

ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ

Π.ΜΟΥΤΣΑΤΣΟΥ

ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ ΚΛΙΝΙΚΗΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ-ΙΑΤΡΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ , ΕΚΠΑ

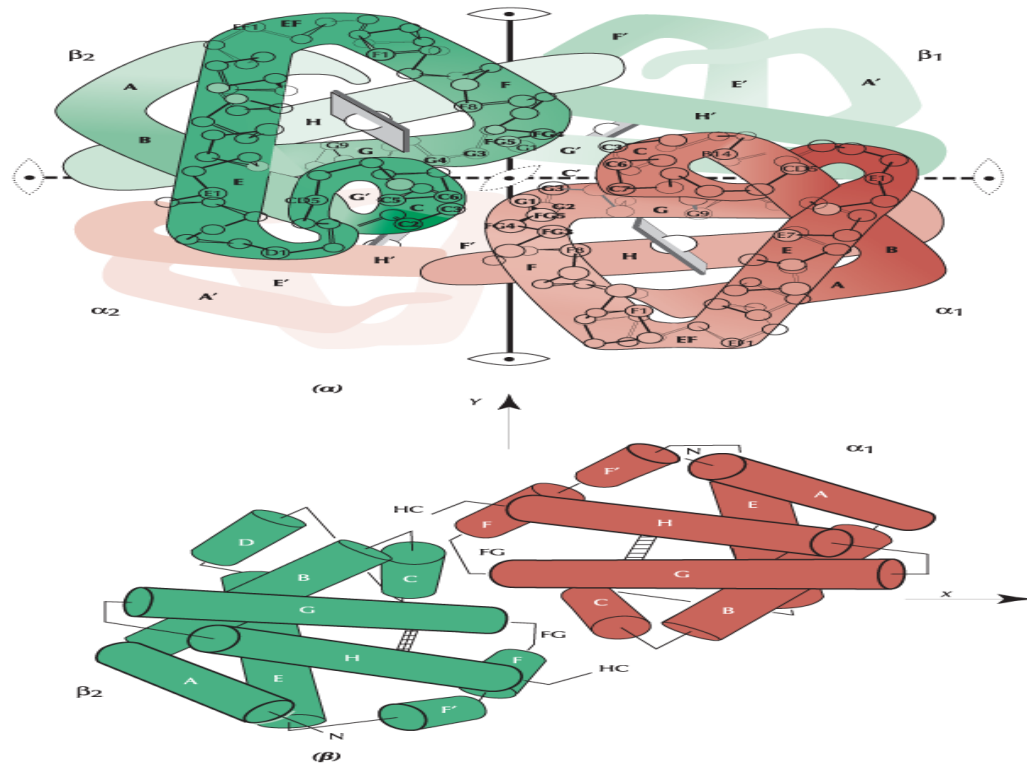
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

Προσδένει και μεταφέρει O_2 στους ιστούς

ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

Προσδένει και αποθηκεύει O_2 στους ιστούς

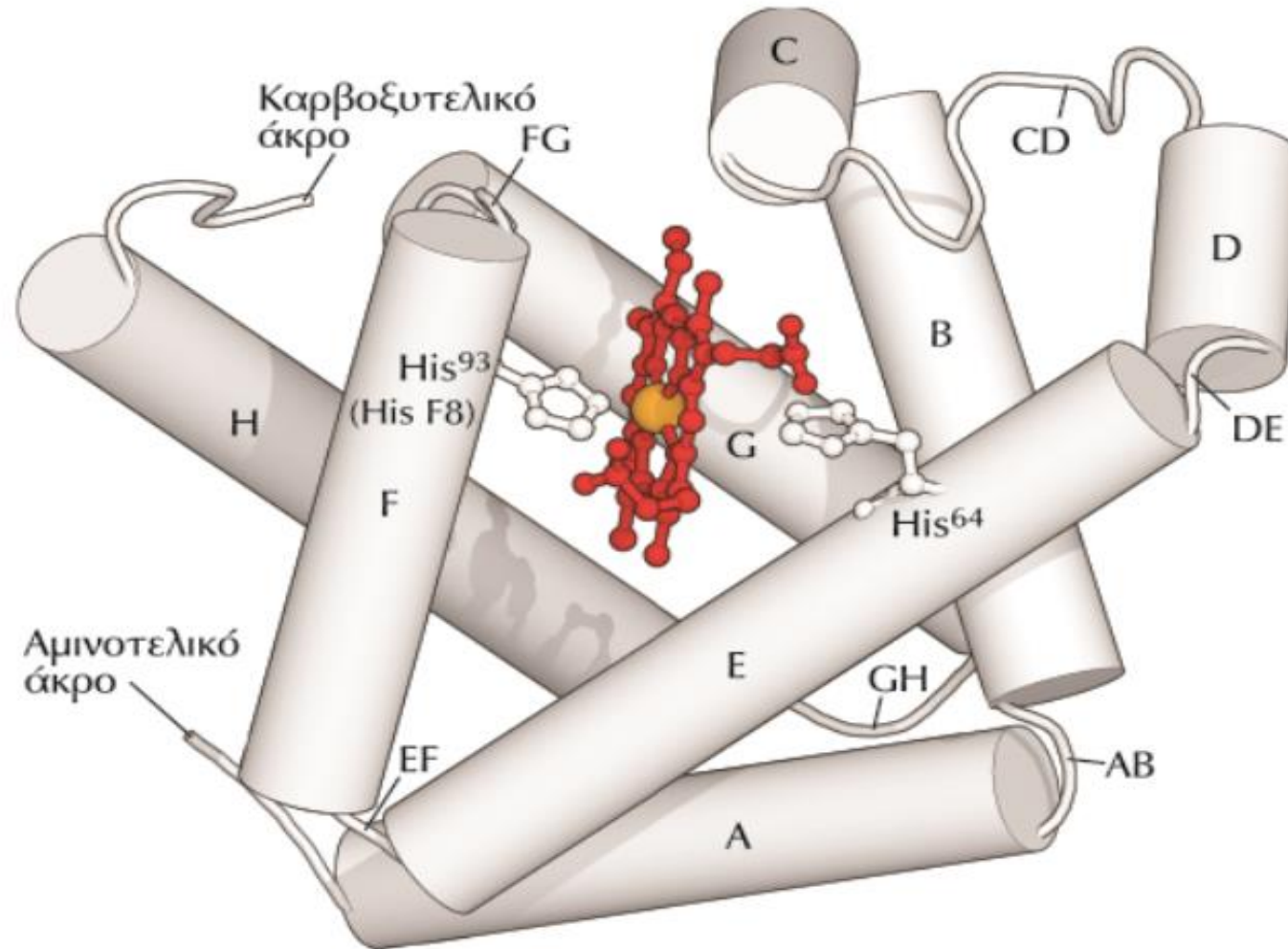
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ



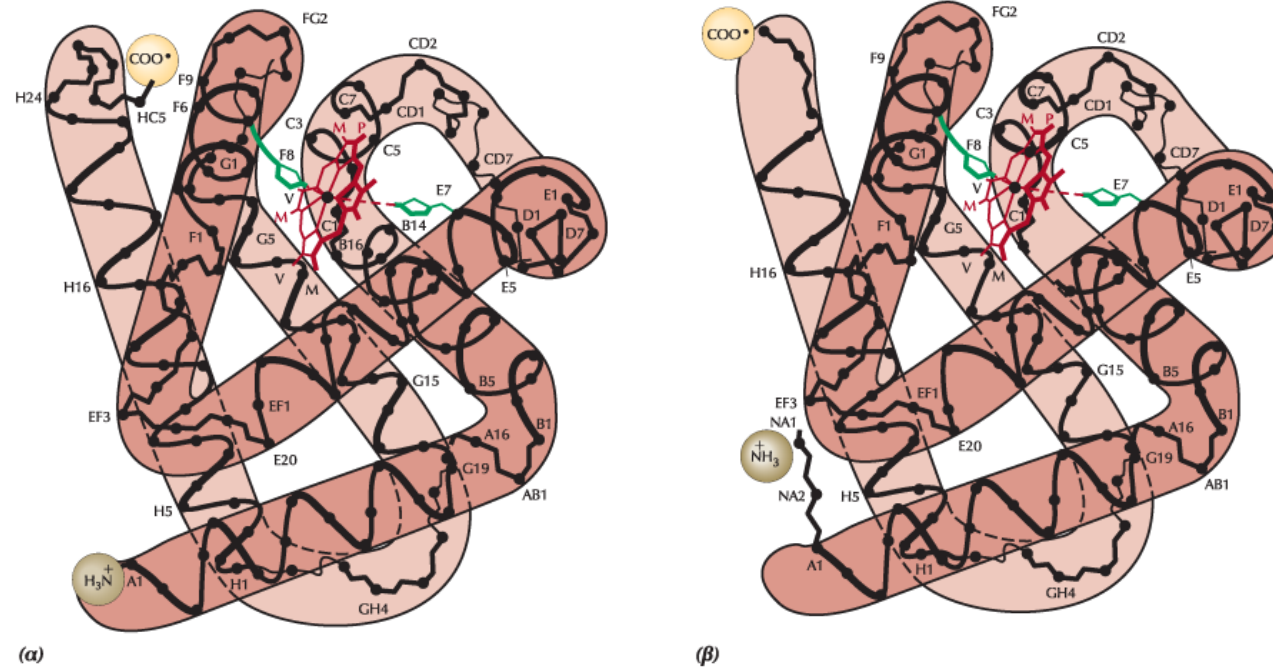
ΕΙΚΟΝΑ 9.26

Τεταρτοταγής δομή της αιμοσφαιρίνης που δείχνει τις αλληλεπιδράσεις της γωνίας FG με την C-έλικα, εγκάρσια της α_1 - β_2 επιφάνειας. (α) φαίνονται οι επαφές της α_1 - β_2 επιφάνειας μεταξύ των γωνιών FG και της C-έλικας. (β) κυλινδρική αναπαράσταση των υπομονάδων α_1 και β_2 της αιμοσφαιρίνης που δείχνει τις επαφές της α_1 και β_2 επιφάνειας μεταξύ της γωνίας FG και της C-έλικας, όπως φαίνεται από την αντίθετη πλευρά του επιπέδου x-y από το (α). (Το μέρος (α) ανατυπώθηκε με σχετική άδεια από το Dickerson, R. E., and Geis, I. The Structure and Action of Proteins, Menlo Park, CA: Benjamin, 1969, p. 56. Το μέρος (β) ανατυπώθηκε με σχετική άδεια από το Baldwin, J., and Chothia, C. *J. Mol. Biol.* 129:175, 1979).

ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ

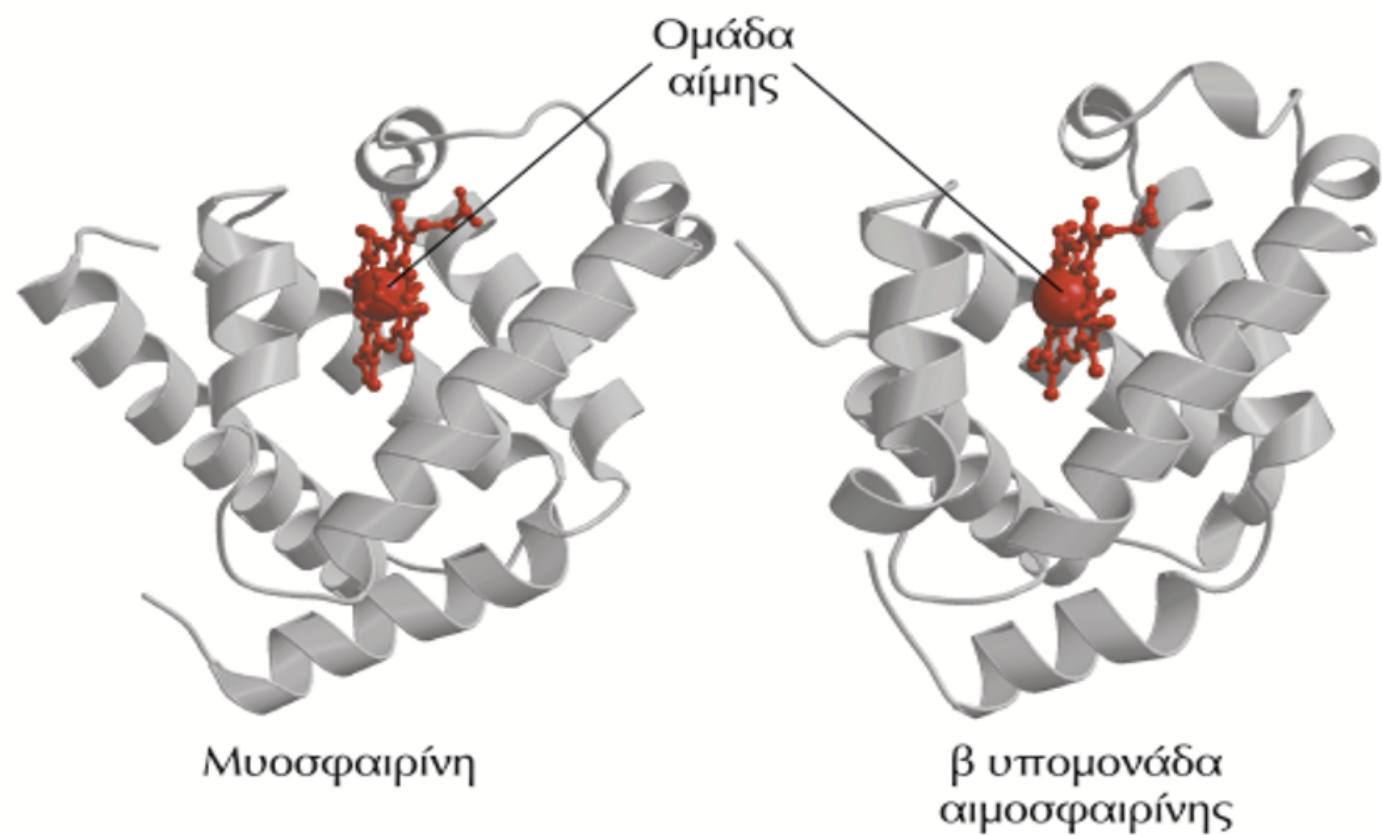


ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗ - ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ



ΕΙΚΟΝΑ 9.22

Σύγκριση της χωροδιάταξης (α) της μυοσφαιρίνης και (β) της β αλυσίδας της HbA₁. Οι συνολικές δομές είναι αρκετά παρόμοιες, εκτός των NH₂ και COOH-τελικών άκρων. (Ανατύπωση, κατόπιν αδείας, από: Fersht, A. *Enzyme Structure and Mechanism*. San Francisco: Freeman, 1977, pp. 12, 13).



ΕΙΚΟΝΑ 5-6 Σύγκριση των δομών της μιοσφαιρίνης και της β υπομονάδας της αιμοσφαιρίνης [Πηγές: (αριστερά) PDB ID 1MBO, S. E. Phillips, *J Mol. Biol.* 142:531, 1980. (Δεξιά) Προήλθε από PDB ID 1HGA, R. Liddington et al., *J. Mol Biol.* 228:551, 1992].

• **ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ**

- Προσδένει , εκτός του οξυγόνου, και άλλα μόρια σε διάφορες περιοχές του μορίου της με συνέπεια σημαντικές αλλαγές στην δομή της και τελικά τροποποίηση της λειτουργίας της
- Η λειτουργία της αιμοσφαιρίνης εξαρτάται από την αντιστρεπτή πρόσδεση μορίων (O_2 , H^+ , CO_2 , BPG)

ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΜΟΡΙΟΥ ΣΕ ΠΡΩΤΕΙΝΗ ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΤΗΝ ΔΟΜΗ ΚΑΙ ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΠΡΩΤΕΙΝΗΣ

- Κάθε μόριο που προσδέεται αντιστρεπτά καλείται πρόσδεμα (ligand)
- Το πρόσδεμα προσδέεται στην πρωτεΐνη στη θέση πρόσδεσης (binding site), που είναι συμπληρωματική με το πρόσδεμα (μέγεθος, σχήμα, φορτίο, υδρόφιλος ή υδρόφοβος χαρακτήρας)

• **ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΜΟΡΙΟΥ ΣΕ ΠΡΩΤΕΪΝΗ**

- Η πρόσδεση πρωτεΐνης-προσδέματος συνοδεύεται συχνά με αλλαγή στην διαμόρφωση της πρωτεΐνης (ακόμη και μετακίνηση αρκετών νανομέτρων) το οποίο οδηγεί στην ακόμη πιο σφιχτή πρόσδεση του προσδέματος ή την πρόσδεση περισσότερων προσδεμάτων (πχ η αιμοσφαιρίνη με το O_2), γνωστό ως επαγόμενη προσαρμογή
- Τα επιπρόσθετα προσδέματα προκαλούν μεταβολές στη διαμόρφωση της πρωτεΐνης που επηρεάζουν την πρόσδεση του πρώτου προσδέματος

- **ΠΡΟΣΔΕΣΗ ΜΟΡΙΟΥ ΣΕ ΠΡΩΤΕΙΝΗ**
- Ειδικά για τα ένζυμα, τα μόρια που συνδέονται με τα ένζυμα καλούνται υποστρώματα (αντί για προσδέματα) ενώ η θέση πρόσδεσης του προσδέματος καλείται καταλυτικό ή ενεργό κέντρο

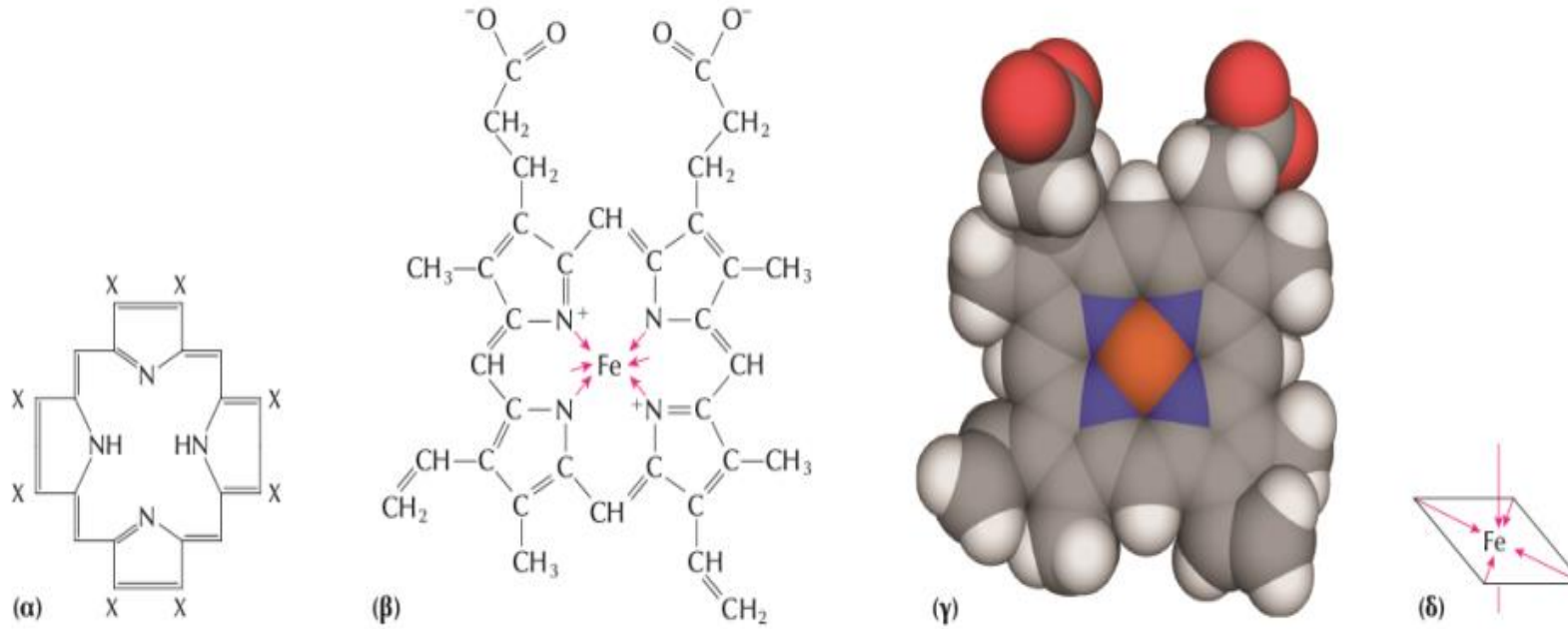
ΕΡΩΤΗΜΑ

ΓΙΑΤΙ ΕΠΙΛΕΧΘΗΚΕ Η ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΜΕΤΑΦΟΡΑ ΟΞΥΓΟΝΟΥ?

