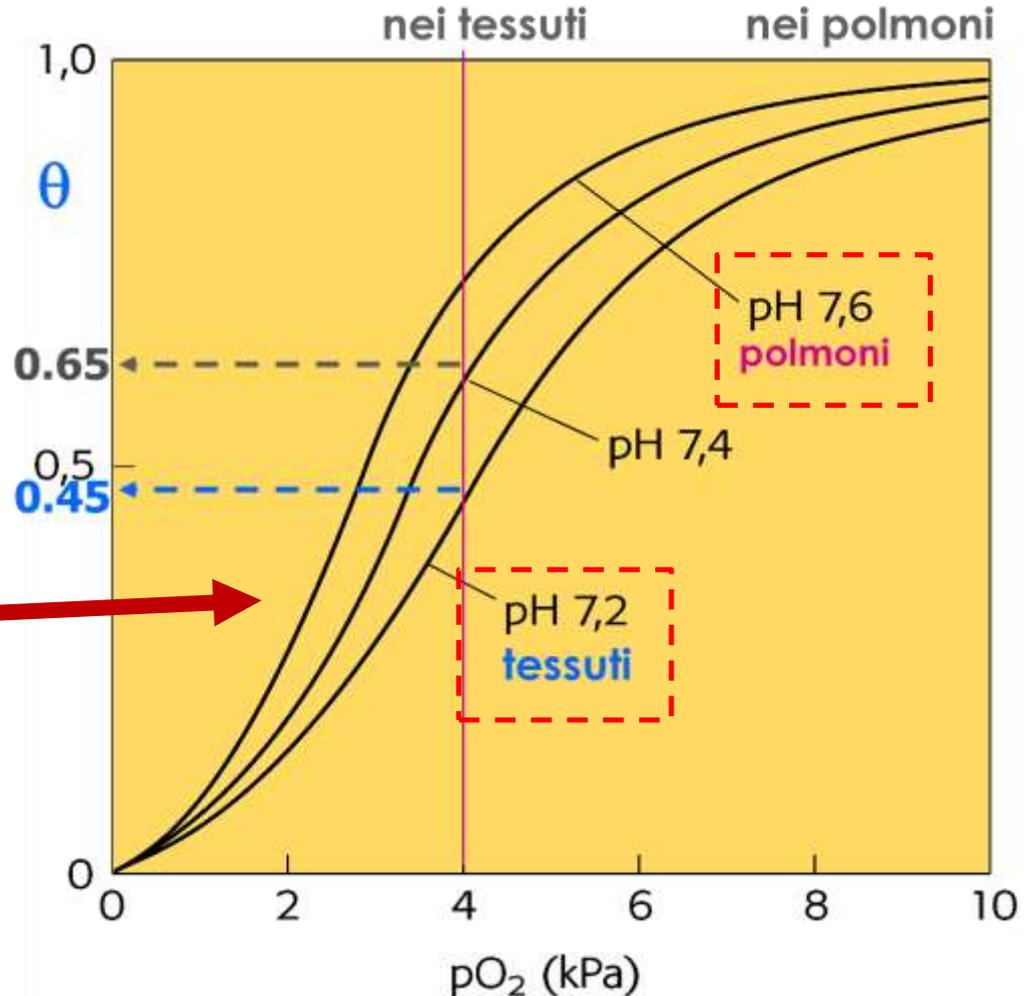
EFFETTO BOHR

Il **pH acido** presente nei tessuti a causa del loro metabolismo **consente il rilascio dell'ossigeno** dall'Hb.

nei tessuti periferici il pH scende (da 7,6 a 7.2)

