

Λειτουργία των πρωτεϊνών Πρωτεΐνες που προσδένουν οξυγόνο



Εθνικό και Καποδιστριακό
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Άννα Παπαδοπούλου, DEA, PhD

ΕΔΙΠ, Ιατρική Σχολή

Εργαστήριο Κλινικής Βιοχημείας, ΠΓΝΑ Αττικών

Χωρέμιο Ερευνητικό Εργαστήριο, Α' Παιδιατρική Κλινική,
Νοσοκομείο Παίδων «Η Αγία Σοφία»

ΠΗΓΕΣ

Lehninger's Βασικές αρχές Βιοχημείας

Nelson, Cox, Hoskins

Κεφάλαιο 5: Λειτουργία των πρωτεϊνών

Κύρια σημεία

- Πρόσδεση οξυγόνου σε μία προσθετική ομάδα αίμης
- Σφαιρίνες
- Μυοσφαιρίνη
- Ποσοτική περιγραφή αλληλεπιδράσεων πρωτεΐνης-προσδέματος
- Δομή πρωτεΐνης και τρόπος πρόσδεσης των προσδεμάτων
- Μεταφορά του οξυγόνου στο αίμα μέσω της αιμοσφαιρίνης
- Δρεπανοκυτταρική αναιμία

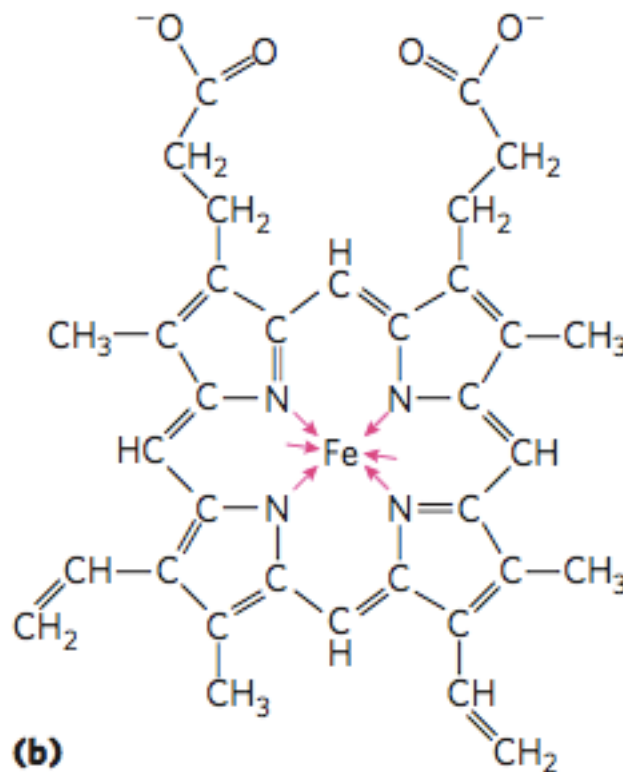
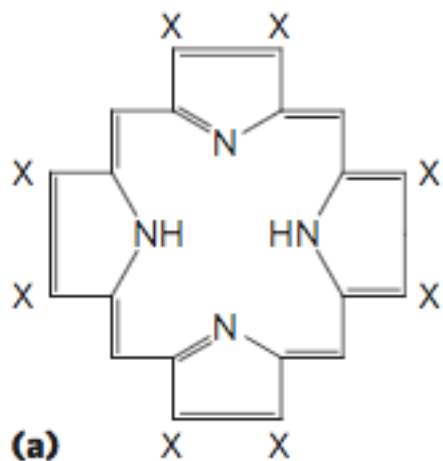
Γενικά

- Οι λειτουργίες των πρωτεϊνών εξαρτώνται από αλληλεπιδράσεις με άλλα μόρια
- Το αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων μπορεί να είναι μία αντίδραση που
 - μεταβάλλει τη διαμόρφωση ή σύνθεση του αλληλεπιδρώντος μορίου, με την πρωτεΐνη να ενεργεί ως καταλύτης της αντίδρασης ή αλλιώς ένζυμο.
 - δεν μεταβάλλει ούτε τη διαμόρφωση, ούτε τη σύνθεση του αλληλεπιδρώντος μορίου (εφήμερες αλληλεπιδράσεις, μεταφορά οξυγόνου, η λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος και η μυϊκή συστολή)
- Πρόσδεμα: κάθε μόριο που προσδέεται αντιστρεπτά σε μία πρωτεΐνη. Ειδικά για τα ένζυμα, τα μόρια που συνδέονται με αυτά καλούνται υποστρώματα, ενώ η θέση πρόσδεσης καλείται καταλυτικό ή ενεργό κέντρο
- Θέση πρόσδεσης: θέση στην πρωτεΐνη, η οποία είναι συμπληρωματική ως προς το μέγεθος, το σχήμα, το φορτίο και τον υδρόφοβο ή υδρόφιλο χαρακτήρα του προσδέματος
- Επαγόμενη προσαρμογή: αλλαγή διαμόρφωσης της πρωτεΐνης (ακόμη και μετακίνηση αρκετών νανομέτρων) που οδηγεί στην ακόμη πιο σφιχτή πρόσδεση του προσδέματος ή την πρόσδεση περισσότερων προσδεμάτων (π.χ. η αιμοσφαιρίνη με το O_2)