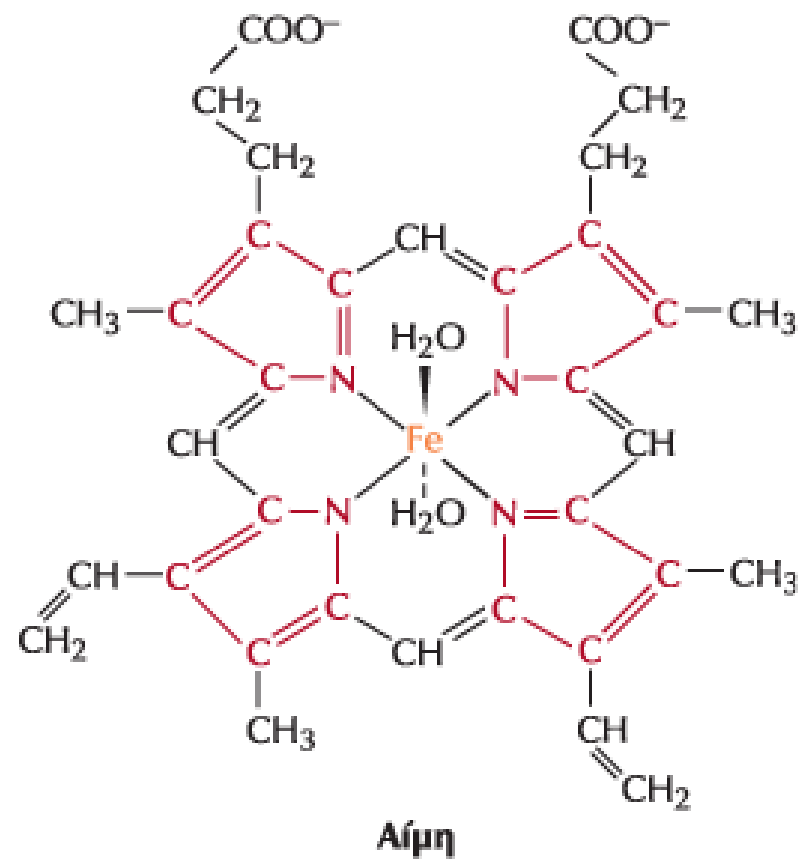
- Το οξυγόνο δεν είναι ευδιάλυτο σε υδατικά διαλύματα και δεν διαχέεται διαμέσου των ιστών
- Οι πρωτεΐνες δεν διαθέτουν αμινοξέα με πλευρικές αλυσίδες που να προσδένουν το O_2

- Μεταβατικά μέταλλα (Fe, Ca) προσδένουν O_2 (ισχυρή τάση)
- Ο ελεύθερος σίδηρος είναι πολύ δραστικός και προάγει τη δημιουργία ριζών O_2 (OH) που καταστρέφουν το DNA και άλλα μακρομόρια
- Ο σίδηρος στην αίμη (Fe^{2+}) απομονώνεται από το περιβάλλον και είναι λιγότερο δραστικός

Η ΑΙΜΗ

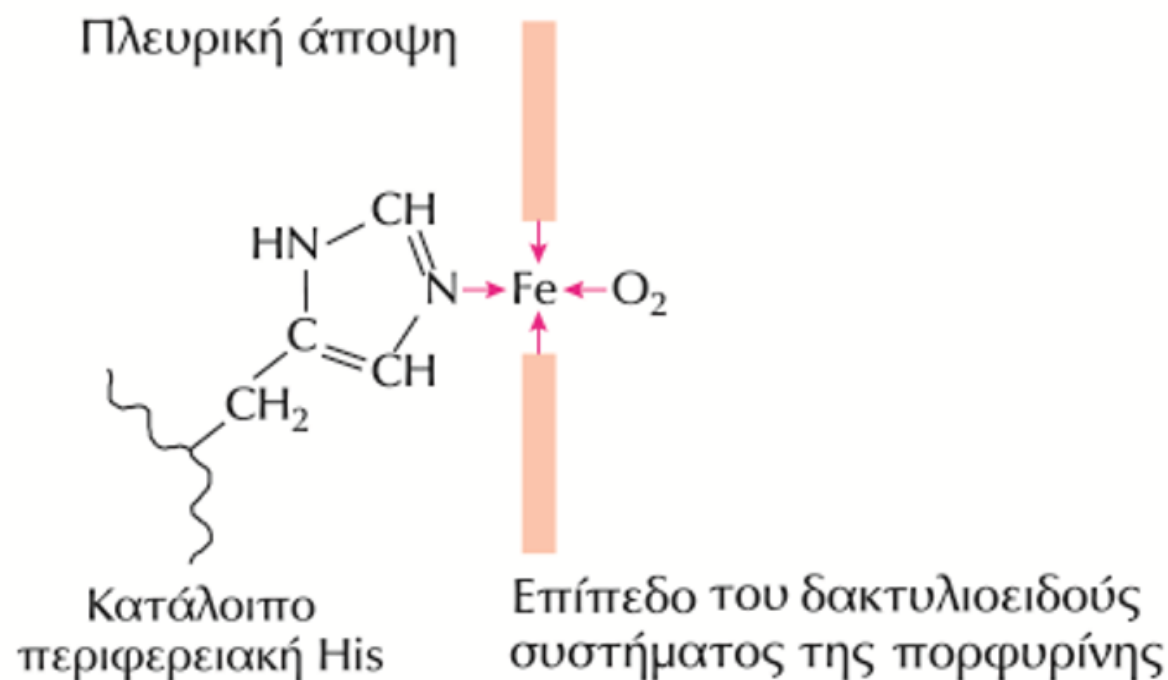


ΕΙΚΟΝΑ 5-1 Αίμη. Η ομάδα της αίμης υπάρχει στη μυοσφαιρίνη, στην αιμοσφαιρίνη και σε πολλές άλλες πρωτεΐνες που αναφέρονται ως **πρωτεΐνες της αίμης**. Η αίμη αποτελείται από την πρωτοπορφυρίνη IX, μια περίπλοκη οργανική δακτυλιοειδή δομή, στην οποία προσδένεται ένα άτομο σιδήρου σε διαθενή κατάσταση (Fe^{2+}). (α) Οι πορφυρίνες, όπως η πρωτοπορφυρίνη IX, αποτελούνται από τέσσερις δακτυλίους πυρρόλης οι οποίοι συνδέονται με «γέφυρες» μεθενίου με υποκαταστάσεις σε μια ή περισσότερες από τις θέσεις που ορίζονται ως X. (β, γ) Δύο αναπαραστάσεις της αίμης. Το άτομο σιδήρου της αίμης έχει έξι δεσμούς συντονισμού: τέσσερις στο επίπεδο του δακτυλιοειδούς συστήματος της πορφυρίνης, συνδεδεμένους με την πορφυρίνη, και (δ) δύο κάθετους στο επίπεδο της πορφυρίνης. [Πηγή: Προέλευση αίμης: PDB ID 1CCR, H. Ochi et al., *J. Mol. Biol.* 166:407, 1983].

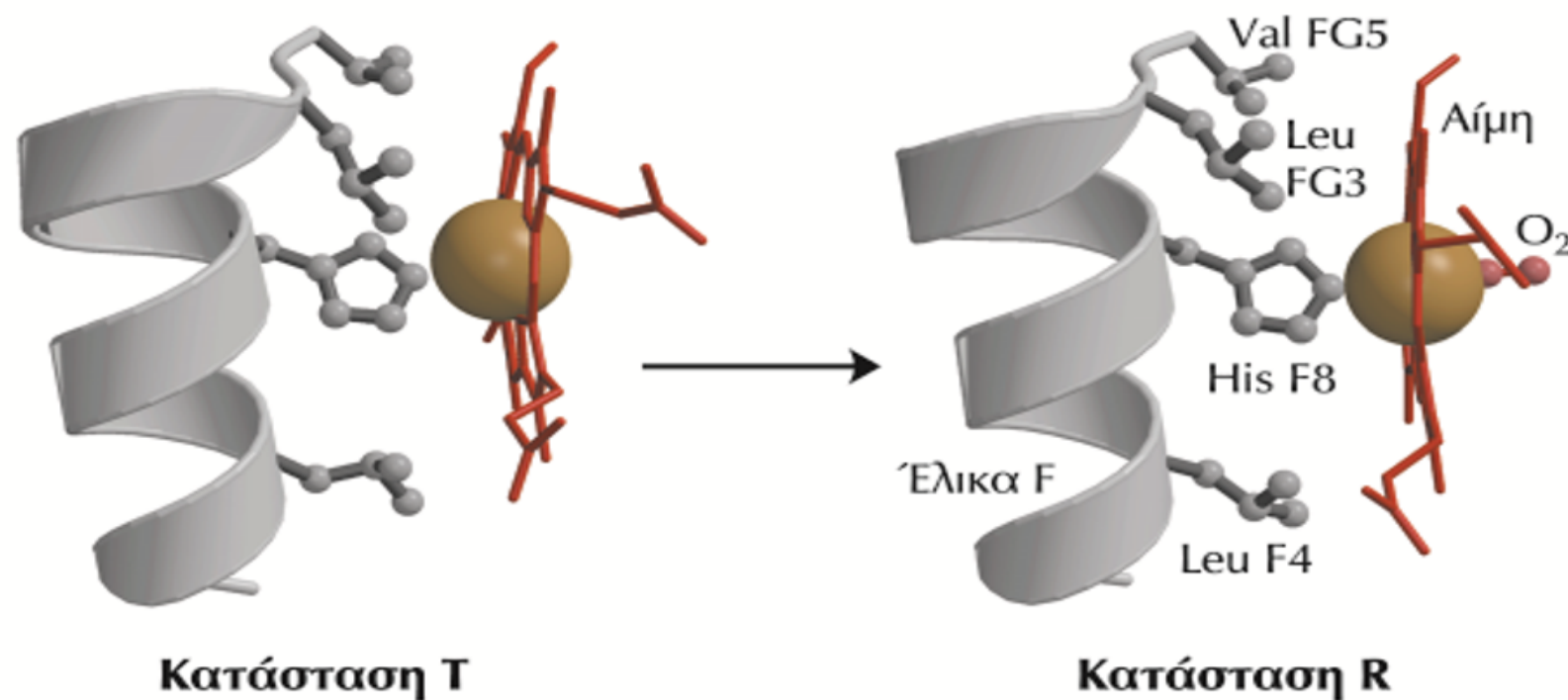


ΕΙΚΟΝΑ 9.19

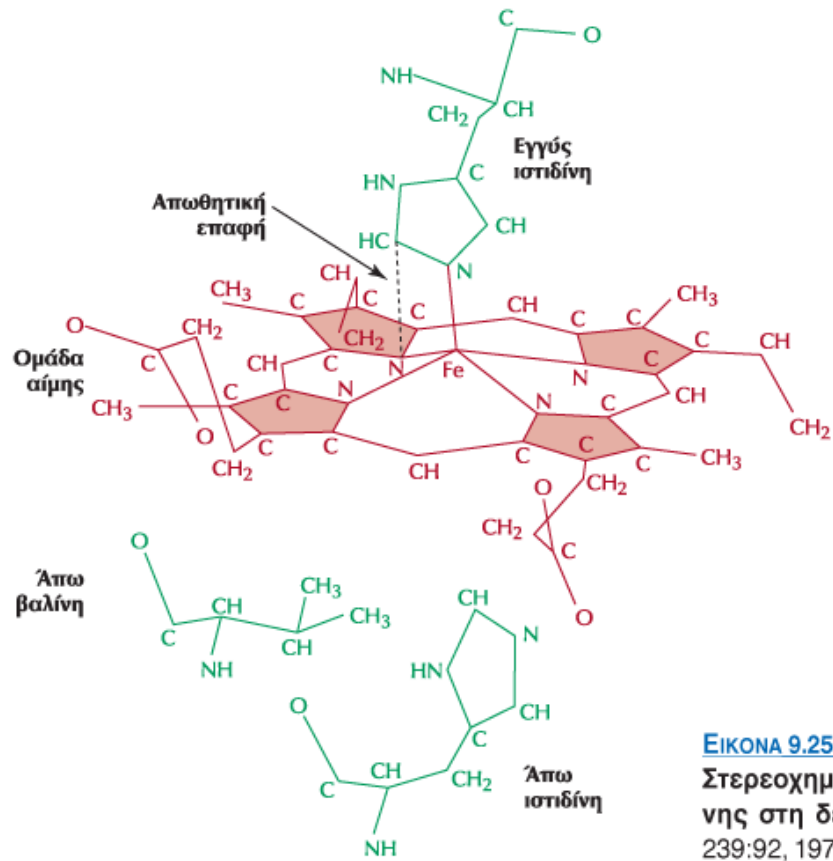
Δομή της αίμης.



ΕΙΚΟΝΑ 5-2 Πλευρική άποψη της ομάδας της αίμης. Φαίνονται οι δύο δεσμοί συντονισμού του Fe^{2+} που φέρονται κάθετα στο δακτυλιοειδές σύστημα της πορφυρίνης. Ο ένας από τους δύο δεσμούς είναι κατειλημμένος από ένα κατάλοιπο His που καλείται εγγύς His (proximal His) His93 στη μυοσφαιρίνη, το οποίο επίσης καλείται His F8 (το 8^ο κατάλοιπο στην έλικα F, βλ. Εικόνα 5-3), ενώ ο άλλος δεσμός είναι η θέση πρόσδεσης του οξυγόνου. Οι υπόλοιποι (4) δεσμοί συντονισμού βρίσκονται στο επίπεδο του δακτυλιοειδούς συστήματος της πορφυρίνης με το οποίο προσδέονται.

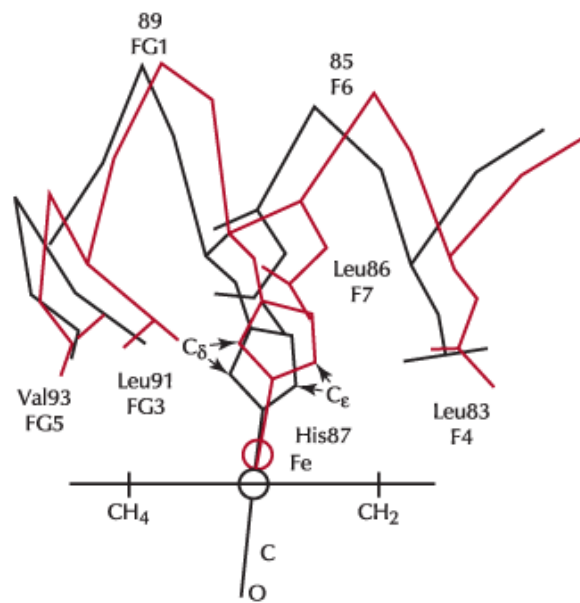


ΕΙΚΟΝΑ 5-11 Αλλαγές στη διαμόρφωση κοντά στην αίμη κατά την πρόσδεση του O₂ στη δεοξυαιμοσφαιρίνη. Η μετατόπιση της έλικας F κατά την πρόσδεση του O₂ στην αίμη θεωρείται ως μια από τις αλλαγές που πυροδοτούν τη μετάβαση T → R. [Πηγές: κατάσταση T: προέλευση PDB ID 1HGA, R. Liddington et al. *J Mol. Biol.* 228:551, 1992, κατάσταση R: προέλευση PDB ID 1BBB, M. M. Silva et al., *J Biol. Chem.* 267:17,248, 1992. Η κατάσταση R τροποποιήθηκε για να αναπαριστήσει το O₂ αντί για το CO].

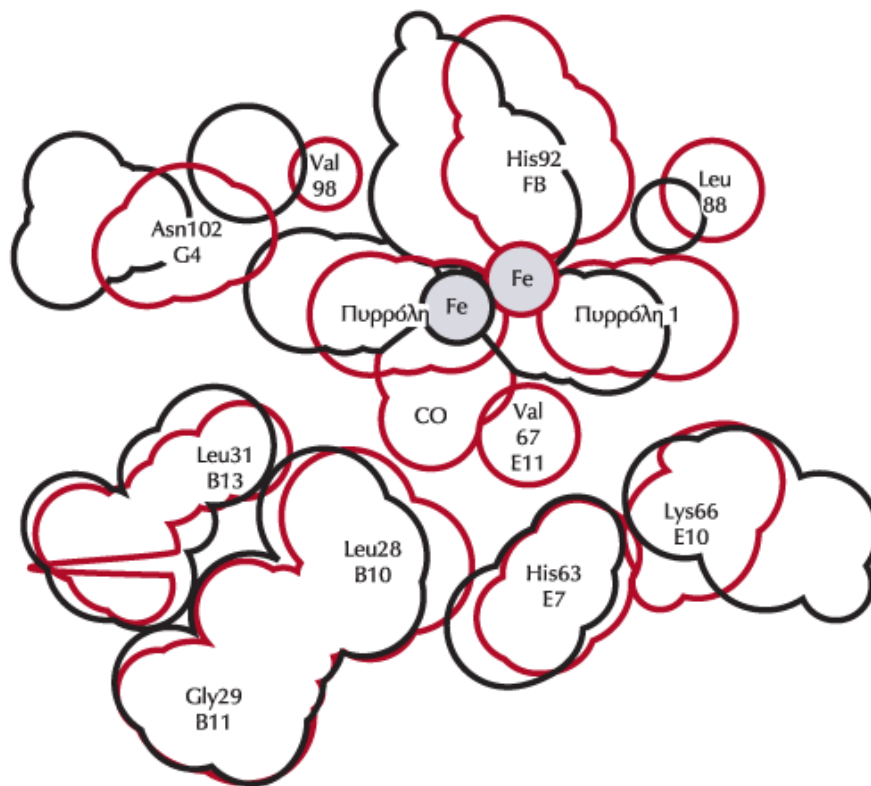


ΕΙΚΟΝΑ 9.25

Στεροχημική παρεμπόδιση μεταξύ της εγγύς ιστοδίνης και της πορφυρίνης στη δεοξυαιμοσφαιρίνη. (Τροποποιημένο από: Perutz, M. *Sci. Am.* 239:92, 1978. Copyright © 1978 by Scientific American, Inc. All rights reserved).