si riduce l'affinità per l'O₂

Effetto del pH

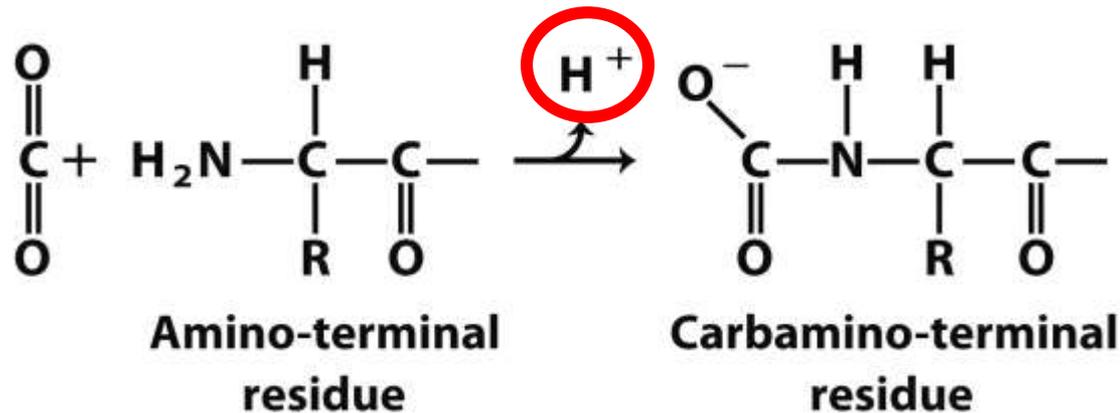


La CO₂ prodotta dal metabolismo nei tessuti determina l'abbassamento di pH nei globuli rossi

La CO₂ (prodotta dal metabolismo ossidativo cellulare: **ciclo di Krebs**) esce dai tessuti e diffonde nel sangue dove entra nei globuli rossi

Nei globuli rossi:

(a) Una piccola parte si lega all'Hb come **carbammato**.



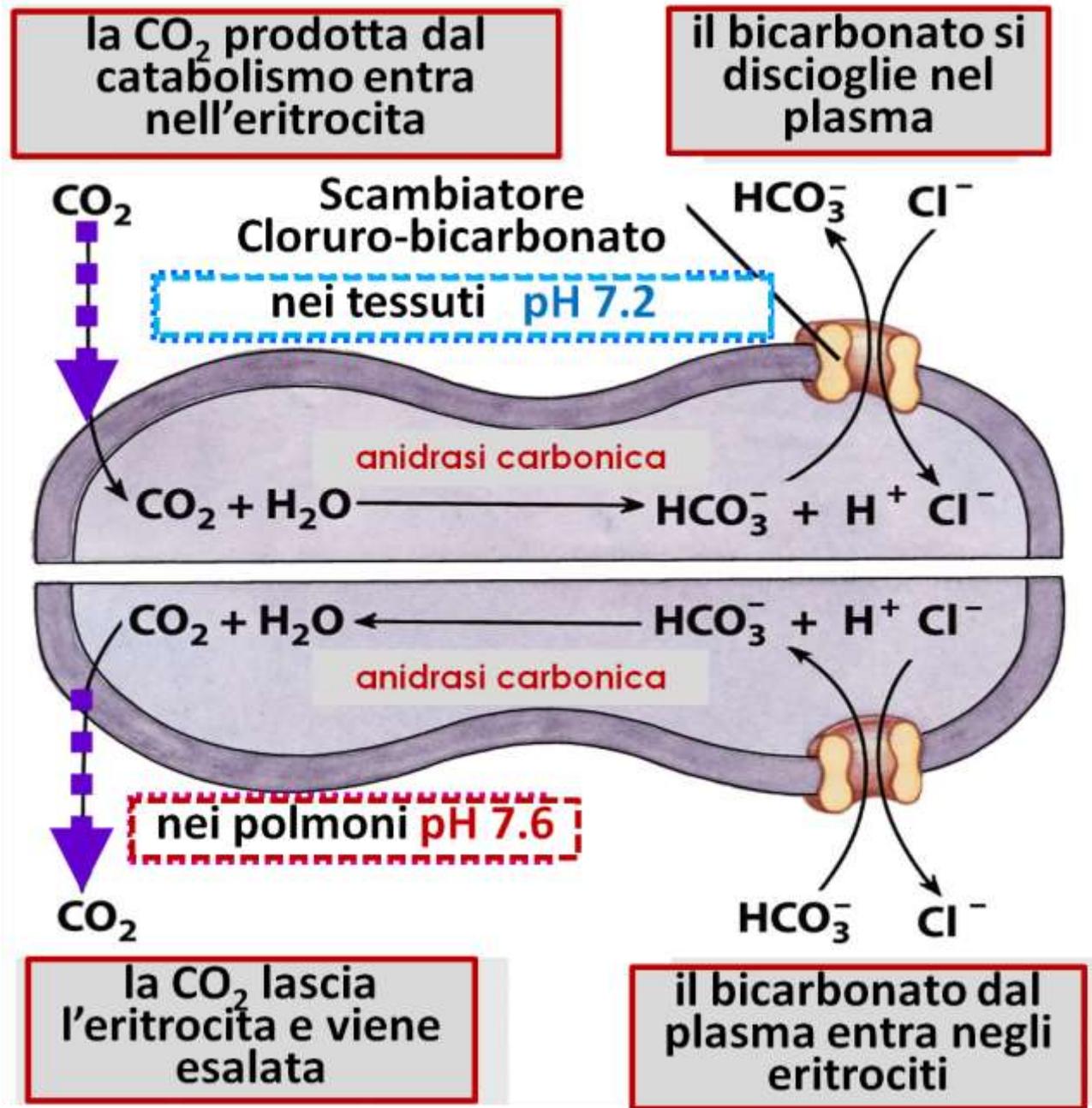
(b) ... ma soprattutto viene idratata a bicarbonato.