Το οξυγόνο προσδένεται σε μία προσθετική ομάδα αίμης

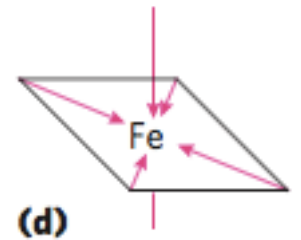
- Το οξυγόνο δεν είναι ευδιάλυτο στα υδατικά διαλύματα και καμία πλευρική ομάδα αμινοξέων των πρωτεϊνών δεν είναι κατάλληλη για την αντιστρεπτή πρόσδεση μορίων οξυγόνου
- Σίδηρος και χαλκός: ισχυρή τάση δέσμευσης οξυγόνου
- Ο ελεύθερος σίδηρος προάγει τη δημιουργία πολύ δραστικών παραγώγων του οξυγόνου, όπως ρίζες υδροξυλίου (ελεύθερες ρίζες οξυγόνου) που μπορούν να καταστρέψουν το DNA και άλλα μακρομόρια
- Συχνά ενσωματώνεται στην προσθετική ομάδα των πρωτεϊνών (αίμη)

Αίμη: πρωτοπορφυρίνη + σίδηρος

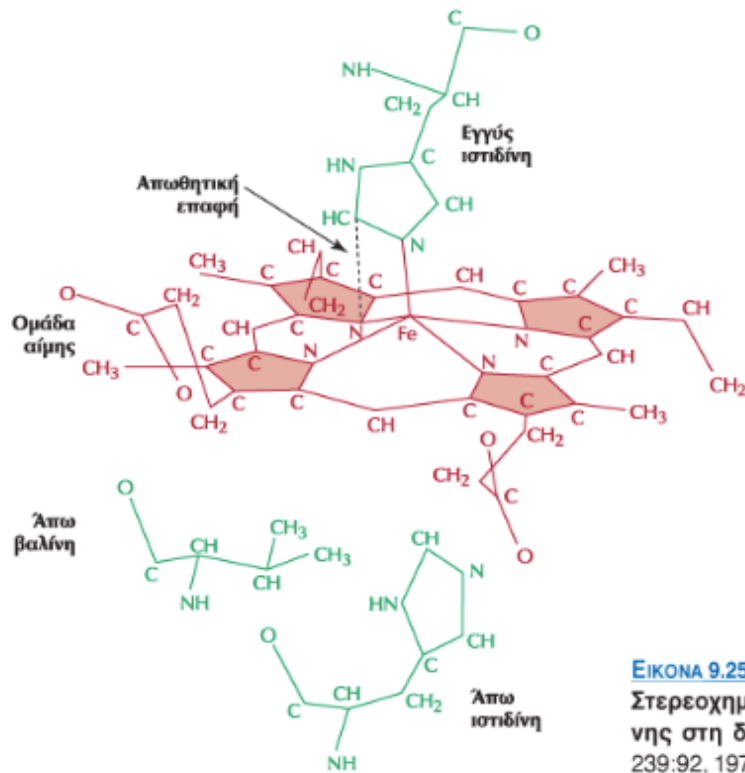


- Δακτύλιος πορφυρίνης: πολύπλοκος οργανικός δακτύλιος

Τα συντονισμένα άτομα αζώτου αποτρέπουν τη μετατροπή του σιδήρου της αίμης σε τρισθενή κατάσταση. Ο Fe⁺² προσδένει αντιστρεπτά το οξυγόνο, ενώ στη Fe⁺³ δεν το προσδένει