(α)

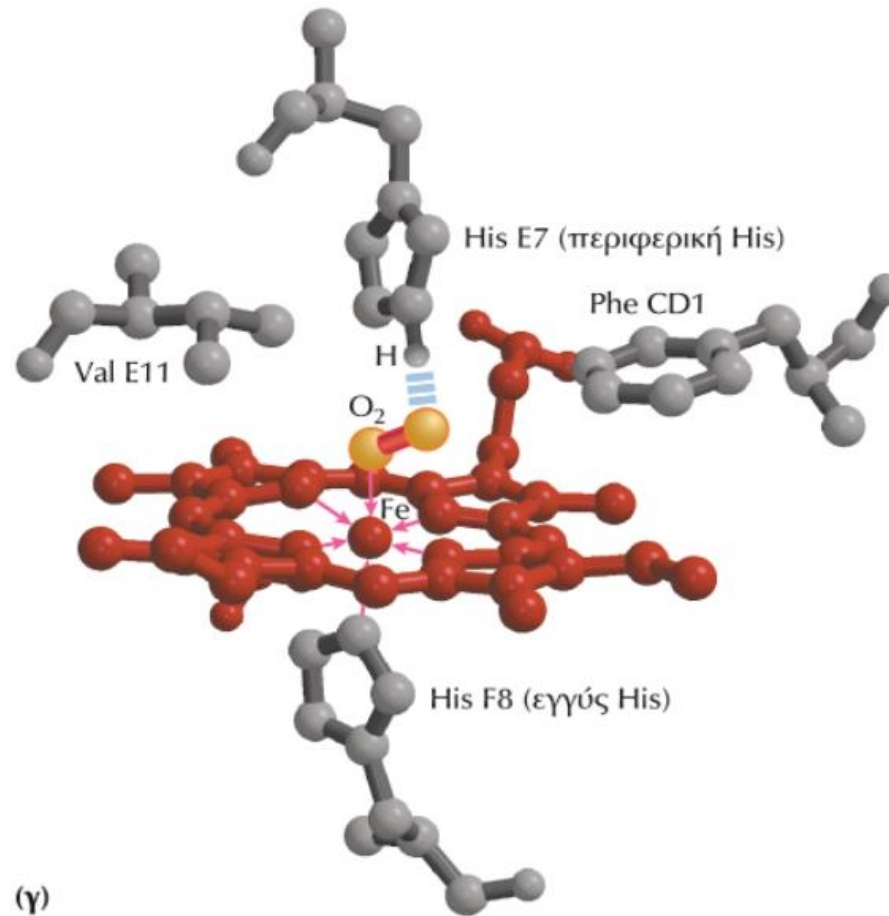
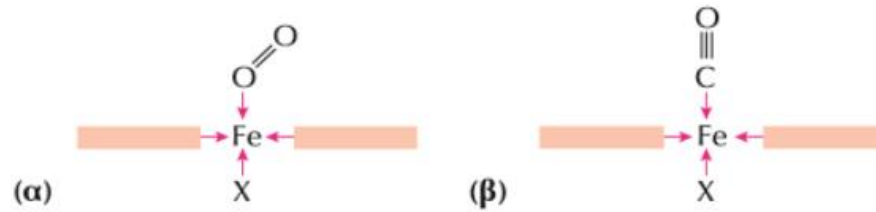


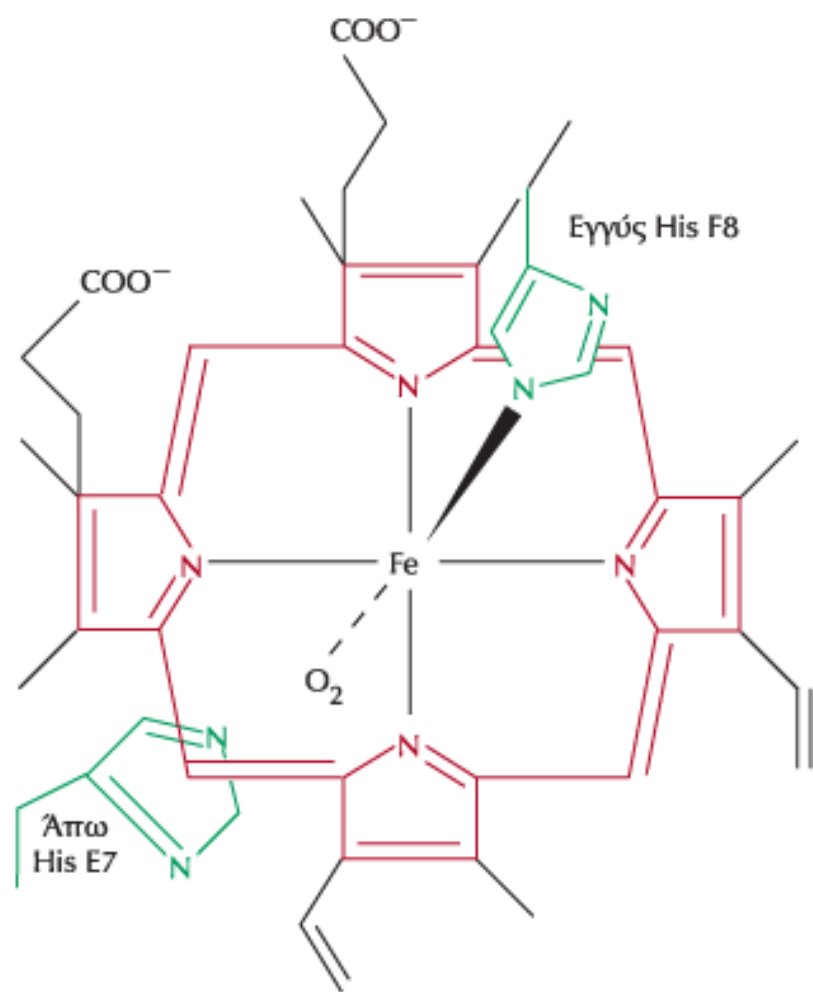
(β)

ΕΙΚΟΝΑ 9.27

Ραβδόμορφα και χωροπληρωτικά διαγράμματα σχεδιασμένα με προγράμματα γραφικών σε υπολογιστή που δείχνουν τις μετακινήσεις των υπολειμμάτων στο περιβάλλον της αίμης κατά τη διάρκεια της μετάβασης από την δεοξυαιμοσφαιρίνη στην οξυαιμοσφαιρίνη. **(α)** Η μαύρη γραμμή περιγράφει τη θέση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και της His F8 στην καρβοξυαιμοσφαιρίνη, ένα μοντέλο για την οξυαιμοσφαιρίνη. Η κόκκινη γραμμή περιγράφει τις θέσεις των ίδιων περιοχών για την δεοξυαιμοσφαιρίνη. Η θέση του ατόμου του σιδήρου αναπαρίσταται με τον κύκλο. Οι μετακινήσεις είναι για μια α υπομονάδα. **(β)** Παρόμοιες κινήσεις της θέσεως του αμινοξικού υπολείμματος σε μια β υπομονάδα χρησιμοποιώντας το χωροπληρωτικό διάγραμμα που εικονίζεται. Οι ονομασίες των υπολειμμάτων που βρίσκονται στο κέντρο με πυκνά γράμματα, είναι για τη δεοξυ-μορφή χωροδιάταξης. (Ανατύπωση, κατόπιν αδείας, από: Baldwin, J., and Clothia, C. *J. Mol. Biol.* 129:175, 1979).

ΣΤΕΡΕΟΤΑΞΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΔΕΣΗ





ΕΙΚΟΝΑ 9.20

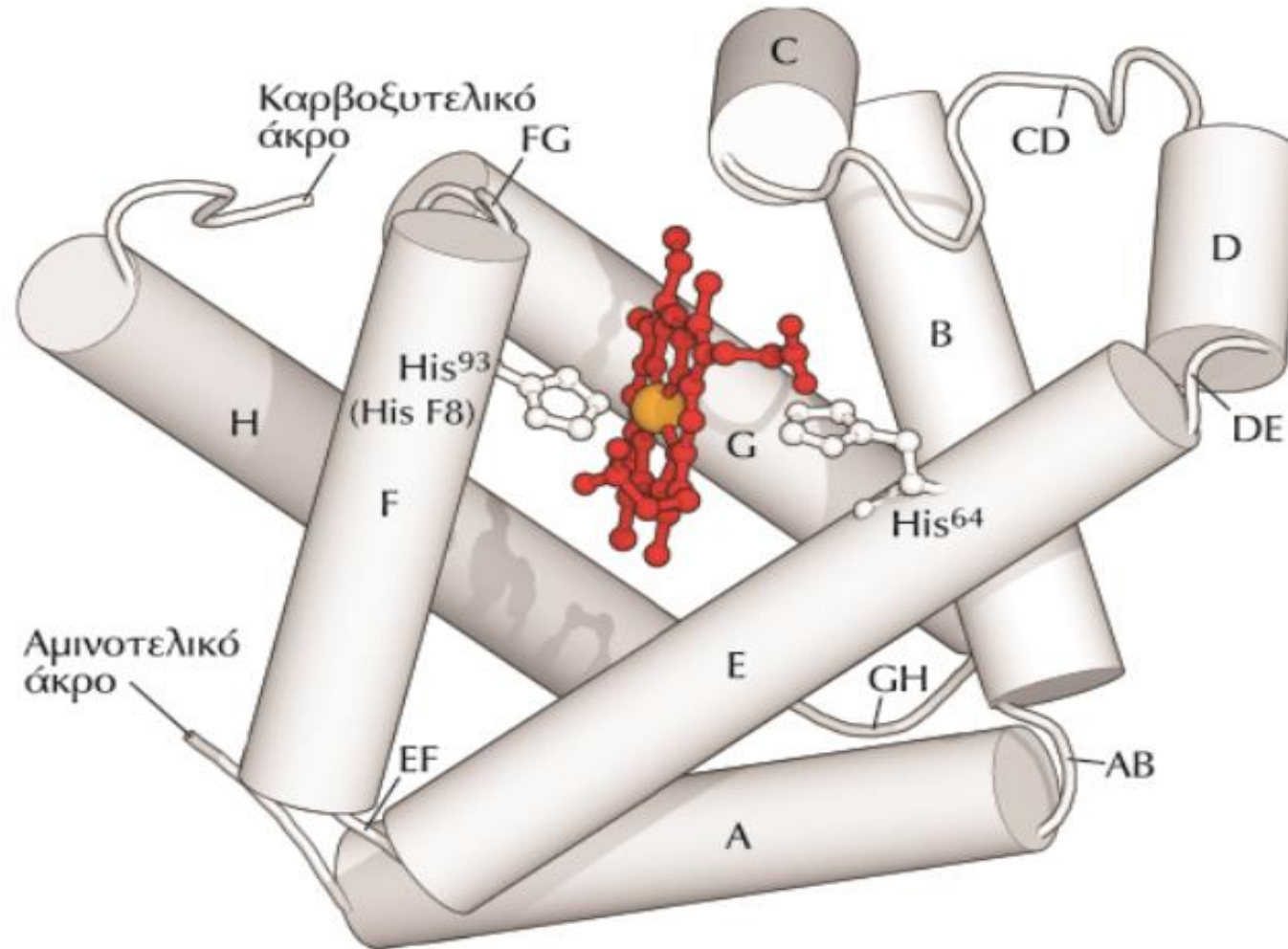
Δεσμοί συνδεόμενων μορίων του δισθενούς ατόμου στην οξυαιμοσφαιρίνη.

- Ο σίδηρος στην ελεύθερη αίμη, δηλαδή αίμη που δεν προσδένεται σε πρωτεΐνη έχει τη δυνατότητα παρουσία O_2 να μετατραπεί σε Fe^{3+} (μη αντιστρεπτά). Παρουσία πρωτεΐνης αυτό δε συμβαίνει διότι η αίμη βρίσκεται στο βάθος της πρωτεϊνικής δομής και η πρόσβαση στους ελεύθερους δεσμούς Fe^{2+} είναι περιορισμένη
- Παρουσία O_2 το χρώμα αίματος είναι κόκκινο ενώ απουσία O_2 είναι σκούρο ιώδες (λόγω αλλαγών στις ηλεκτρονιακές ιδιότητες του Fe)

ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

- Έχει MW 16700, 153 αμινοξέα και ένα μόριο αίμης, αποτελούμενη από 8 α-έλικες που συνδέονται με καμπές
- Προσδένει και αποθηκεύει O₂ στους ιστούς
- Η μυοσφαιρίνη έχει μια θέση πρόσδεσης για το O₂ ενώ η αιμοσφαιρίνη 4 θέσεις πρόσδεσης

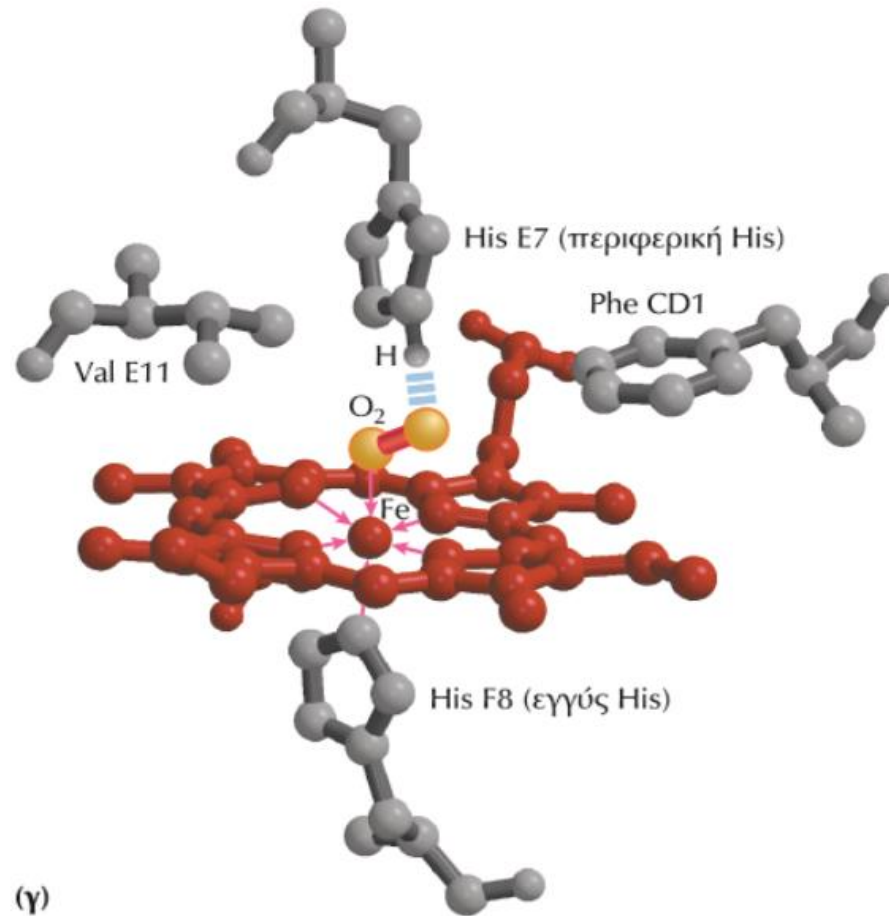
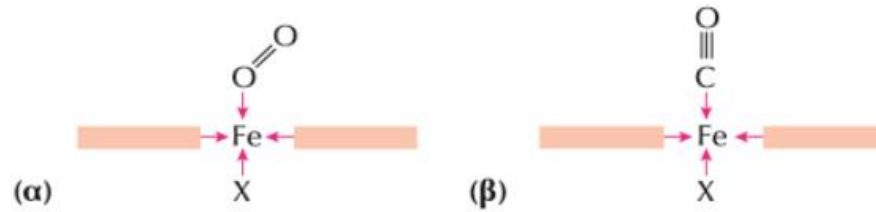
ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΜΥΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ



Δομή Μυοσφαιρίνης - Θέση Αμινοξέος

- His93 ονομάζεται εγγύς ιστιδίνη (δέσμευση με O_2) και είναι το 93^ο αμινοξύ από το NH_2 -τελικό άκρο ή HisF8 (8^ο αμινοξικό κατάλοιπο στην α-έλικα F)
- Η περιφερική ιστιδίνη (HisE7) ευνοεί τη δέσμευση του Fe^{2+} με το O_2 , όχι όμως του CO. Σημειωτέον, το CO έχει μεγαλύτερη χημική συγγένεια για το Fe της αίμης (σε ελεύθερη μορφή) συγκριτικά με το O_2
- Η HisE7 διευκολύνει τη «δίοδο» του O_2 μέσα από κοιλότητες που δημιουργούνται κατά την ελεύθερη περιστροφή της

ΣΤΕΡΕΟΤΑΞΙΚΕΣ ΜΕΤΑΒΟΛΕΣ ΚΑΤΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΔΕΣΗ