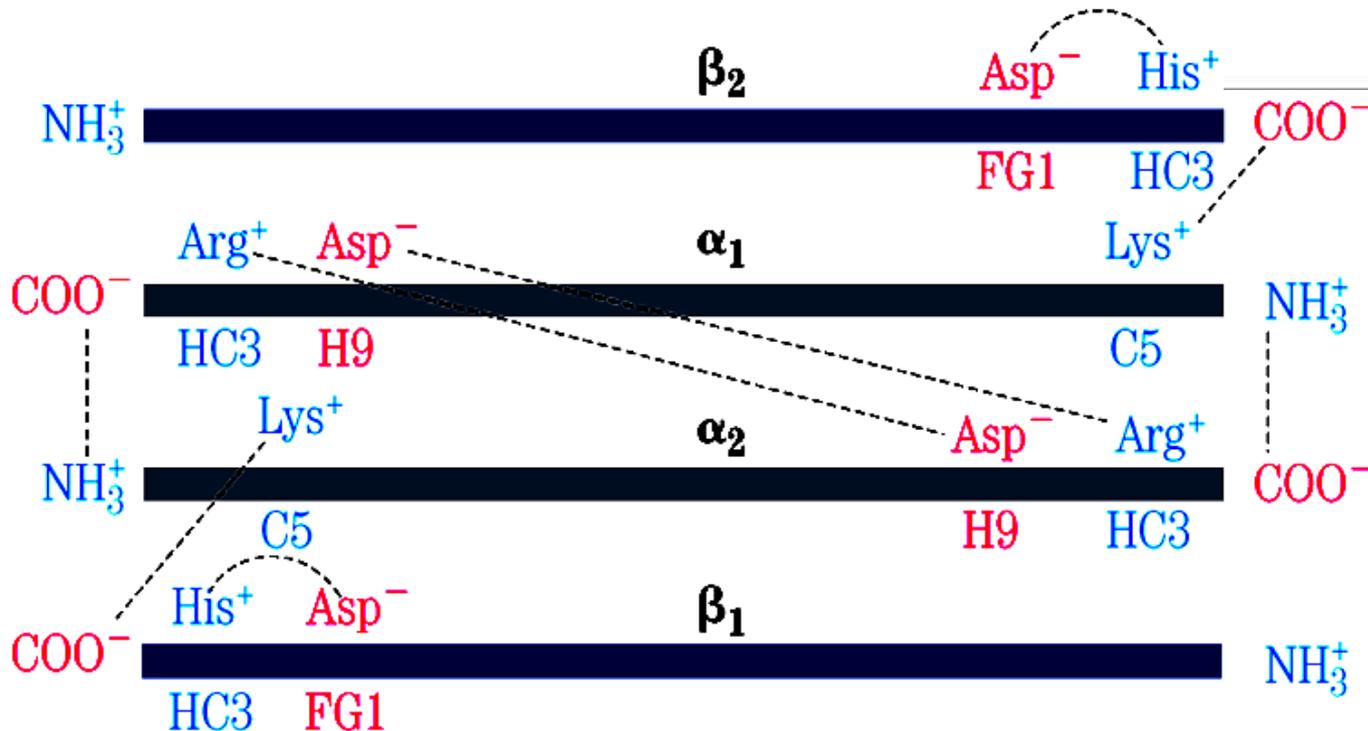
Scambiatore cloruro-bicarbonato della membrana eritrocitaria.

Questo cotrasporto permette l'entrata e l'uscita di HCO_3^- senza modificare il potenziale di membrana

↓
aumenta la quantità di CO_2 trasportata dal sangue.