Ο ρόλος της ιστιδίνης



ΕΙΚΟΝΑ 9.25

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

- Στις σφαιρίνες, ο ένας από τους από τους 2 ελεύθερους δεσμούς συναρμογής του Fe^{+2} είναι κατειλημμένος από ένα άτομο αζώτου της πλευρικής αλυσίδας ενός καταλοίπου ιστιδίνης που αναφέρεται ως εγγύς ιστιδίνη, ενώ ο άλλος είναι η θέση πρόσδεσης για το μοριακό οξυγόνο.
- Όταν προσδένεται το οξυγόνο, οι ηλεκτρονιακές ιδιότητες του σιδήρου της αίμης αλλάζουν (σκύρο ιώδες του φλεβικού αίματος που έχει χάσει το οξυγόνο σε ζωηρό κόκκινο του αρτηριακού που είναι πλούσιο σε οξυγόνο)

Σφαιρίνες

Οικογένεια πρωτεϊνών με παρόμοια πρωτοταγή και τριτοταγή δομή
Συμμετέχουν στη μεταφορά ή αποθήκευση οξυγόνου, οξειδίου του αζώτου ή μονοξειδίου του άνθρακα

Στον άνθρωπο και στα θηλαστικά υπάρχουν τουλάχιστον 4 είδη σφαιρινών:

- η μονομερής μυοσφαιρίνη: διευκολύνει τη διάχυση του οξυγόνου στους μυς (άφθονη τους μυς των καταδυόμενων θηλαστικών, όπως η φάλαινα και η φώκια και αποθήκη οξυγόνου για παρατεταμένη παραμονή κάτω από τη στάθμη της θάλασσας)
- η τετραμερής αιμοσφαιρίνη: υπεύθυνη για τη μεταφορά οξυγόνου στη ροή του αίματος
- η μονομερής νευροσφαιρίνη: εκφράζεται στους νευρώνες και βοηθά στην προστασία του εγκεφάλου από την υποξία ή την ισχαιμία
- η μονομερής κυτταροσφαιρίνη: σε υψηλές συγκεντρώσεις στα τοιχώματα των αιμοφόρων αγγείων ρυθμίζοντας τα επίπεδα του μονοξειδίου του αζώτου