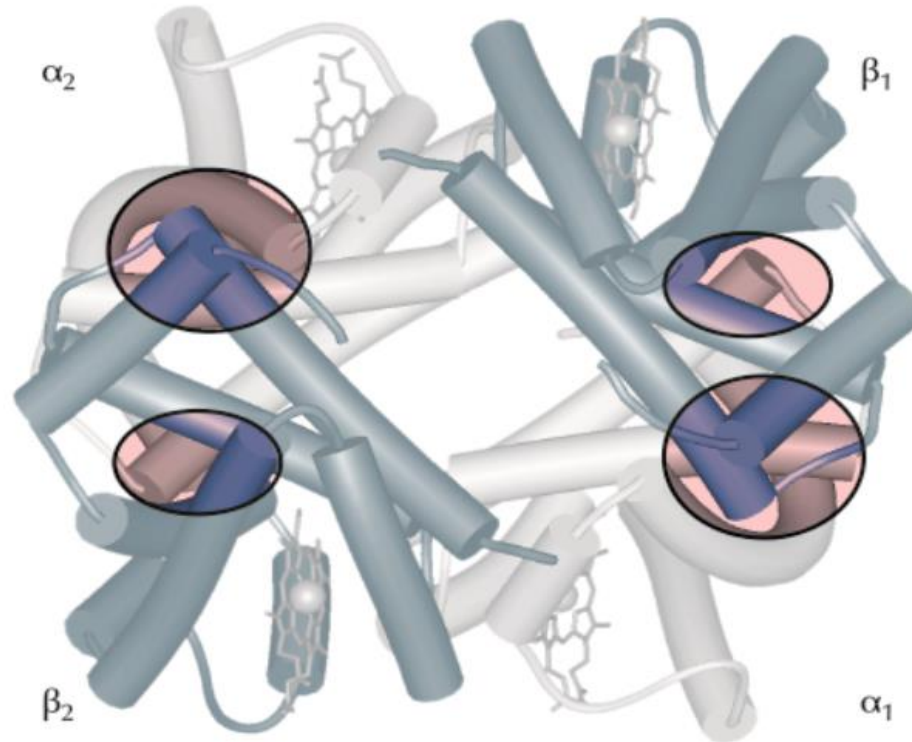
ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

- Έχει MW 64500 (Hb), τετραμερής με μια αίμη/πολυπεπτιδική αλυσίδα
- Έχει 2α αλυσίδες (141 αα/αλυσίδα) και 2β αλυσίδες (146 αα/αλυσίδα)
- Οι α και β έχουν $\approx 50\%$ ομόλογα αα
- Η διάφαση $\alpha_1\beta_1$ (60 αμινοξέα) (πολύ ισχυρή σύνδεση)

Η διάφαση $\alpha_1\beta_2$ (19 αμινοξέα)

Συγκρατούνται με υδρόφοβους δεσμούς, δ-Η και ιοντικά ζεύγη

ΚΥΡΙΑΡΧΕΣ ΑΛΛΗΛΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΜΕΤΑΞΥ ΤΩΝ ΥΠΟΜΟΝΑΔΩΝ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ



ΕΙΚΟΝΑ 5-8 Κυρίαρχες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των υπομονάδων της αιμοσφαιρίνης. Σε αυτή την αναπαράσταση, οι α υπομονάδες είναι ανοιχτόχρωμες ενώ οι β υπομονάδες σκουρόχρωμες. Οι ισχυρότερες αλληλεπιδράσεις (επισημαίνονται) συμβαίνουν μεταξύ ανόμοιων υπομονάδων. Μόλις προσδεθεί το οξυγόνο, η επαφή $\alpha_1\beta_1$ δεν αλλάζει πολύ, αντίθετα από την επαφή $\alpha_1\beta_2$ η οποία υφίσταται δραστηκή αλλαγή με θραύση αρκετών ιοντικών ζευγών. [Πηγή: PDB ID 1HGA, R. Liddington et al. *J. Mol. Biol.* 228:551, 1992].

ΔΕΣΜΕΥΣΗ O₂ ΣΕ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

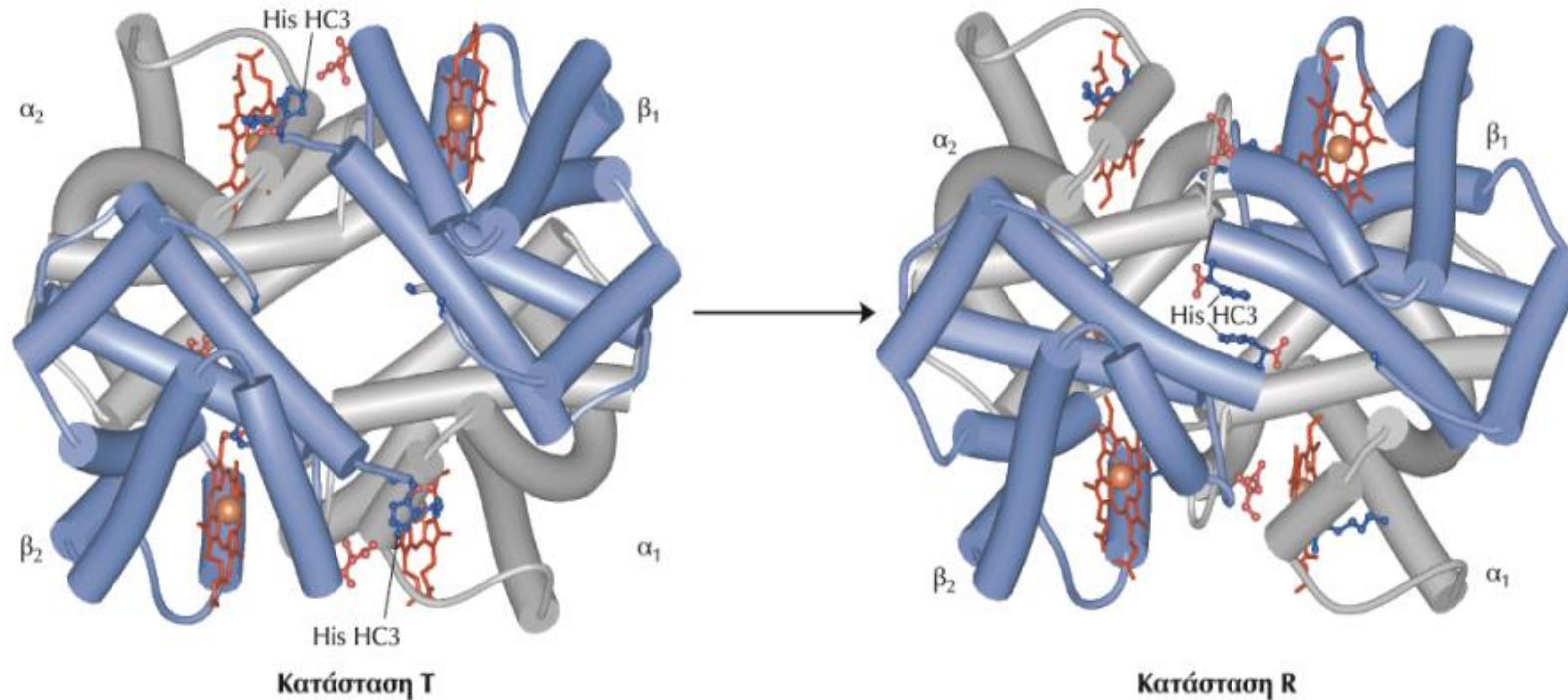
Διαμόρφωση R (relaxed) παρουσία O₂ πολύ σταθερή

Διαμόρφωση T (tense) απουσία O₂

Δεοξυαιμοσφαιρίνη (απουσία O₂), Οξυαιμοσφαιρίνη (παρουσία O₂)

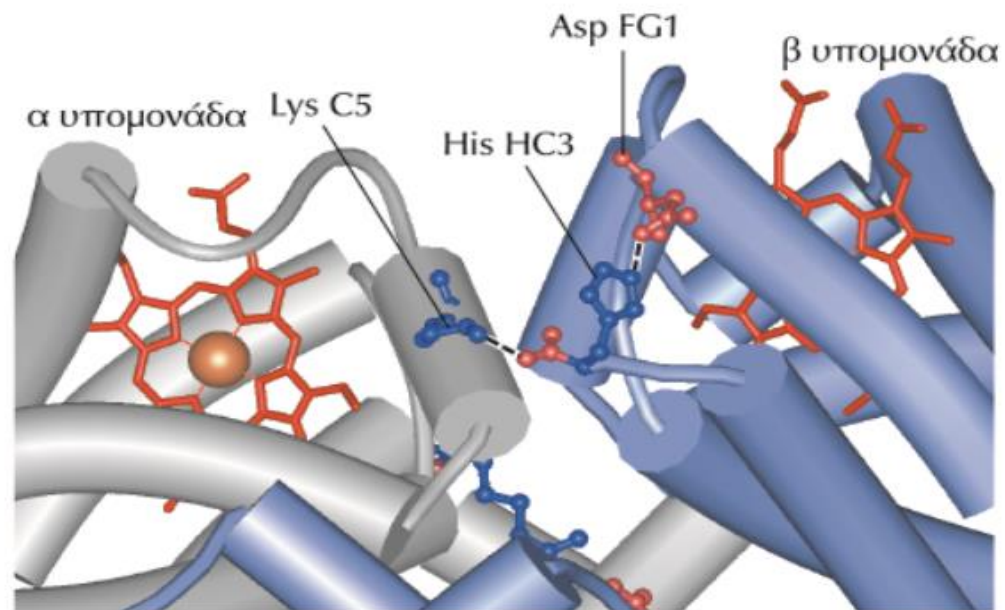
Η μετάβαση από T → R συνοδεύεται από μεγάλες αλλαγές στις θέσεις των πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων γύρω από την αίμη (κυρίως ιστιδίνης εγγύς) και αλλαγές στα ιοντικά ζεύγη των διαφάσεων

Η ΜΕΤΑΒΑΣΗ ΑΠΟ Τ ΣΕ R

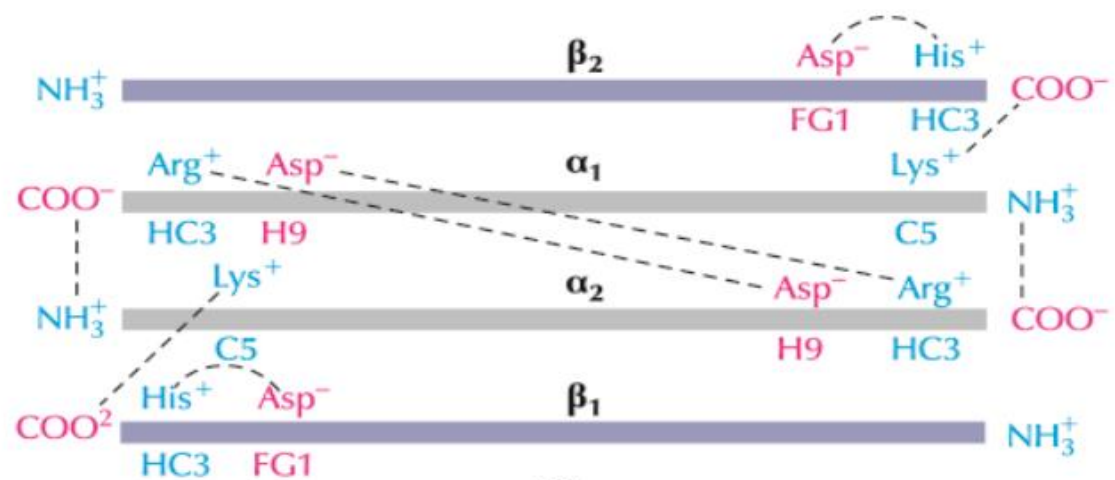


ΕΙΚΟΝΑ 5-10 Η μετάβαση T → R. Σε αυτές τις αναπαραστάσεις της δεοξυαιμοσφαιρίνης, όπως και στην Εικόνα 5-9, οι β υπομονάδες είναι μπλε ενώ οι α υπομονάδες γκρι. Οι θετικά φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες των αμινοξέων και τα άκρα των πολυπεπτιδίων που εμπλέκονται σε ιοντικά ζεύγη εικονίζονται με μπλε, ενώ οι αρνητικά φορτισμένοι συνοδοί τους με κόκκινο. Η Lys C5 κάθε α υπομονάδας και το Asp FG1 κάθε β υπομονάδας είναι ορατά, αλλά δεν επισημαίνονται (αντιπαραβάλλετε με την Εικόνα 5-9α). Παρατηρείστε ότι το μόριο έχει ελαφρώς διαφορετικό προσανατολισμό συγκριτικά με την Εικόνα 5-9. Η μετάβαση από την κατάσταση T στην κατάσταση R μετατοπίζει σημαντικά τις υπομονάδες, επηρεάζοντας ορισμένα ιοντικά ζεύγη. Η πιο εντυπωσιακή αλλαγή αφορά στα κατάλοιπα HC3 στο καρβοξυτελικό άκρο των β υπομονάδων, τα οποία στην κατάσταση T εμπλέκονται σε ιοντικά ζεύγη: κατά τη μετάβαση στην κατάσταση R, τα κατάλοιπα HC3 περιστρέφονται προς το κέντρο του μορίου, όπου δεν συμμετέχουν πλέον σε ιοντικά ζεύγη. Μια άλλη δραστηρική επίπτωση της μετάβασης T → R είναι το στένεμα του θυλάκου μεταξύ των β υπομονάδων. [Πηγές: κατάσταση T: PDB ID 1HGA, R. Liddington et al. *J Mol. Biol.* 228:551, 1992, κατάσταση R: PDB ID 1BBB, M. M. Silva et al., *J Biol. Chem.* 267:17,248, 1992].

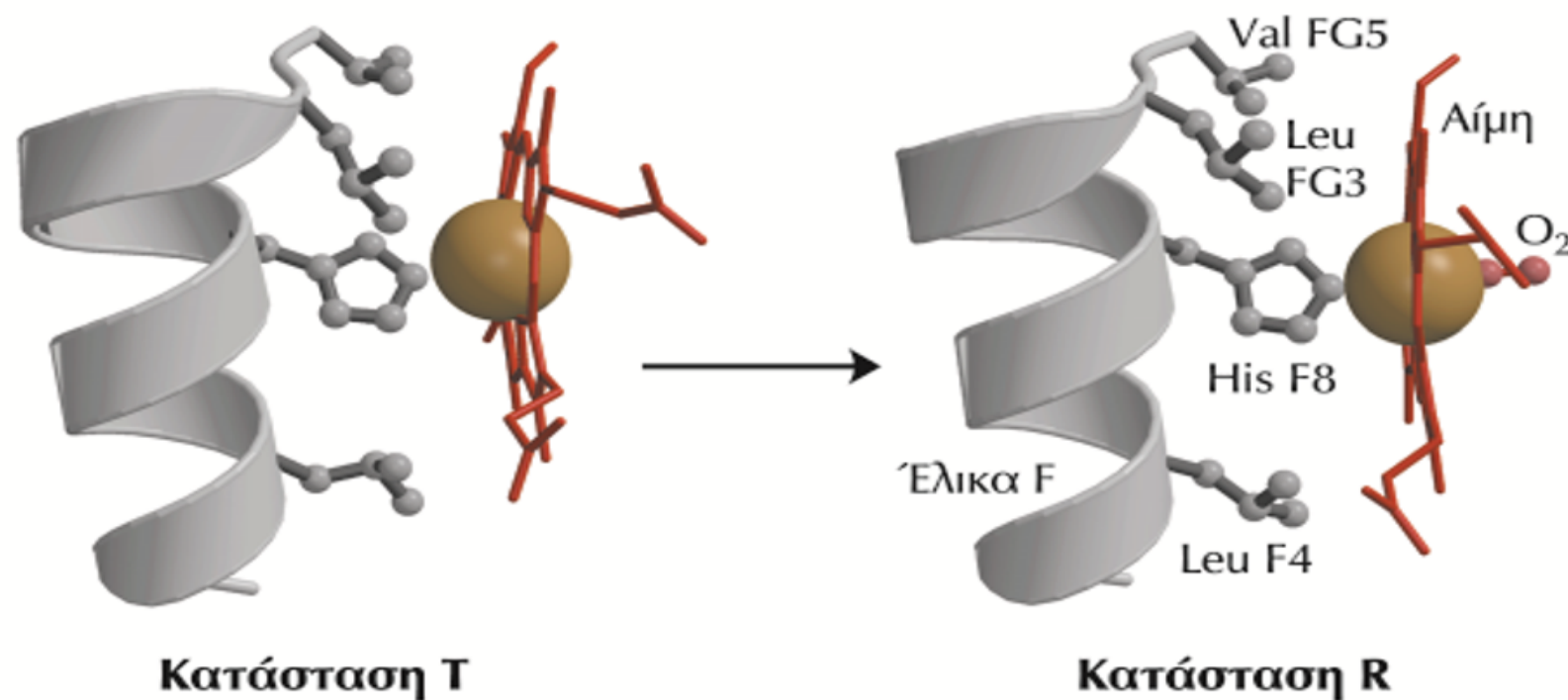
ΙΟΝΤΙΚΑ ΖΕΥΓΗ ΠΟΥ ΣΤΑΘΕΡΟΠΟΙΟΥΝ ΤΗΝ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ Τ ΤΗΣ ΔΕΟΞΥΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ



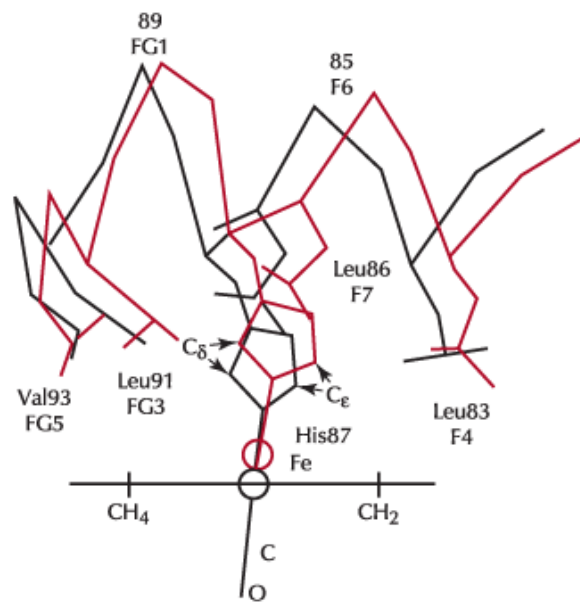
(α)



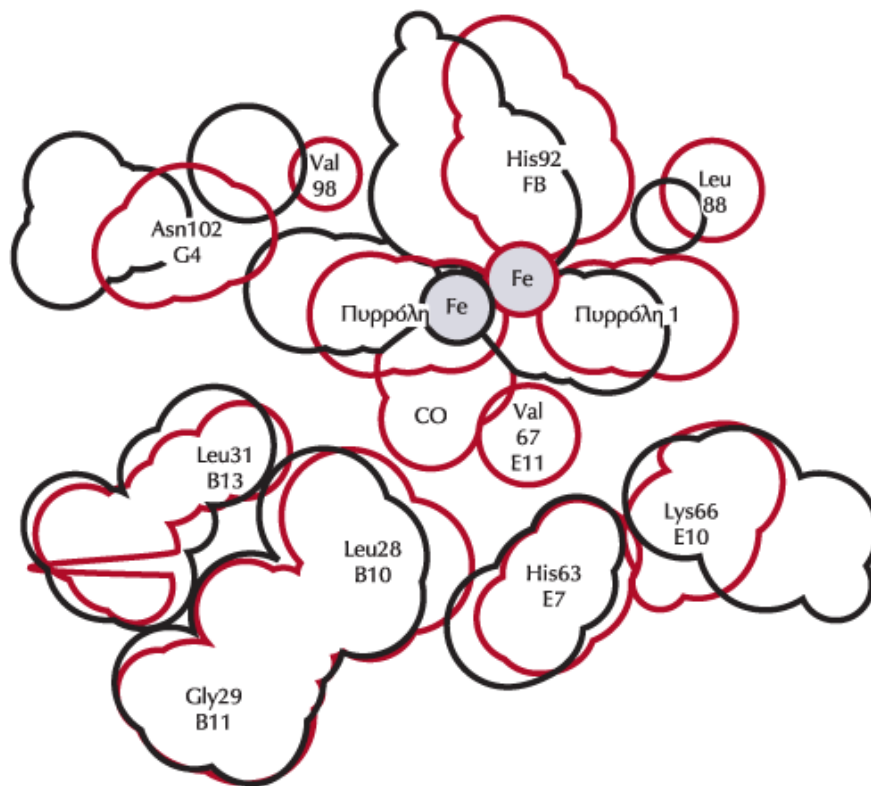
(β)



ΕΙΚΟΝΑ 5-11 Αλλαγές στη διαμόρφωση κοντά στην αίμη κατά την πρόσδεση του O₂ στη δεοξυαιμοσφαιρίνη. Η μετατόπιση της έλικας F κατά την πρόσδεση του O₂ στην αίμη θεωρείται ως μια από τις αλλαγές που πυροδοτούν τη μετάβαση T → R. [Πηγές: κατάσταση T: προέλευση PDB ID 1HGA, R. Liddington et al. *J Mol. Biol.* 228:551, 1992, κατάσταση R: προέλευση PDB ID 1BBB, M. M. Silva et al., *J Biol. Chem.* 267:17,248, 1992. Η κατάσταση R τροποποιήθηκε για να αναπαράσχη το O₂ αντί για το CO].