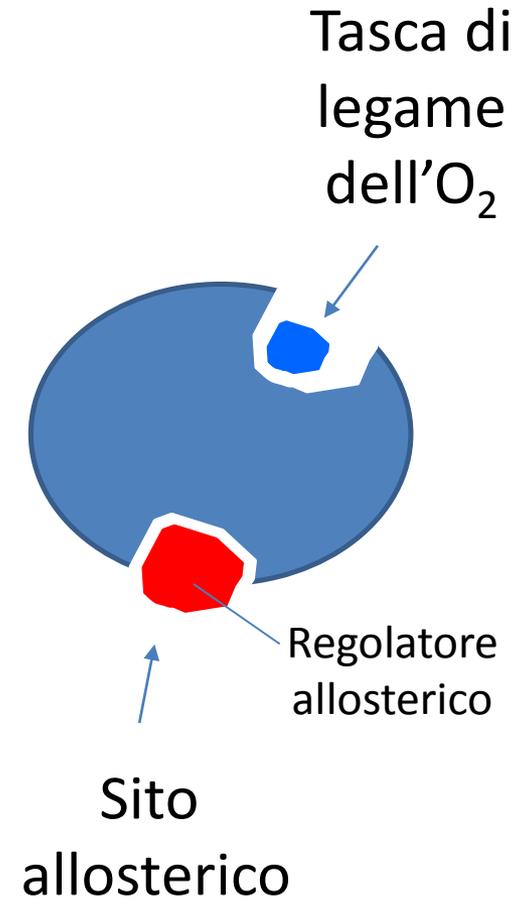


Nei tessuti: gli H^+ prodotti si legano alle catene laterali degli aa dell'Hb e innescano le modifiche della sua struttura ($R \rightarrow T$) ed il rilascio di O_2



l'Hb è una proteina **allosterica**

Regolatore allosterico: è una molecola che **si lega ad un sito della proteina** e **innesca modificazioni conformazionali** che si trasmettono nella struttura della proteina e **che modificano l'attività di un altro sito** (anche lontano) della proteina.



Perché nei tessuti l'O₂ viene rilasciato?