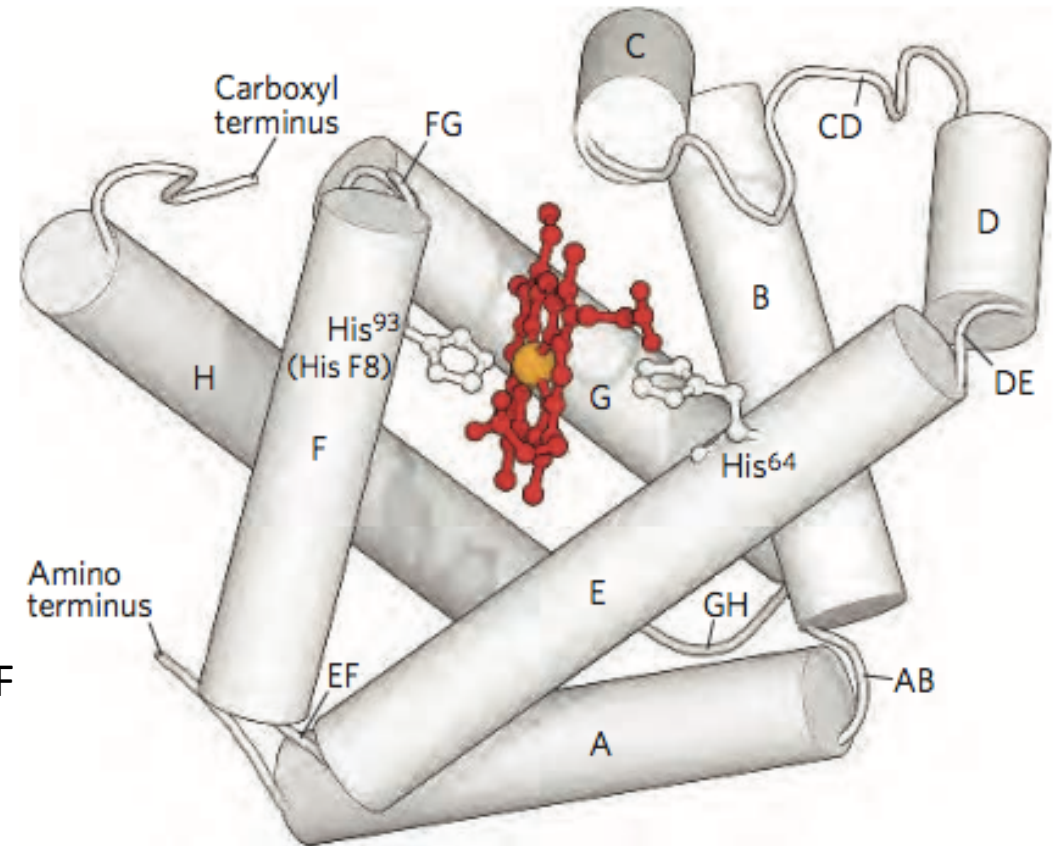
Μυοσφαιρίνη

- 153 αμινοξικά κατάλοιπα και 1 μόριο αίμης
- 8 τμήματα α-έλικας που συνδέονται μεταξύ τους με καμπές A-H
- Αντιστρεπτή αλληλεπίδραση πρωτεΐνης-προσδέματος

Ονομασία αμινοξέων:

Εγγύς ιστοιδίνη: His⁹³ 93^ο αμινοξικό κατάλοιπο

ή His F8 8^ο αμινοξικό κατάλοιπο στην α-έλικα F



Ποσοτική περιγραφή αντιστρεπτής αλληλεπίδρασης πρωτεΐνης-προσδέματος



Εξίσωση ισορροπίας

$$K_a = \frac{[PL]}{[P][L]} = \frac{k_a}{k_d}$$

K_a : Σταθερά ισορροπίας, σύνδεσης (μέτρο συγγένειας του προσδέματος για την πρωτεΐνη)

k_a , k_d : σταθερές ταχύτητας, σύνδεσης και διάστασης

$$K_a[L] = \frac{[PL]}{[P]}$$

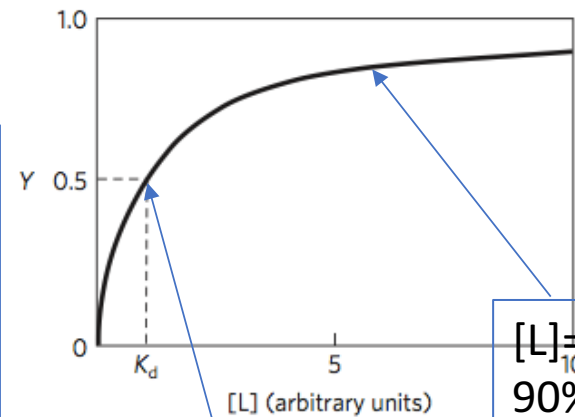
Όταν η συγκέντρωση του προσδέματος είναι πολύ μεγαλύτερη των θέσεων πρόσδεσής του, η πρόσδεση του προσδέματος στην πρωτεΐνη δεν αλλάζει σημαντικά τη συγκέντρωση του ελεύθερου προσδέματος

$$Y = \frac{\text{binding sites occupied}}{\text{total binding sites}} = \frac{[PL]}{[PL] + [P]}$$

$$K_a = \frac{[PL]}{[P][L]}$$

$$Y = \frac{K_a[L][P]}{K_a[L][P] + [P]} = \frac{K_a[L]}{K_a[L] + 1} = \frac{[L]}{[L] + \frac{1}{K_a}}$$