(α)



(β)

ΕΙΚΟΝΑ 9.27

Ραβδόμορφα και χωροπληρωτικά διαγράμματα σχεδιασμένα με προγράμματα γραφικών σε υπολογιστή που δείχνουν τις μετακινήσεις των υπολειμμάτων στο περιβάλλον της αίμης κατά τη διάρκεια της μετάβασης από την δεοξυαιμοσφαιρίνη στην οξυαιμοσφαιρίνη. **(α)** Η μαύρη γραμμή περιγράφει τη θέση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας και της His F8 στην καρβοξυαιμοσφαιρίνη, ένα μοντέλο για την οξυαιμοσφαιρίνη. Η κόκκινη γραμμή περιγράφει τις θέσεις των ίδιων περιοχών για την δεοξυαιμοσφαιρίνη. Η θέση του ατόμου του σιδήρου αναπαρίσταται με τον κύκλο. Οι μετακινήσεις είναι για μια α υπομονάδα. **(β)** Παρόμοιες κινήσεις της θέσεως του αμινοξικού υπολείμματος σε μια β υπομονάδα χρησιμοποιώντας το χωροπληρωτικό διάγραμμα που εικονίζεται. Οι ονομασίες των υπολειμμάτων που βρίσκονται στο κέντρο με πυκνά γράμματα, είναι για τη δεοξυ-μορφή χωροδιάταξης. (Ανατύπωση, κατόπιν αδειάς, από: Baldwin, J., and Clothia, C. *J. Mol. Biol.* 129:175, 1979).

- **Η ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΕΙΝΑΙ ΜΙΑ ΑΛΛΟΣΤΕΡΙΚΗ ΠΡΩΤΕΙΝΗ**
- Η πρόσδεση του O_2 σε μια αλυσίδα επιφέρει αλλαγές στις γειτονικές αλυσίδες, αυξάνει τη χημική συγγένεια και ευνοεί τη δέσμευση επιπλέον μορίων O_2 . Το τελευταίο O_2 (τέταρτο) συνδέεται με υψηλότερη συγγένεια σε σχέση με το πρώτο
- Η αιμοσφαιρίνη είναι μια αλλοστερική πρωτεΐνη (η πρόσδεση ενός προσδέματος επηρεάζει τις ιδιότητες πρόσδεσης μιας άλλης θέσης πάνω στην ίδια πρωτεΐνη)

- **ΡΥΘΜΙΣΤΕΣ-ΟΜΟΤΡΟΠΗ ΡΥΘΜΙΣΗ-ΕΤΕΡΟΤΡΟΠΗ ΡΥΘΜΙΣΗ**

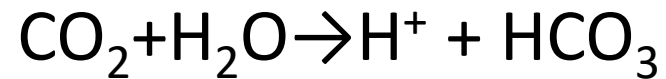
- Ρυθμιστές ονομάζονται τα προσδέματα που φέρουν αλλαγές στη διαμόρφωση μιας πρωτεΐνης και επηρεάζουν την πρόσδεση άλλων προσδεμάτων. Μπορεί να ευνοούν (ενεργοποιητές) ή να αναστέλλουν (αναστολείς)
- Όταν το πρόσδεμα ταυτίζεται με τον ρυθμιστή καλείται ομότροπη ρύθμιση ενώ όταν ο ρυθμιστής διαφέρει από το επιπλέον πρόσδεμα καλείται ετερότροπη ρύθμιση.

- Το O_2 είναι ομότροπος ρυθμιστής της αιμοσφαιρίνης ενώ το H^+ , CO_2 και διφωσφογλυκερινικό οξύ (BPG), ΤΑ ΟΠΟΙΑ ΕΠΙΣΗΣ ΠΡΟΣΔΕΝΟΝΤΑΙ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ, είναι ετερότροποι ρυθμιστές

Η ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΠΡΟΣΔΕΝΕΙ ΚΑΙ ΜΕΤΑΦΕΡΕΙ

H⁺, CO₂ από τους ιστούς στους πνεύμονες

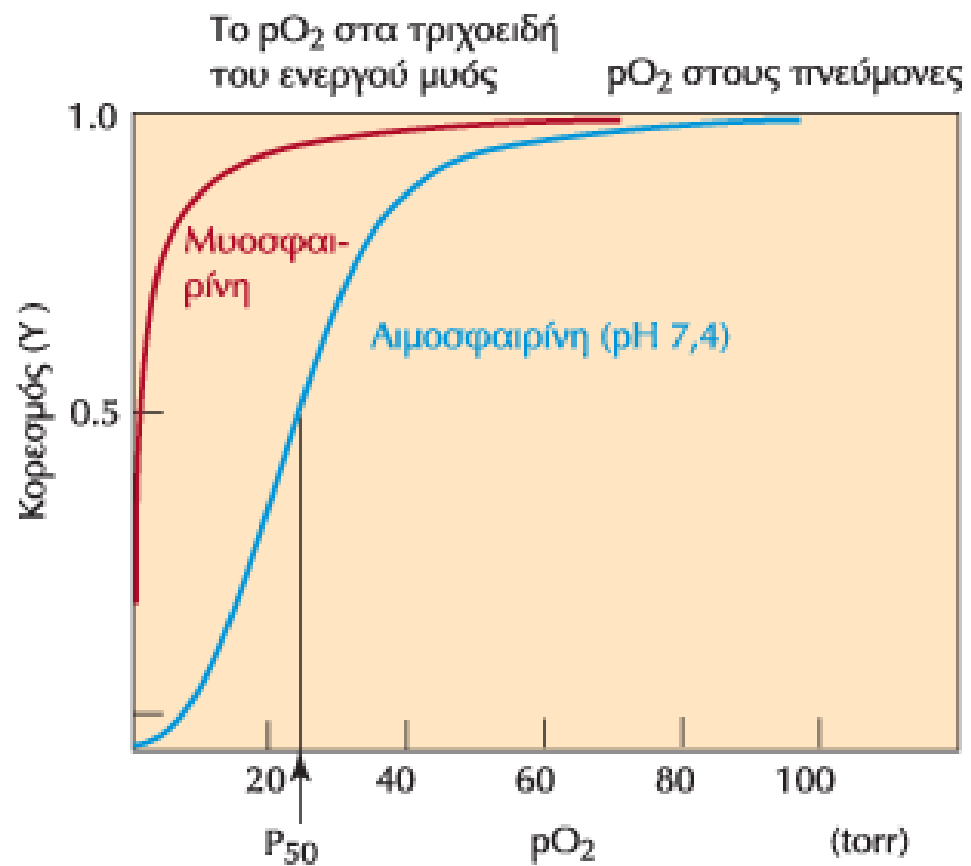
Σημαντική αντίδραση



(Παρουσία καρβονικής ανυδράσης στα ερυθρά κύτταρα)

Η πρόσδεση H⁺, CO₂ στην αιμοσφαιρίνη ελαττώνει την χημική συγγένεια του οξυγόνου για την αιμοσφαιρίνη

- Η αιμοσφαιρίνη μεταφέρει το 40% της συνολικής ποσότητας H^+ και 15-20% του CO_2 που σχηματίζεται στους ιστούς, προς τους πνεύμονες και τους νεφρούς.
- Η αιμοσφαιρίνη στο επίπεδο θαλάσσης είναι σχεδόν πλήρως κορεσμένη με O_2 στους πνεύμονες (pO_2 είναι 13,3 kPa) ενώ μόλις 60% κορεσμένη στους ιστούς (όπου η pO_2 είναι 4 kPa). Άρα απελευθερώνεται 40% του συνολικού O_2 από πνεύμονες σε ιστούς

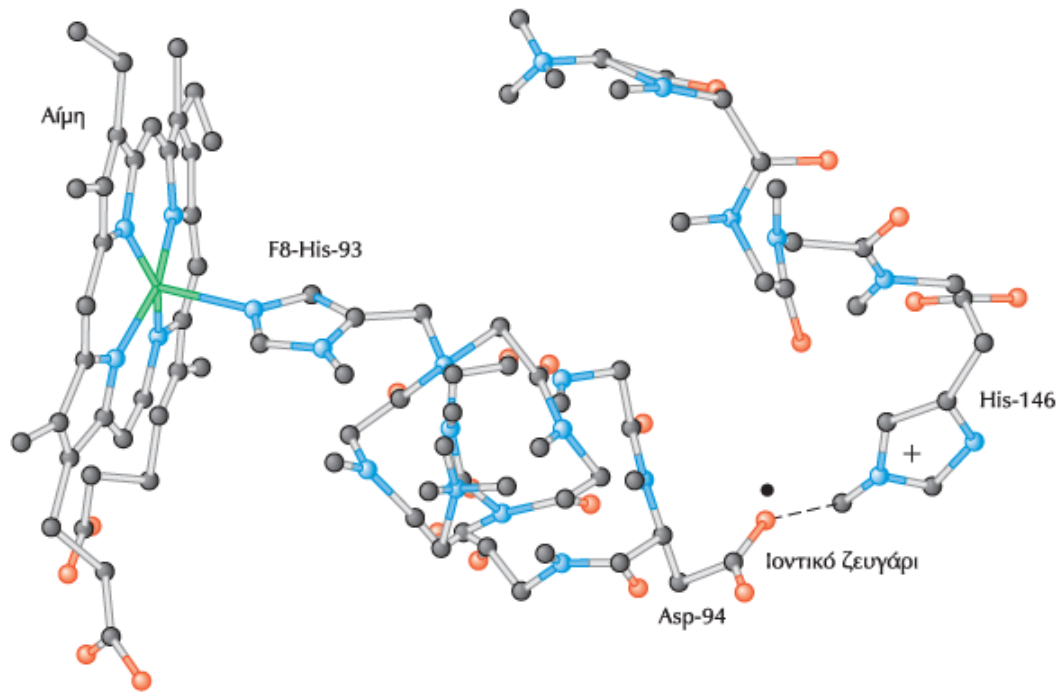


ΕΙΚΟΝΑ 9.23

Καμπύλες πρόσδεσης οξυγόνου για τη μυοσφαιρίνη και την αιμοσφαιρίνη.

Η ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΠΡΟΣΔΕΝΕΙ H⁺

- Τα H⁺ προσδένονται στην His146 (HC3-καρβοξυτελικό αμινοξύ β υπομονάδας) των β υπομονάδων και σε αμινοτελικά άκρα α- υπομονάδων και σε His άλλων υπομονάδων και σε άλλα αμινοξέα
- Η πρωτονιωμένη HisHC3 σχηματίζει ιοντικό ζεύγος με το Asp94 (AspFG1) και σταθεροποιεί την T κατάσταση (δεοξυαιμοσφαιρίνη)



ΕΙΚΟΝΑ 9.29

Ζεύγος ιόντων μεταξύ των ομάδων των πλευρικών αλυσίδων της β His-146 ιμιδαζολίου και της β Asp-95 καρβοξυλίου στη δεοξυ (T)-μορφή χωροδιάταξης της αιμοσφαιρίνης. Μερική δομή της β αλυσίδας που δείχνει το σκελετό της πολυπεπτιδικής αλυσίδας για τα αμινοξέα 87 έως 95 και 142 έως 146 όταν η β αλυσίδα βρίσκεται στη δεοξυ- μορφή χωροδιάταξης. Υποδεικνύονται μόνο οι πλευρικές αλυσίδες των Asp-94, His-146, και F8 His-92 που είναι συνδεδεμένες με τη β -υπομονάδα της αίμης. Τα άτομα οξυγόνου είναι χρωματισμένα κόκκινα, τα άτομα αζώτου μπλε, και εκείνα του άνθρακα και του υδρογόνου είναι μαύρα. Ο δεσμός υδρογόνου (διακεκομμένες γραμμές) εμφανίζεται μεταξύ του θετικά φορτισμένου ιμιδαζολίου (N–H) της β His-146 και του αρνητικά φορτισμένου οξυγόνου του καρβοξυλίου της β Asp-94. (Σχεδιασμένη από Swiss-PdbViewer χρησιμοποιώντας τη PDB δομή 1A3N).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

Η ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΔΕΣΜΕΥΕΙ

1. O_2 στον Fe της αίμης (α και β υπομονάδες). Ο Fe δεσμεύεται στην HisF8 (σε α και β υπομονάδες) ενώ η περιφερική HisE7 (His58 στη α αλυσίδα και His63 στη β αλυσίδα) σταθεροποιεί τη δέσμευση O_2 με δεσμούς H
2. H^+ κυρίως στην His146 (HC3 καρβοξυτελικό άκρο της β υπομονάδας) των β υπομονάδων
3. CO_2 σε αμινοτελικά αμινοξέα των α και β υπομονάδων

Η Αιμοσφαιρίνη (Hb)
Δεσμεύει

1) O_2 στον Fe^{2+} της Αίμης

Η His F8 προσδένει Fe^{2+}
σε α ή β υπομονάδες

Η His E7 σταθεροποιεί O_2
σε α ή β υπομονάδες

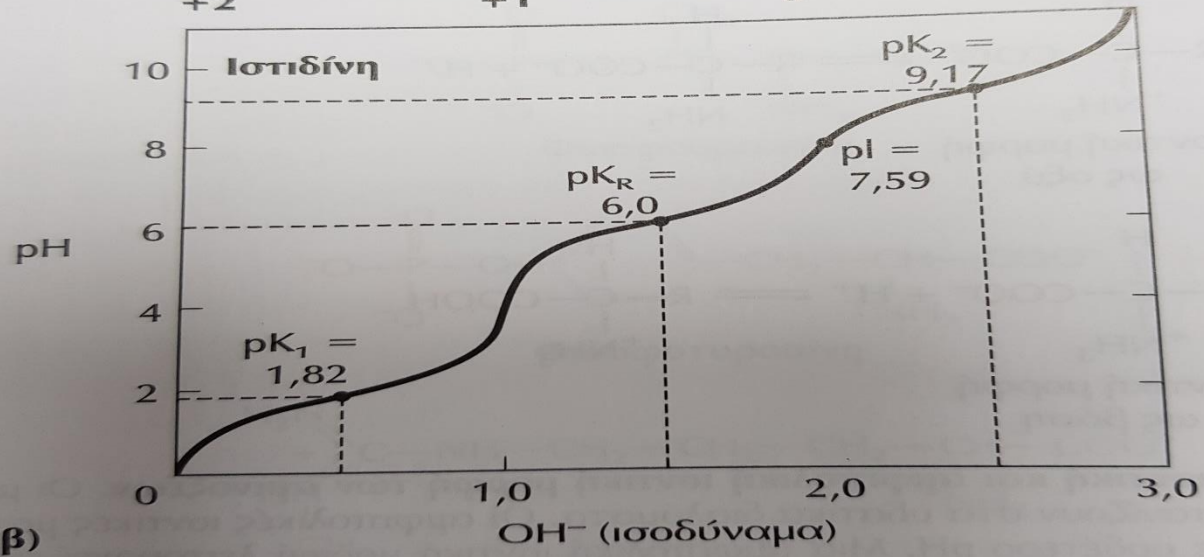
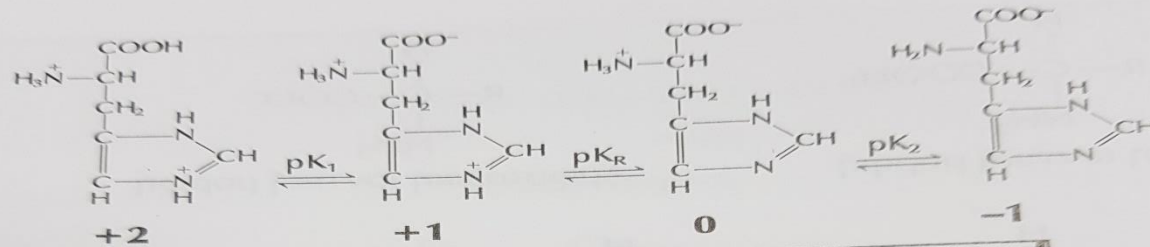
His 58 His 63

H Hb δεγμεύει

2) H^+ στην His146 (HC3)
των β -υπομονάδων

→ καρβοξυτελικό
αμινοξύ της
 β -υπομονάδας

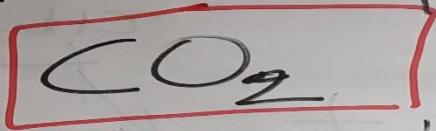
και σε
αμινοξελικά ακα
 α -υπομονάδων και
σε άλλες His



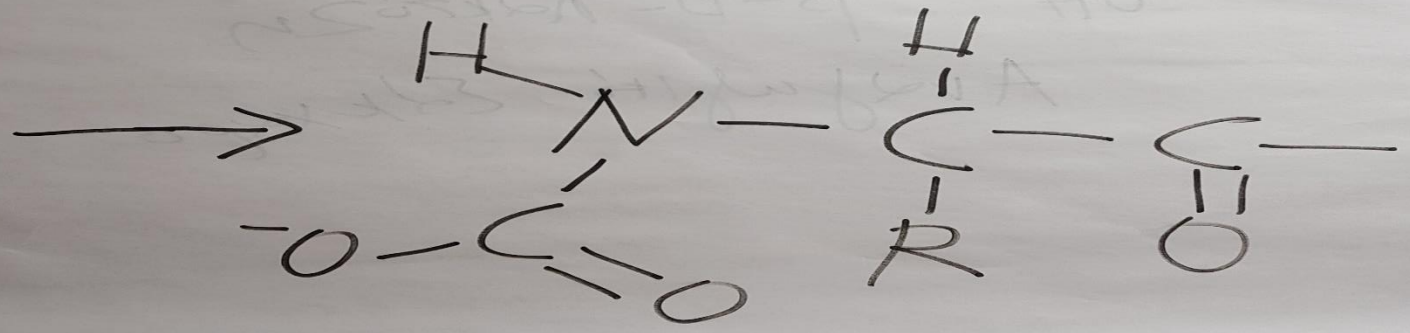
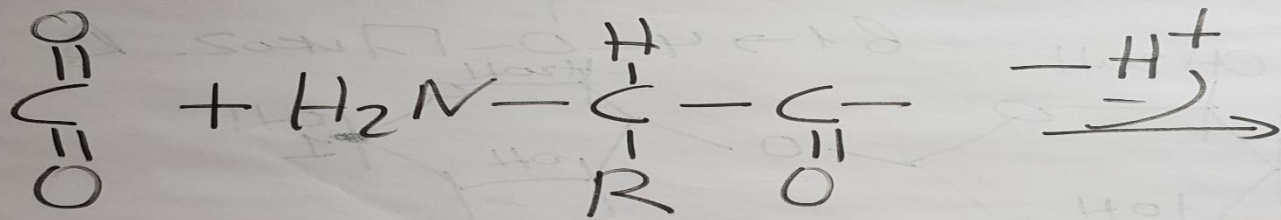
(β)

και (β) της ιστιδίνης. Η pK_a της ομάδας R ορίζεται ως pK_R .