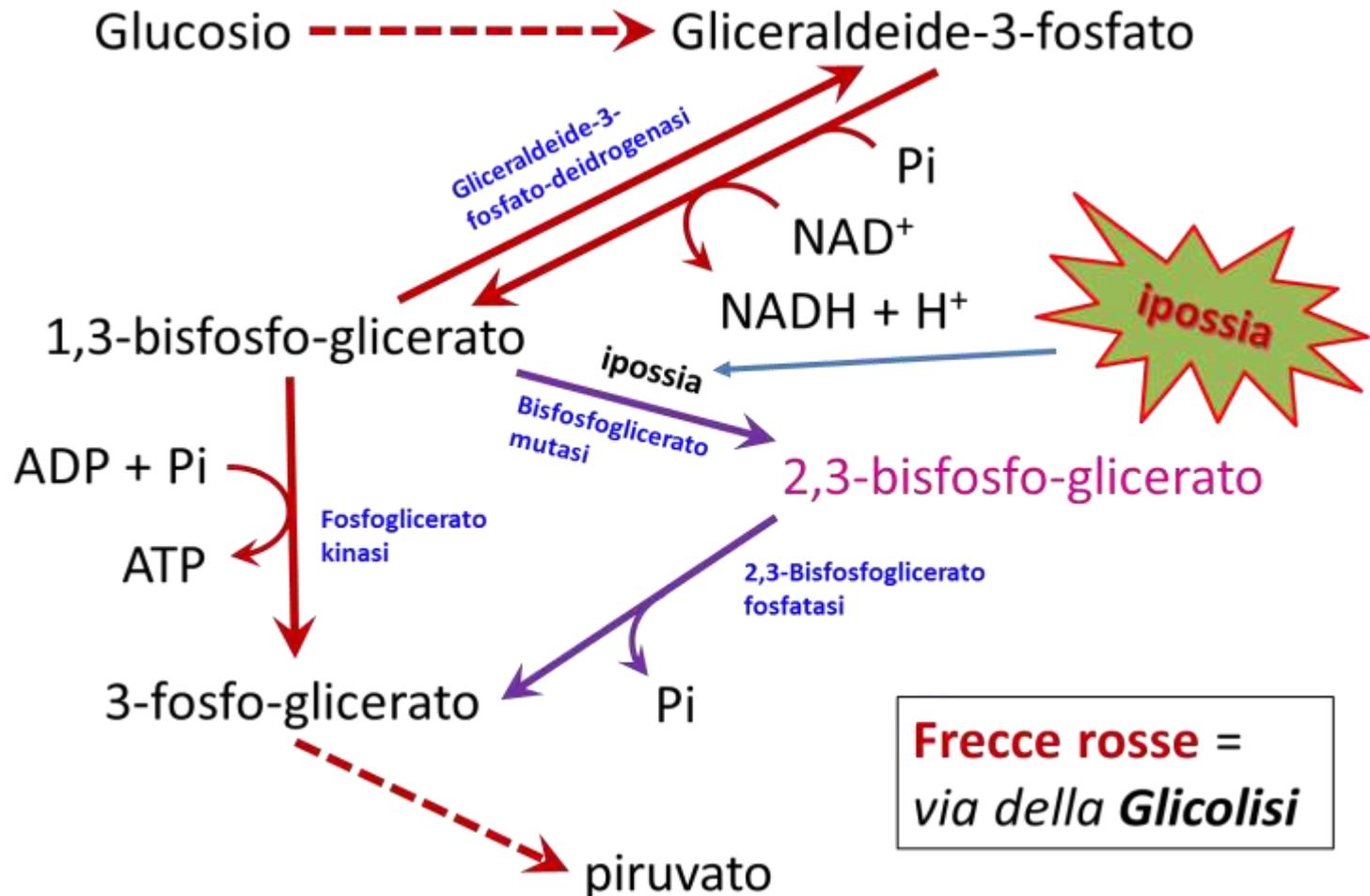
Effetto del BPG

Il 2,3-bisfosfoglicerato (BPG) è un regolatore allosterico dell'Hb

**Importante per gli sport di montagna
permette l'adattamento all'alta quota
(aria rarefatta)**

Il **2,3-bisfosfoglicerato (BPG)** è presente in quantità elevata nei globuli rossi (**5 mM**), ma trascurabile negli altri tessuti.

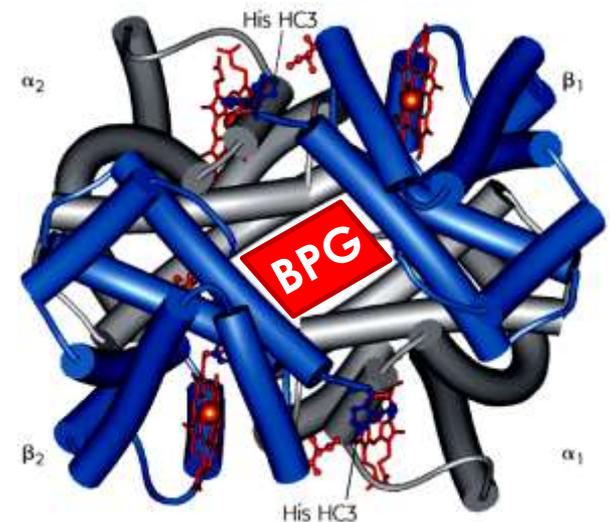
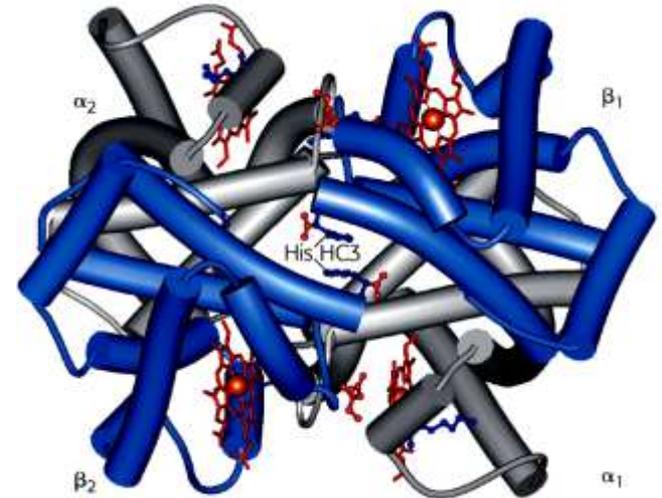
Il **BPG** deriva da un ramo accessorio della glicolisi



Il **60% delle molecole di emoglobina non rilascia l'O₂** a livello tissutale cioè è ancora carico di O₂ (è nella forma R) dopo il transito nei tessuti