H Hb δεγμεύει



σε $-\text{NH}_2$ - άκρα των α, β υπομονάδων



ΦΑΙΝΟΜΕΝΟ BOHR

- Η πρόσδεση H^+ και CO_2 στην αιμοσφαιρίνη στους ιστούς προκαλεί αλλαγές στη δομή της που οδηγούν στη μείωση της χημικής συγγένειας με το O_2 και συνεπώς στην απελευθέρωσή του (T κατάσταση Αιμοσφαιρίνης)
- Είναι ετερότροπη αλλοστερική ρύθμιση της αιμοσφαιρίνης από H^+ και CO_2

ΛΕΙΤΟΥΡΓΙΑ ΤΗΣ ΑΝΑΠΝΟΗΣ

ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΥΣ

ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ

Left Page (Tissues):

$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$
 $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$
 $\text{HbO}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HbH}^+ + \text{O}_2$

Πνεύμονες
 Χημ. Αντίδρ.
 φέρει

Απομάκρυνση CO_2
 μέσω εκπνοής
 Άρα $[\text{CO}_2] \downarrow$
 Είσοδος O_2 μέσω
 εισπνοής, Άρα $\uparrow \text{O}_2$
 Άρα μείωση H_2CO_3
 μείωση H^+
 Νόμος Δράσης Μάζας
 Άρα $\uparrow \text{HbO}_2$

Right Page (Lungs):

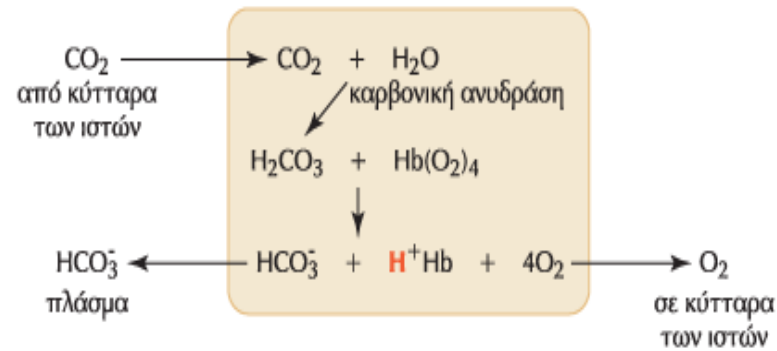
$\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{CO}_3$
 $\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$
 $\text{HbO}_2 + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HbH}^+ + \text{O}_2$

[6201]
 Χημ. Αντίδρ.

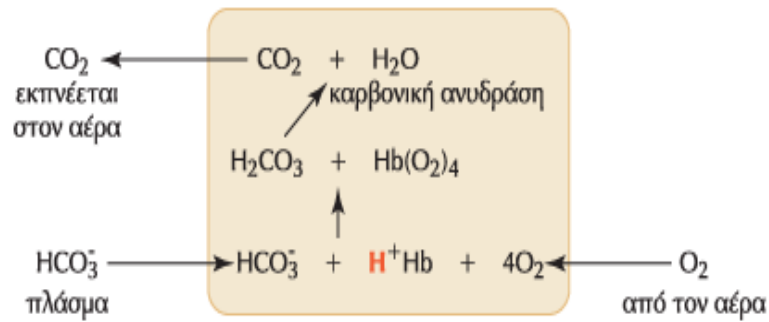
$[\text{CO}_2] \uparrow$ λόγω μεταβολή
 Άρα $[\text{H}_2\text{CO}_3] \uparrow$
 Άρα $[\text{H}^+] \uparrow$
 Άρα, Νόμος Δράσης Μάζας
 Καταγωγή Αντιδραστή
 Άρα $[\text{HbH}^+] \uparrow$

ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ

(α) Ερυθροκύτταρα στα τριχοειδή των ιστών



(β) Ερυθροκύτταρα στα τριχοειδή του πνεύμονα

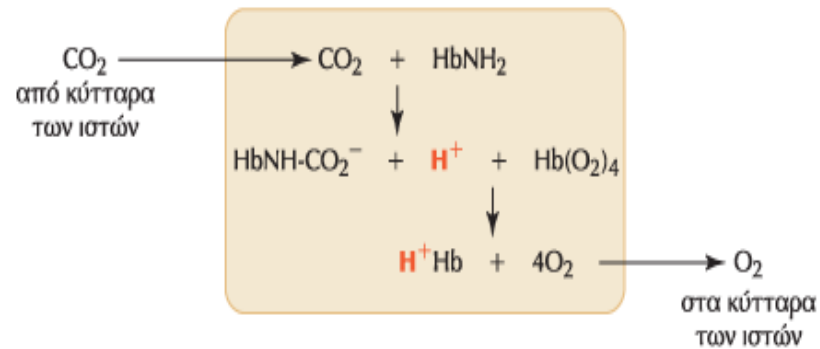


ΕΙΚΟΝΑ 9.31

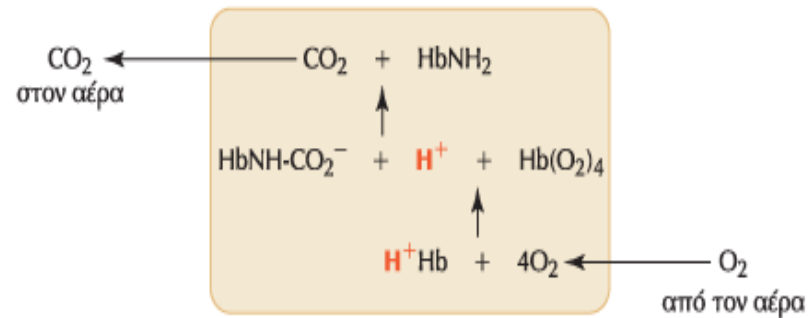
Η ισοϋδρική μεταφορά του CO_2 ως διπτανθρακικό. (α) Αντιδράσεις στα ερυθρά αιμοσφαίρια των ιστών. Το CO_2 διαχέεται στα ερυθρά αιμοσφαίρια από τους ιστούς και μετατρέπεται σε καρβονικό οξύ από την καρβονική ανυδράση. Το καρβονικό οξύ διασπάται αυθόρμητα σε H^+ και HCO_3^- (εξίσωση 9.12). Το πρωτόνιο που απομακρύνεται από το καρβονικό οξύ (κόκκινο H^+) προσδένεται στη δεοξυ-Hb, αναγκάζοντας την O_2 -Hb ισορροπία από οξύ-αιμοσφαιρίνη σε δεοξυ-αιμοσφαιρίνη (εξισώσεις 9.10), με την απομάκρυνση του O_2 που διαχέεται έξω από το ερυθρό αιμοσφαίριο, στους ιστούς. Το HCO_3^- διαχέεται έξω από το ερυθρό αιμοσφαίριο και μεταφέρεται με το πλάσμα στους πνεύμονες (έξω από το κύτταρο). (β) Αντιδράσεις των ερυθρών αιμοσφαιρίων στο επίπεδο των πνευμόνων. Στους πνεύμονες, η υψηλή πίεση του O_2 υποχρεώνει τις αντιδράσεις να έχουν αντίθετη κατεύθυνση. Οι αντιδράσεις είναι οι αντίστροφες από εκείνες που συμβαίνουν στα αγγεία.

ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ ΚΑΙ ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ

(α) Ερυθροκύτταρα στα τριχοειδή των ιστών



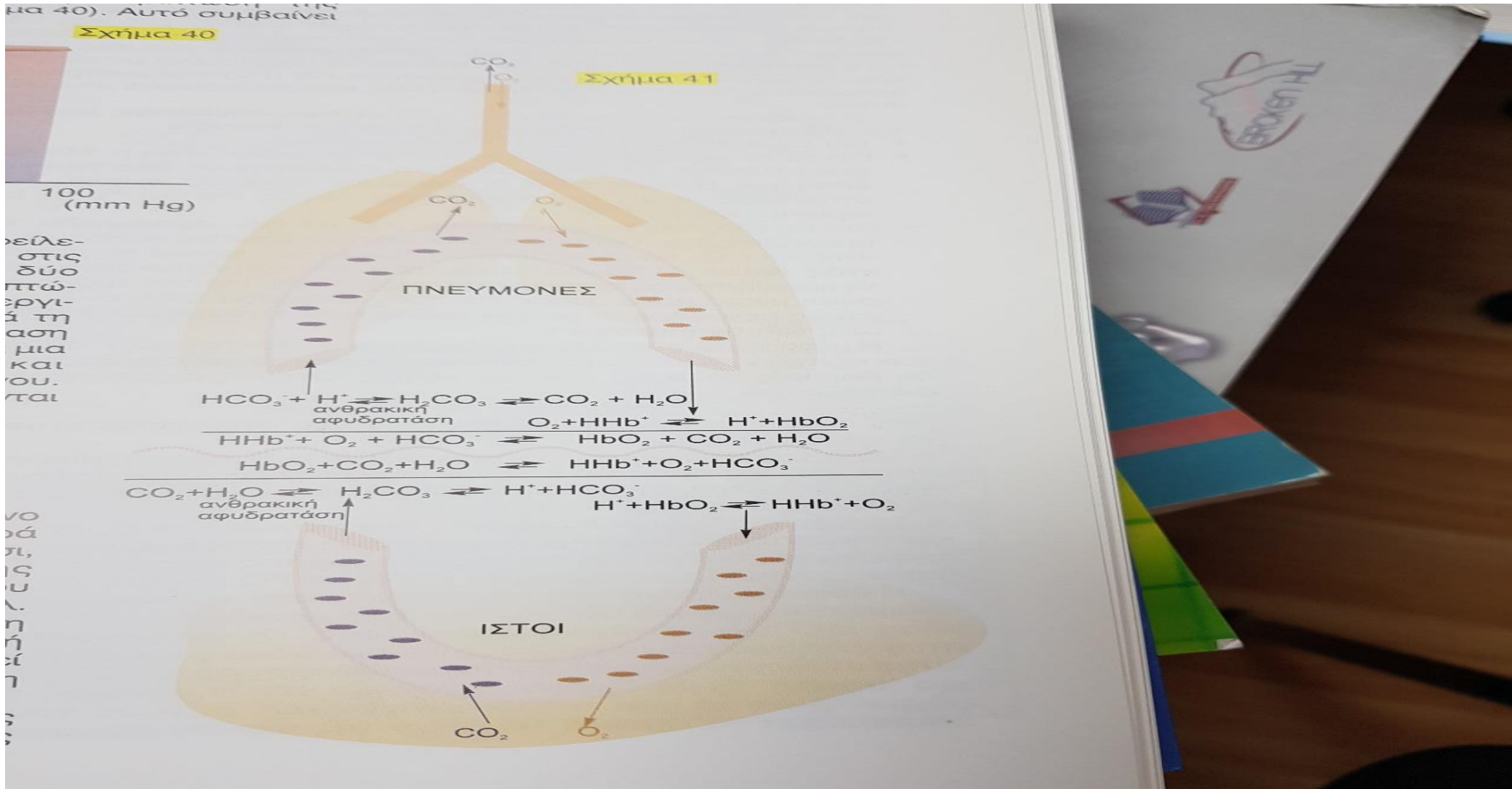
(β) Ερυθροκύτταρα στα τριχοειδή του πνεύμονα



ΕΙΚΟΝΑ 9.32

Μεταφορά του CO₂ ως καρβαμινο-αιμοσφαιρίνη. (α) Αντιδράσεις στα ερυθρά αιμοσφαίρια στους ιστούς. Το CO₂ διαχέεται μέσα στο ερυθρό αιμοσφαίριο και αντιδρά με την NH₂-τελική αμινική ομάδα των αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης προς σχηματισμό καρβαμινο-αιμοσφαιρίνης. Η αντίδραση απελευθερώνει ένα πρωτόνιο (H⁺) το οποίο προάγει τη διάσπαση του O₂ από την αιμοσφαιρίνη. Το O₂ διαχέεται στο εξωτερικό του ερυθρού αιμοσφαιρίου, στους ιστούς. **(β)** Οι αντιδράσεις στο ερυθρό αιμοσφαίριο, όπως συμβαίνουν στους πνεύμονες. Στους πνεύμονες, η υψηλή πίεση του O₂ εξαναγκάζει τις αντιδράσεις προς την αντίθετη κατεύθυνση, οδηγώντας στην εκπνοή του CO₂ από αυτούς. Οι αντιδράσεις είναι οι αντίθετες από εκείνες που συμβαίνουν στα αγγεία.

ΧΗΜΙΚΕΣ ΑΝΤΙΔΡΑΣΕΙΣ ΣΕ ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ ΚΑΙ ΙΣΤΟΥΣ



ΣΕ ΠΝΕΥΜΟΝΕΣ:

Υπάρχει υψηλή ποσότητα O_2 ενώ με την εκπνοή απομακρύνεται το CO_2 και έτσι ελαττώνεται η συγκέντρωση H^+

Η απομάκρυνση του CO_2 και H^+ από το μόριο της αιμοσφαιρίνης προκαλεί αλλαγές στη διαμόρφωση της πρωτεΐνης και ευνοείται η δέσμευση O_2 στην αιμοσφαιρίνη (R κατάσταση)

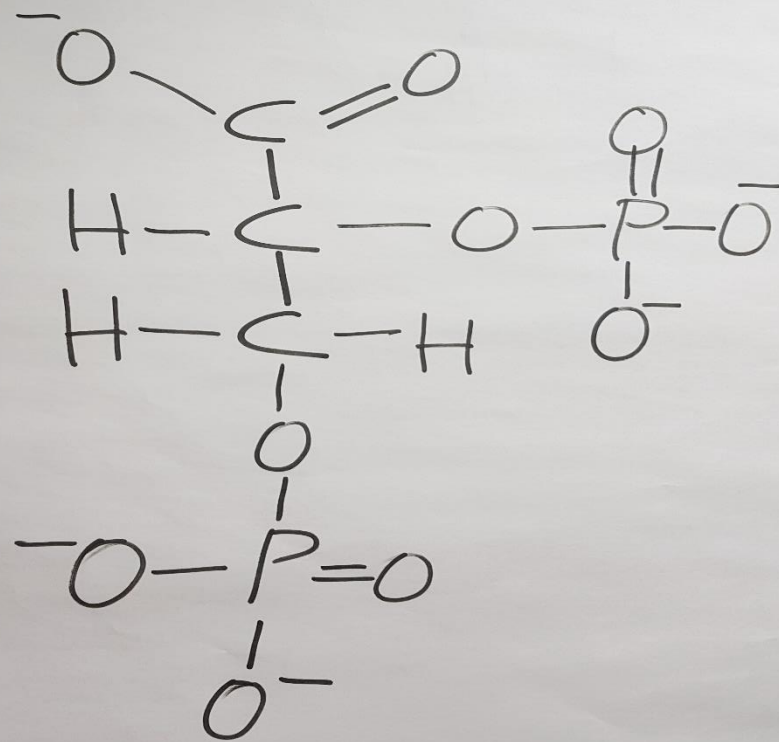
ΣΕ ΙΣΤΟΥΣ:

Υπάρχει υψηλή ποσότητα CO_2 οπότε παράγεται πολύ ποσότητα H^+ που δεσμεύονται στην αιμοσφαιρίνη και προκαλούν αλλαγές στη διαμόρφωση της με αποτέλεσμα την απομάκρυνση του O_2 . Η μυοσφαιρίνη δεσμεύει το O_2 μη αντιστρεπτά και επικρατεί η T κατάσταση

Η ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΠΡΟΣΔΕΝΕΙ 2,3-ΔΙΦΩΣΦΟΓΛΥΚΕΡΙΝΙΚΟ ΟΞΥ (BPG)

- Τα ερυθροκύτταρα έχουν υψηλή συγγένεια BPG
- Το BPG ελαττώνει τη συγγένεια της αιμοσφαιρίνης για το O_2 και σταθεροποιεί τη T κατάσταση
- Το BPG είναι αρνητικά φορτισμένο μόριο και συγκρατείται στο θύλακα μεταξύ των β υπομονάδων με ιοντικές έλξεις με θετικά φορτισμένες ομάδες αμινοξέων που περιβάλλουν τον θύλακα

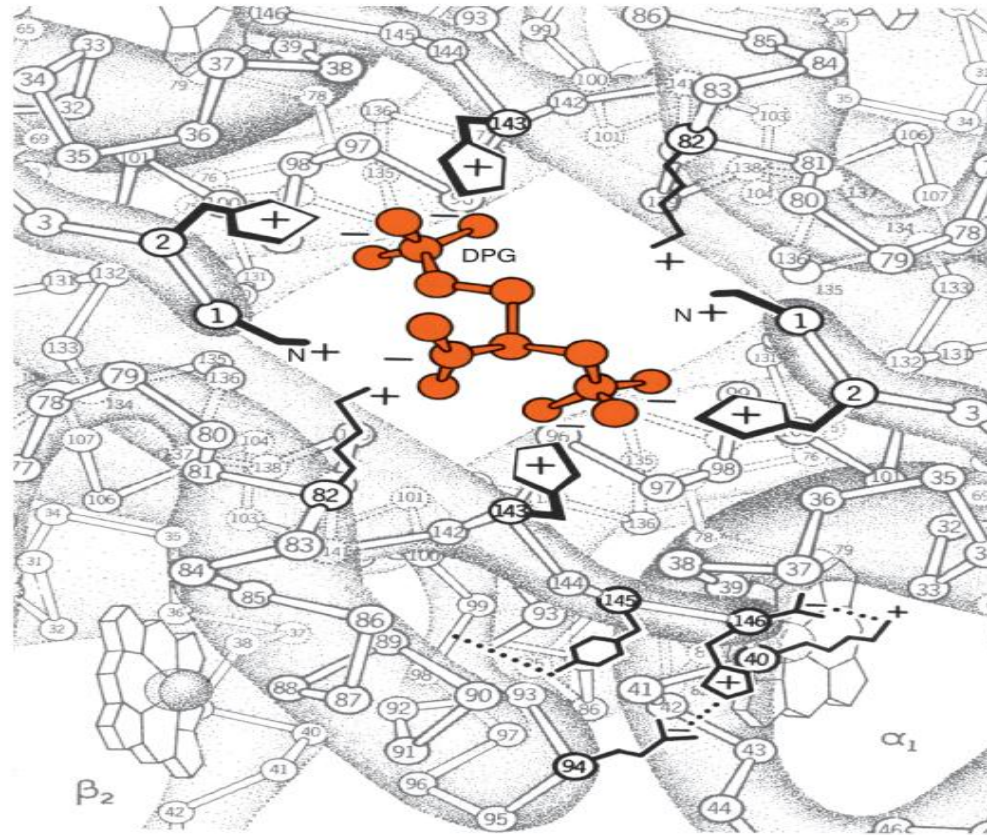
2,3-Διφωσφογλυκε-
-ρινικό οξύ
(BPG)

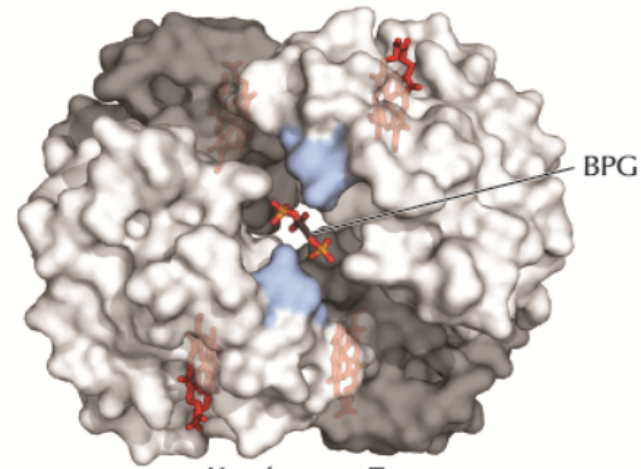


ΔΕΣΜΕΥΣΗ ΒΡG ΣΤΗΝ ΔΕΟΞΥΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ

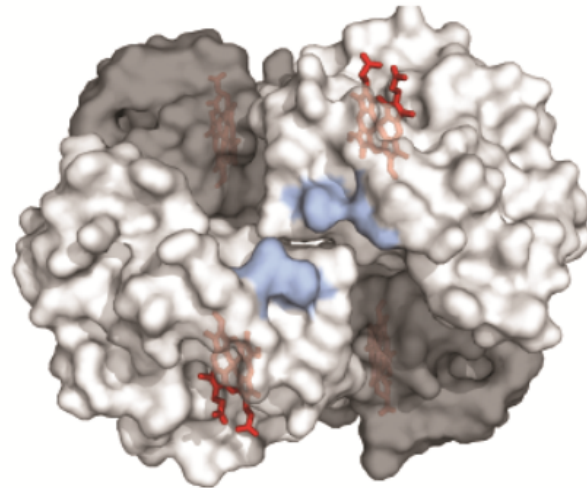
ΕΙΚΟΝΑ 9.35

Η θέση πρόσδεσης της 2,3-δισ-φωσφογλυκερικής στη β-β επιφάνεια της δεοξυ-αιμοσφαιρίνης. Εμφανείς είναι οι θετικά φορτισμένες πλευρικές αλυσίδες δύο βVal-1 αμινοτελικών αμμωνίων, βHis-2 ιμιδαζολίων, βLys-82 ε-αμμωνίων και β143-His ιμιδαζολίων. Η αρνητικά φορτισμένη 2,3-δισ-φωσφογλυκερική προσδένεται στη μέση του δακτύλιου των θετικά φορτισμένων ομάδων. (Ανατύπωση, κατόπιν αδείας, από: Dickerson, R. E. And Geis, I. *Hemoglobin: Structure, Function, Evolution, and Pathology*. Menlo Park, CA: Benjamin-Cummings, 1983. Illustration by Irving Geis, Geis Archives Trust. Rights owned by Howard Hughes Medical Institute).





Κατάσταση T
(α)

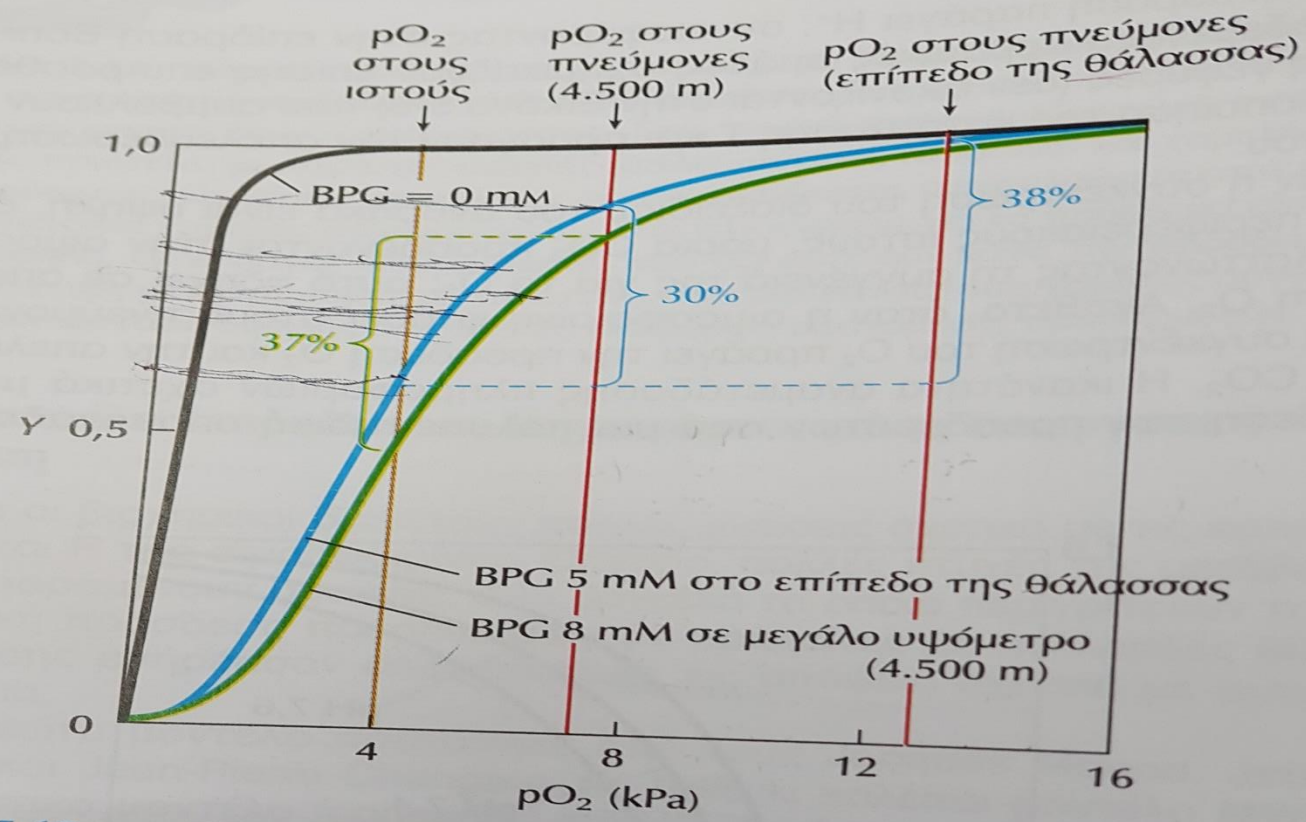


Κατάσταση R
(β)

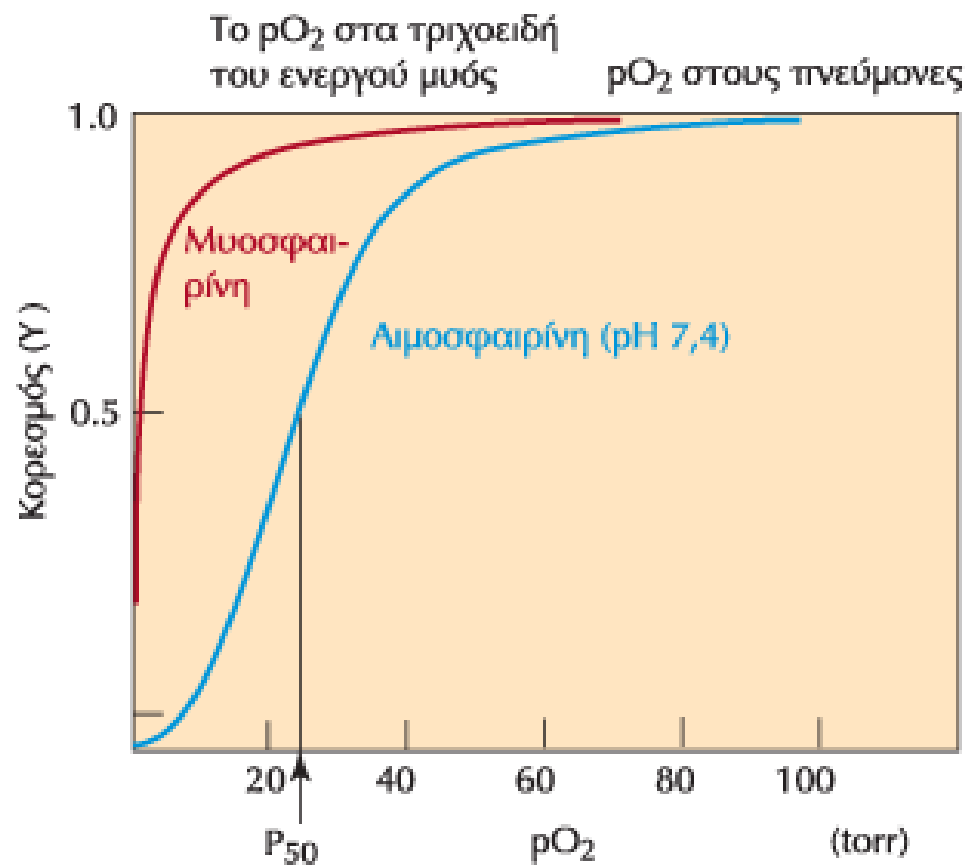
ΕΙΚΟΝΑ 5-18 Πρόσδεση του BPG στη δεοξυαιμοσφαιρίνη. (α) Η πρόσδεση του BPG σταθεροποιεί την κατάσταση T της δεοξυαιμοσφαιρίνης. Τα αρνητικά φορτία του BPG αλληλεπιδρούν με αρκετές θετικά φορτισμένες ομάδες (μπλε) οι οποίες περιβάλλουν τον θύλακα μεταξύ των β υπομονάδων στην κατάσταση T της δεοξυαιμοσφαιρίνης. (β) Μόλις προσδεθεί το O_2 και πραγματοποιηθεί η μετάβαση στην κατάσταση R, ο θύλακας πρόσδεσης του BPG εξαφανίζεται (PDB ID 1BBB). (Αντιπαραβάλετε με την Εικόνα 5-10). [Πηγές: PDB ID 1B86, V. Richard et al., *J Mol. Biol.* 233:270, 1993. (β) PDB ID 1BBB, M. M. Silva et al., *J Biol. Chem.* 267:17,248, 1992].

- Το BPG είναι ετερότροπος ρυθμιστής της αιμοσφαιρίνης
- Το BPG στο αίμα του ανθρώπου στο επίπεδο της θάλασσας είναι 5mM ενώ σε μεγάλο υψόμετρο ανέρχεται σε 8mM
- Το BPG αυξάνεται στα ερυθροκύτταρα σε ασθενείς με υποξία

επίπεδο της θάλασσας, η πρόσδεση του O_2 στην αιμοσφαιρίνη του υγιή άνθρωπο ρυθμίζεται έτσι ώστε η ποσότητα του O_2 η οποία αι-

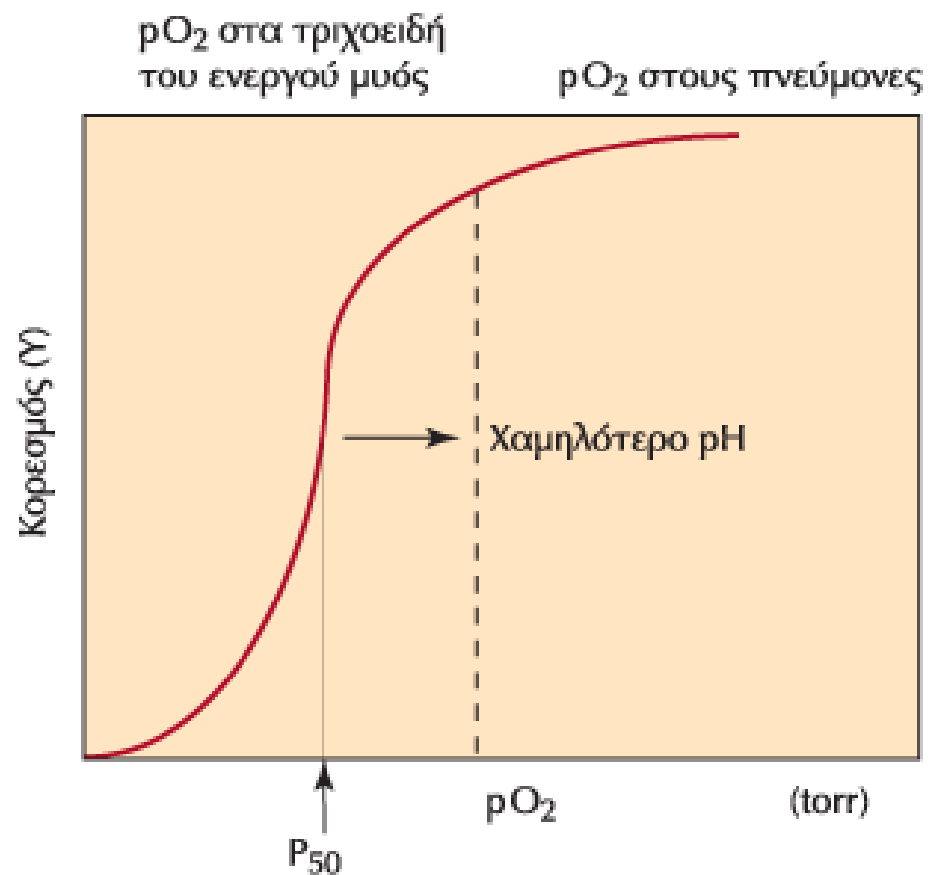


- ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΡΗ ΣΤΗΝ ΚΑΜΠΥΛΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ
- ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΟΥ ΒΡG ΣΤΗΝ ΚΑΜΠΥΛΗ ΔΕΣΜΕΥΣΗΣ ΤΟΥ ΟΞΥΓΟΝΟΥ ΣΤΗΝ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ



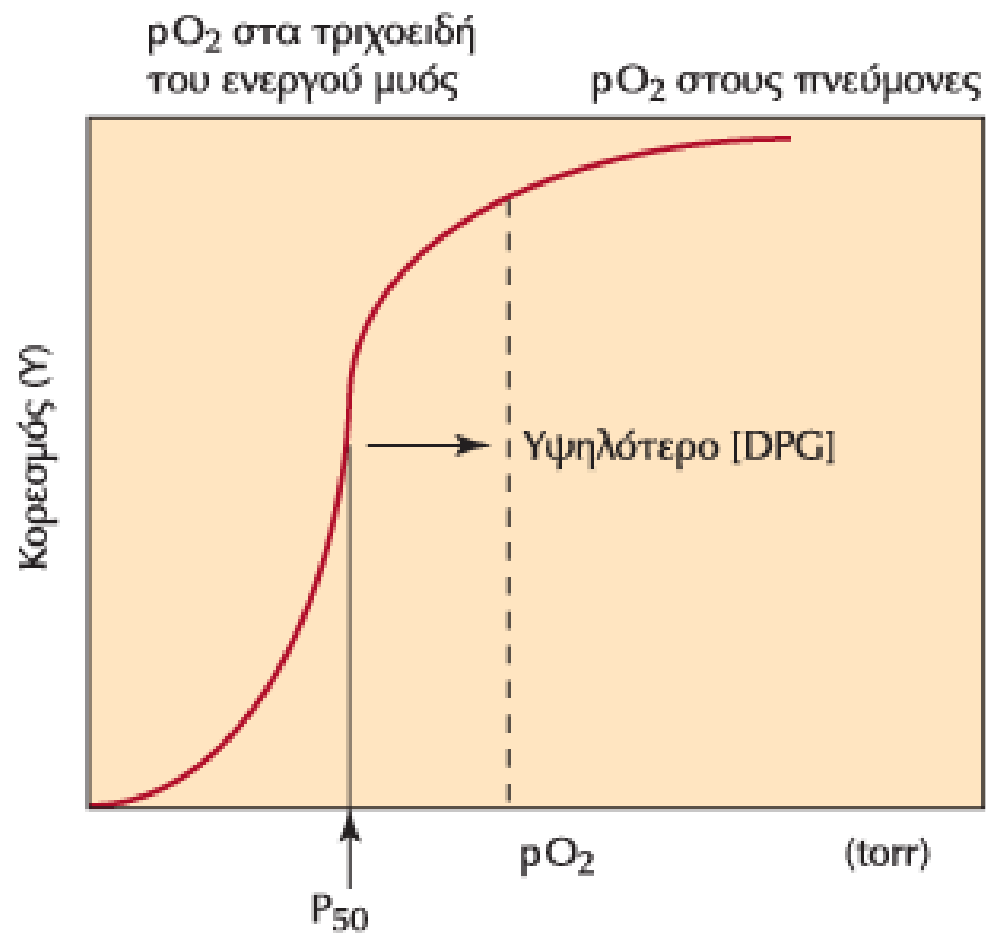
ΕΙΚΟΝΑ 9.23

Καμπύλες πρόσδεσης οξυγόνου για τη μυοσφαιρίνη και την αιμοσφαιρίνη.