Il legame del **BPG** nella **cavità centrale tra le subunità β dell'Hb** la **allarga consentendo** ad una ulteriore quota di molecole di Hb di **passare dalla forma R alla forma T** (meccanismo di **regolazione allosterica**)

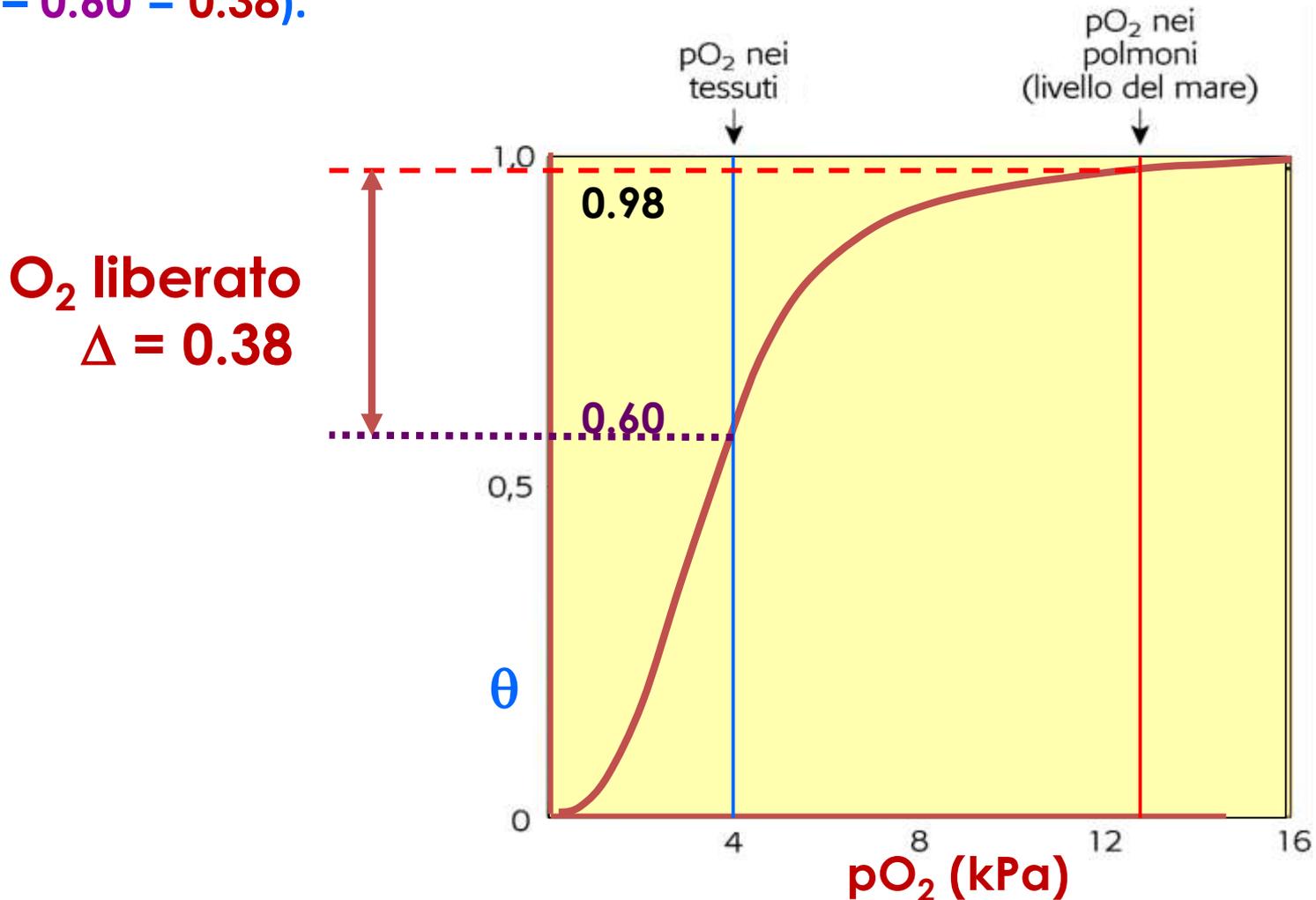
⇒ permette cioè di **rilasciare dalla Hb una ulteriore quota di O₂**



A livello del mare (5 mM BPG) → 13,3 kPa

l'Hb lega il 98% di O₂ nei polmoni e il 60% nei tessuti.

La quota di O₂ rilasciata è il 38% del totale legato all'Hb (0.98 – 0.60 = 0.38).



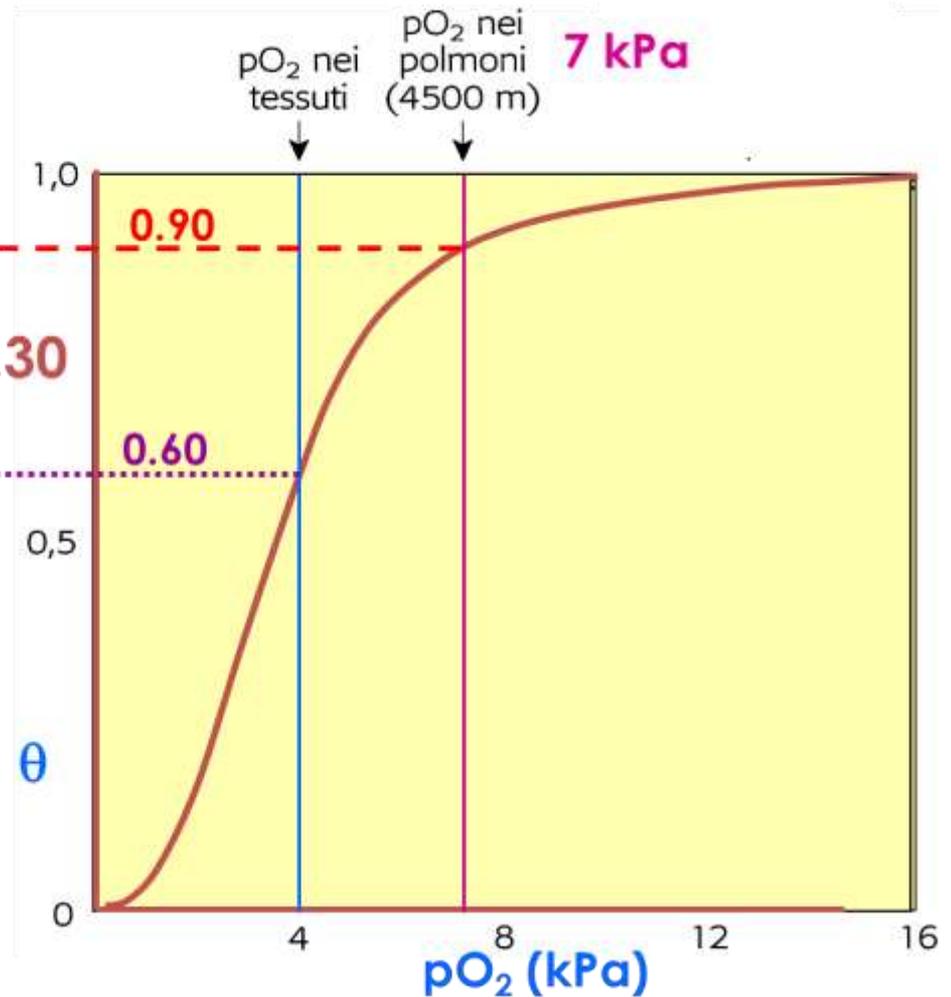
A 4500 metri di altitudine

la pO_2 dei polmoni scende a **7 kPa**.

O_2 liberato $\Delta 0.30$

Nei polmoni si lega solo il **90%** di O_2 (e non il 98% come a livello del mare).

La frazione di O_2 rilasciata ai tessuti scende dal 38% al 30%.