ΕΙΚΟΝΑ 9.30

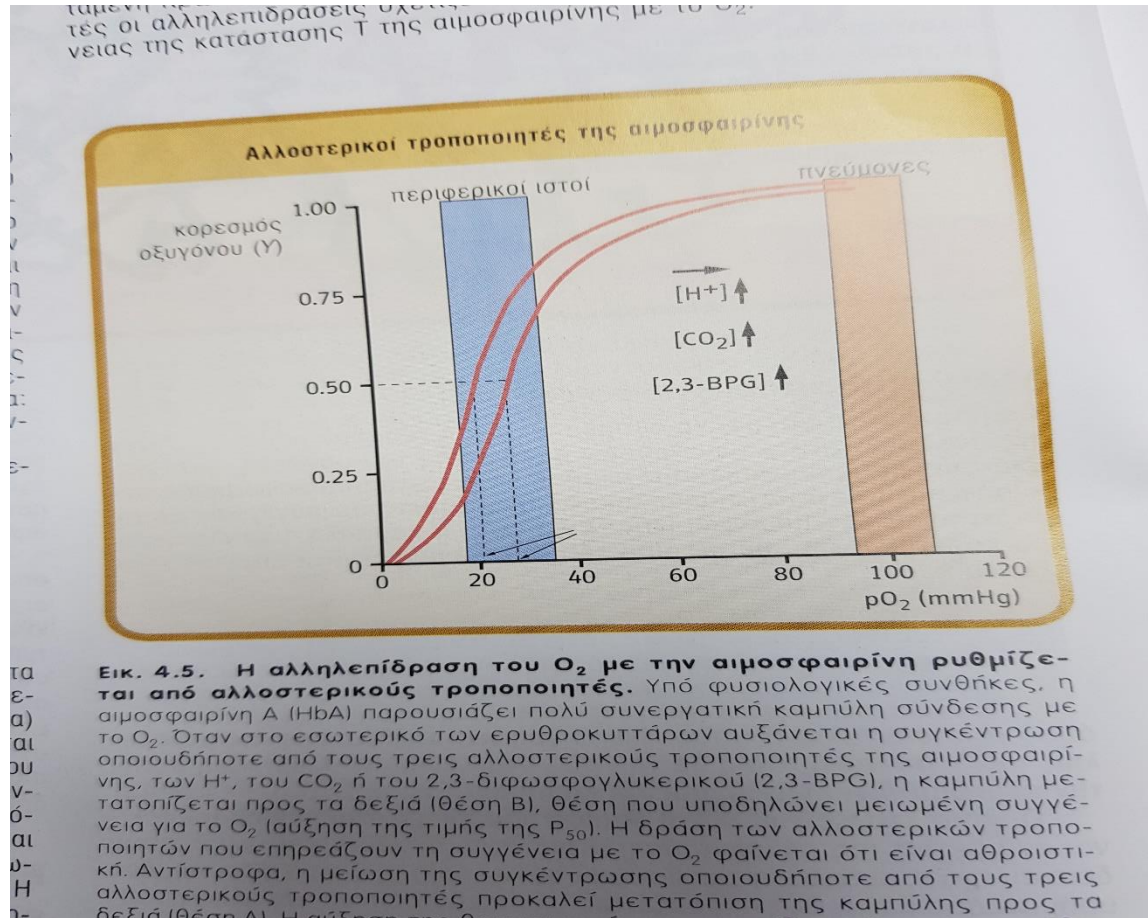
Αλλαγή στην καμπύλη κορεσμού οξυγόνου-αιμοσφαιρίνης σε υψηλότερη P₅₀ τιμή με μείωση του pH (αύξηση των [H⁺]).



ΕΙΚΟΝΑ 9.34

Αλλαγή στην καμπύλη κορεσμού οξυγόνου - αιμοσφαιρίνης σε μεγαλύτερη P_{50} τιμή, με αύξηση της συγκέντρωσης του BPG.

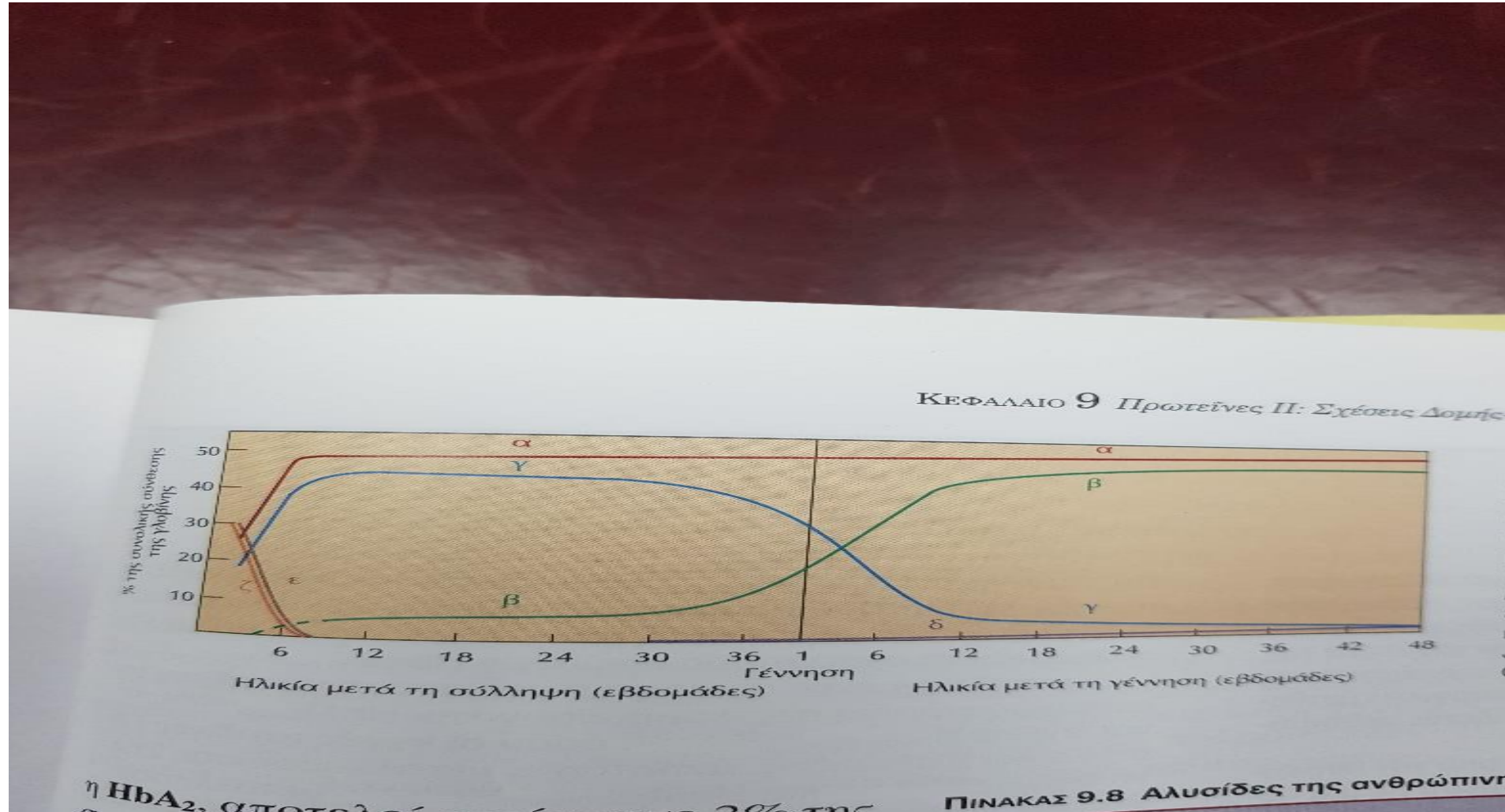
ΑΛΛΟΣΤΕΡΙΚΟΙ ΤΡΟΠΟΠΟΙΗΤΕΣ ΤΗΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ



• ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ ΤΟΥ ΕΜΒΡΥΟΥ

- Η αιμοσφαιρίνη του εμβρύου αποτελείται από 2α και 2γ υπομονάδες (α2γ2 αιμοσφαιρίνη) και έχει χαμηλότερη χημική συγγένεια για το BPG και υψηλότερη χημική συγγένεια για το O₂. Έτσι το έμβρυο αποσπά οξυγόνο από το αίμα της μητέρας του

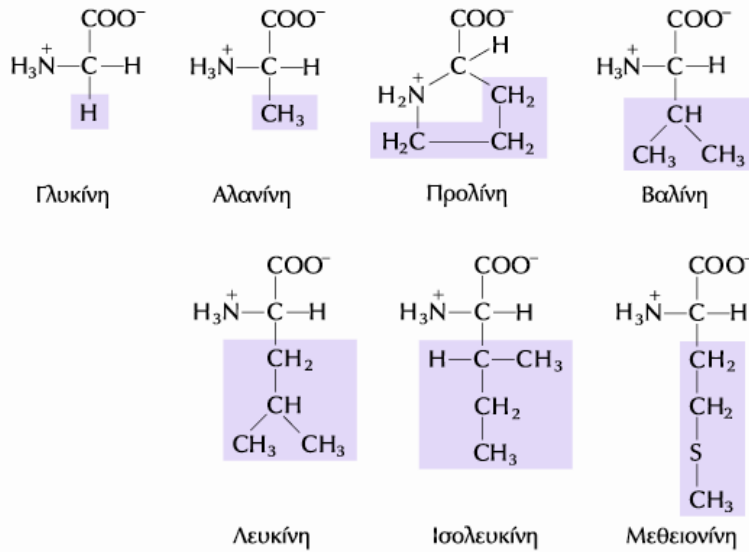
ΗΛΙΚΙΑ ΚΑΙ ΥΠΟΜΟΝΑΔΕΣ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗΣ



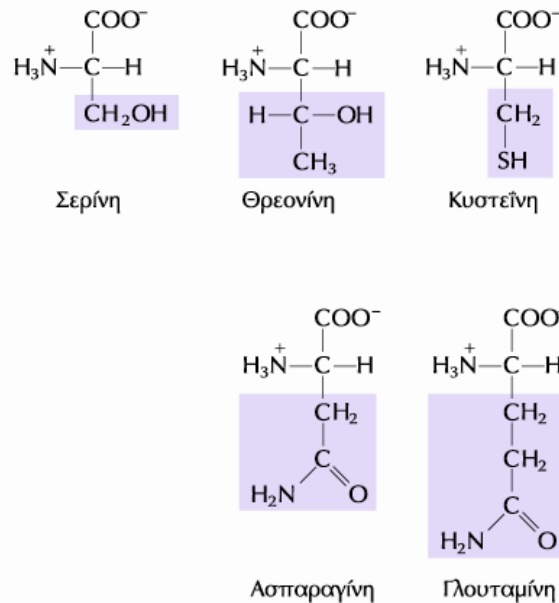
ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Αντικατάσταση ενός γλουταμικού με μια βαλίνη στις β υπομονάδες στη θέση 6 της αιμοσφαιρίνης, δημιουργεί, κατά την αποοξυγόνωση, την αιμοσφαιρίνη S (δεοξυαιμοσφαιρίνη S)

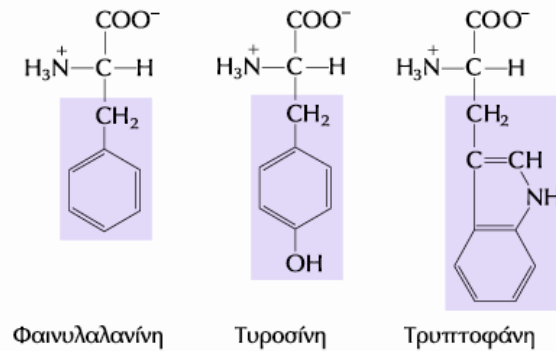
Μη πολικές, αλειφατικές ομάδες R



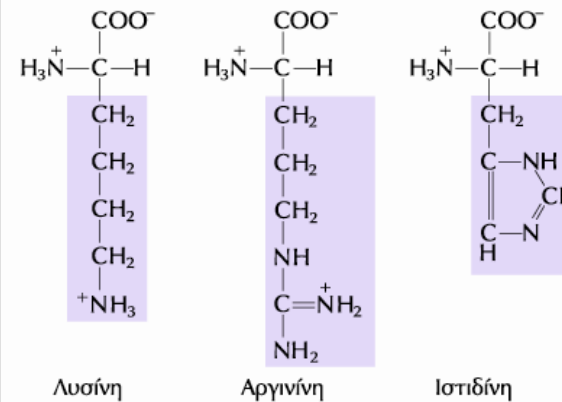
Πολικές, μη φορτισμένες ομάδες R



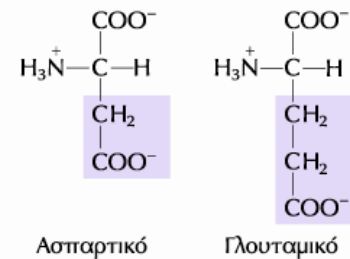
Αρωματικές ομάδες R



Θετικά φορτισμένες ομάδες R



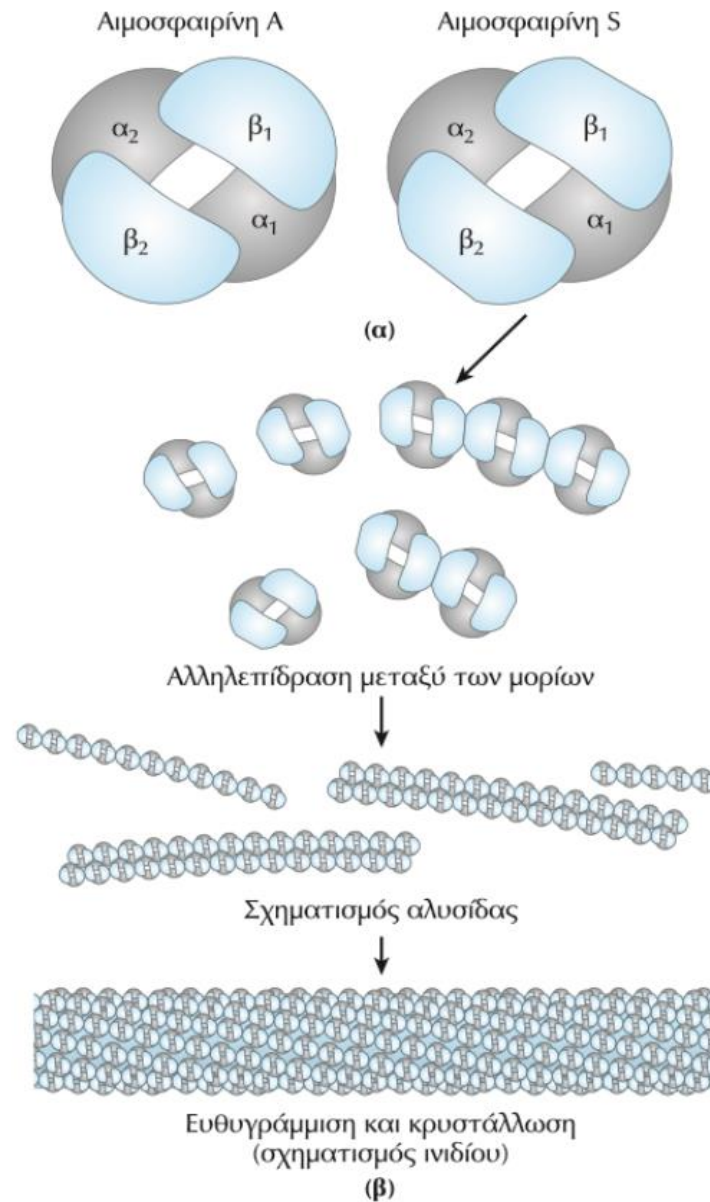
Αρνητικά φορτισμένες ομάδες R



Το σημείο 6 είναι υδρόφοβο και κολλώδες και είναι στην εξωτερική επιφάνεια του μορίου προκαλώντας την ανώμαλη αλληλεπίδραση και συνάθροιση των μορίων της δεοξυαιμοσφαιρίνης S που δημιουργεί στη συνέχεια τις επιμήκεις ίνες και το σχήμα δρεπάνου στα ερυθροκύτταρα

Οι ασθενείς έχουν τη μισή ποσότητα αιμοσφαιρίνης από τους φυσιολογικούς. Η ομόζυγη κατάσταση είναι θανατηφόρα ενώ η ετερόζυγη είναι φυσιολογική

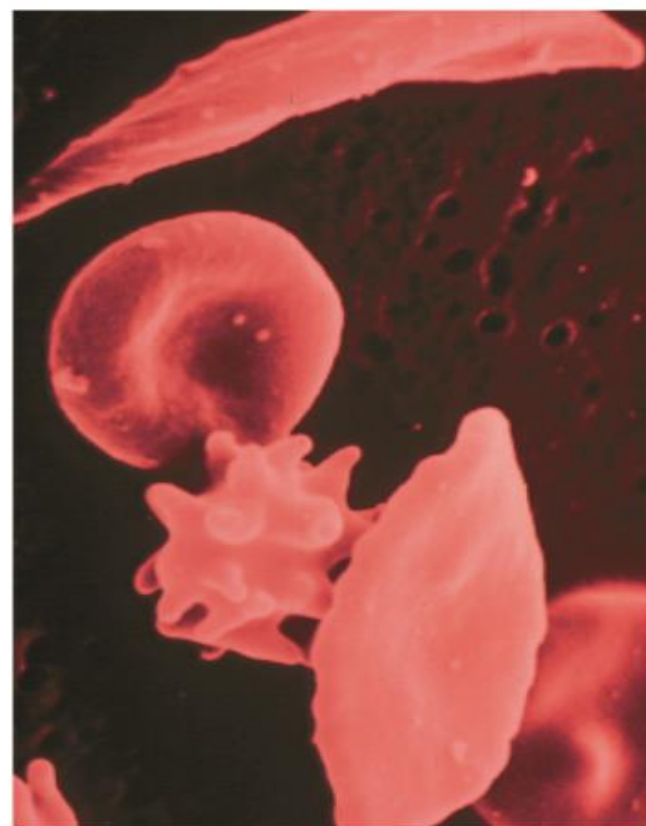
ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΙ ΔΡΕΠΑΝΟΚΥΤΤΑΡΙΚΗ ΑΙΜΟΣΦΑΙΡΙΝΗ





(α)

2 μm



(β)

ΕΙΚΟΝΑ 5-19 Σύγκριση των ομοιόμορφων, κυπελοειδών, φυσιολογικών ερυθροκυττάρων (α) με τα ποικιλόμορφα ερυθροκύτταρα στη δρεπανοκυτταρική αναιμία (β), τα οποία ποικίλλουν από φυσιολογικά έως αγκαθωτά ή δρεπανοειδή. [Πηγές: (α) A. Syred/Science Source. (β) Jackie Lewin, Royal Free Hospital/Science Source].