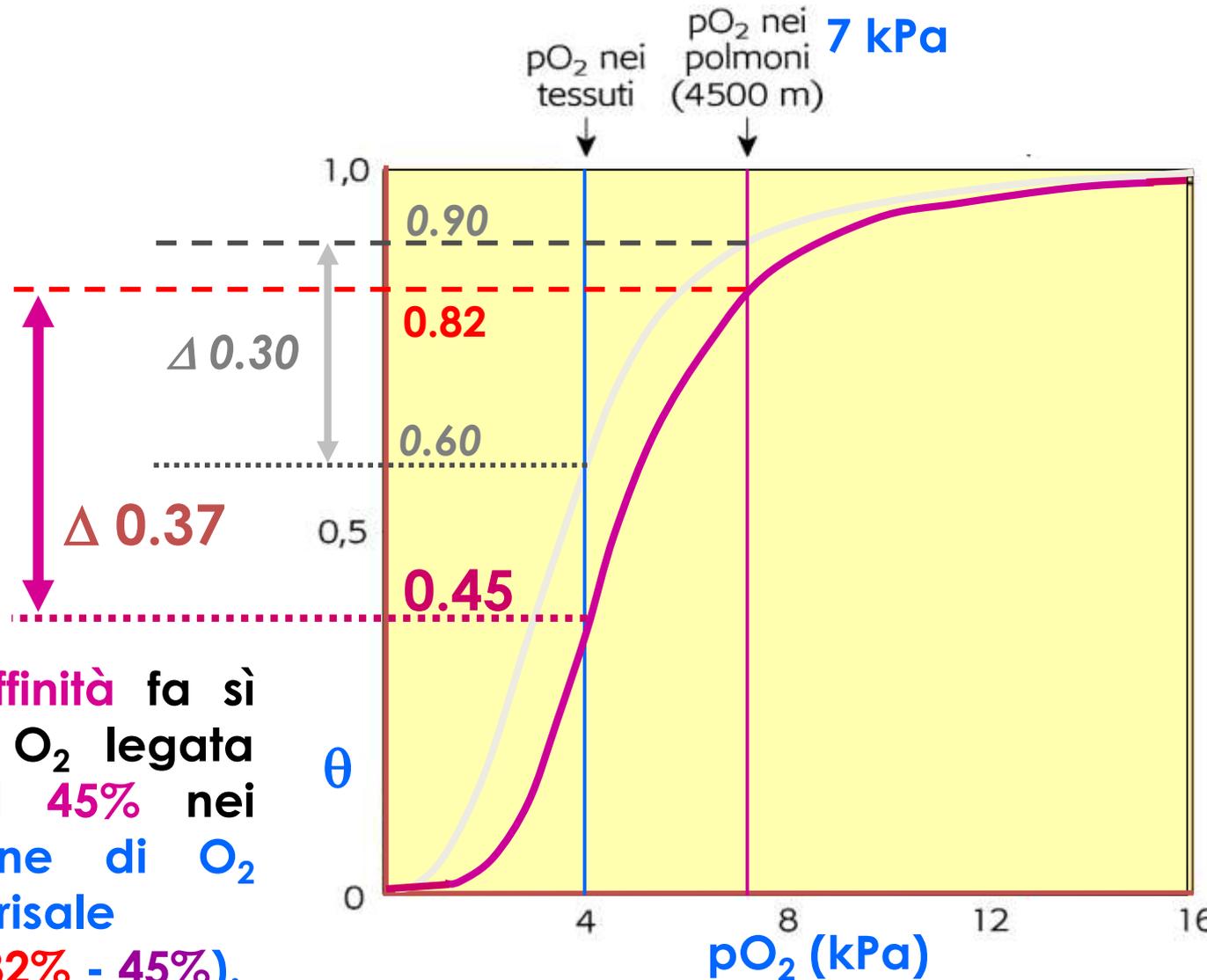
Alcune ore dopo la concentrazione eritrocitaria di **BPG** aumenta da **5 mM** a **8 mM**

.... la concentrazione eritrocitaria di **BPG** aumenta da **5 mM a 8 mM**, spostando la curva di legame verso destra (in rosa) in quanto il BPG riduce l'affinità dell'Hb per l'ossigeno.

In presenza di **8 mM BPG**, nei polmoni si lega solo l' **82%** di O_2 (e non il **98%** come a livello del mare, oppure il **90%** come in presenza di **5 mM BPG**).

O_2 liberato $\Delta 0.37$

La **riduzione di affinità** fa sì che la quota di O_2 legata all'Hb scenda al **45%** nei tessuti. La frazione di O_2 rilasciata ai tessuti risale (dal **30%**) al **37%** (**82% - 45%**).



Materiale didattico di supporto

- Materiale delle lezioni sarà reperibile nel minisito dell'insegnamento; esso è utile come traccia degli argomenti svolti, ma non sostituisce il libro di testo
- Piattaforma on line Moodle: approfondimenti e test di autovalutazione

Raccomandazione importante: Il materiale delle lezioni è per USO PERSONALE dello studente iscritto al corso di Biochimica per le Scienze Motorie UniFE ed è fatto divieto di diffonderlo in qualsiasi maniera, potendo contenere immagini/filmati per i quali valgono i diritti di copyright.