$1/K_d$



$[L]=9K_d$
90% πρόσδεση

$$K_d = \frac{[P][L]}{[PL]} = \frac{k_d}{k_a}$$

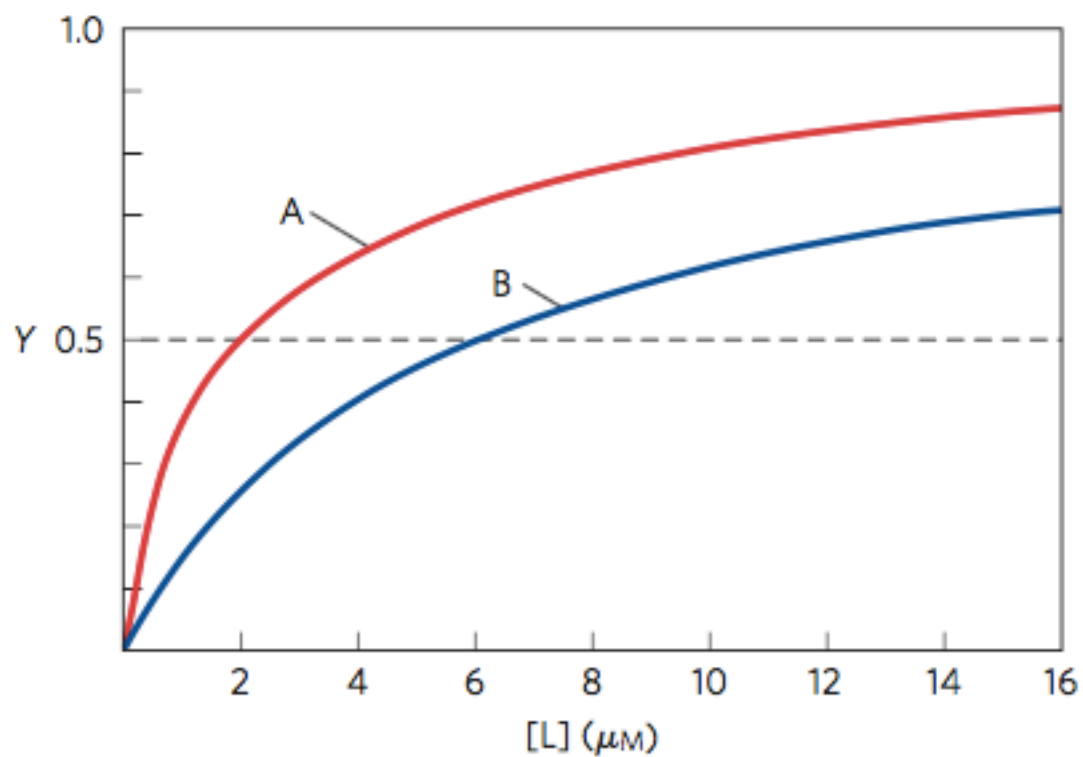
$$[PL] = \frac{[P][L]}{K_d}$$

$$Y = \frac{[L]}{[L] + K_d}$$

Κατάσταση ημικορεσμού της πρωτεΐνης
 Όσο πιο σφιχτά προσδένει η πρωτεΐνη το πρόσδεμα, τόσο μικρότερη είναι η συγκέντρωση του προσδέματος που απαιτείται για να καταληφθούν οι μισές θέσεις πρόσδεσης, άρα τόσο μικρότερη και η τιμή της K_d

Το κλάσμα των κατειλημμένων θέσεων πρόσδεσης προσεγγίζει τον κορεσμό καθώς αυξάνει η $[L]$.
 Η τιμή της $[L]$ στην οποία είναι κατειλημμένες οι μισές θέσεις πρόσδεσης (α) του προσδέματος ($Y=0.5$) αντιστοιχεί στην τιμή $1/K_a (=K_d, \text{σταθερά ισορροπίας για την απελευθέρωση του προσδέματος})$

Παράδειγμα



Όταν $Y_A = Y_B$,
 $K_d A < K_d B$,
η A έχει υψηλότερη συγγένεια
για το πρόσδεμα

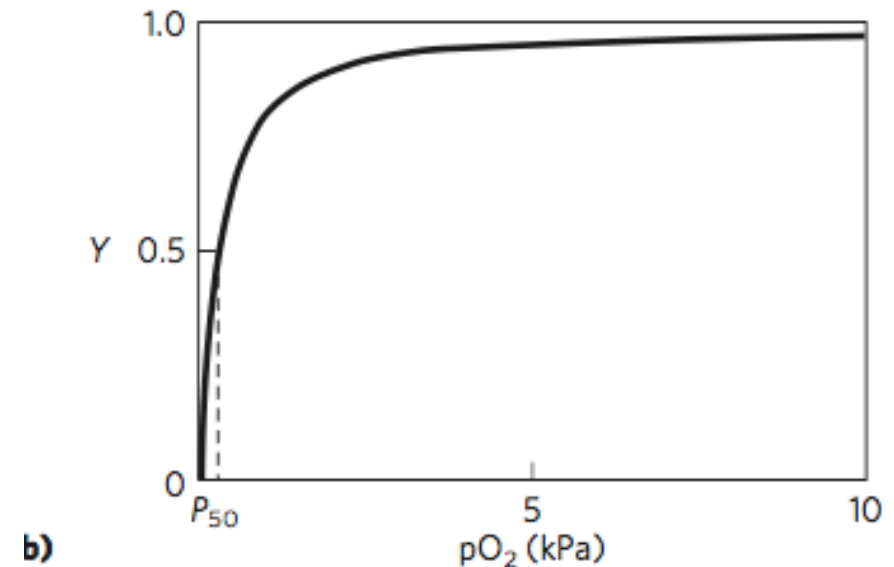
Πρόσδεση οξυγόνου στη μυοσφαιρίνη

$$Y = \frac{[O_2]}{[O_2] + K_d}$$

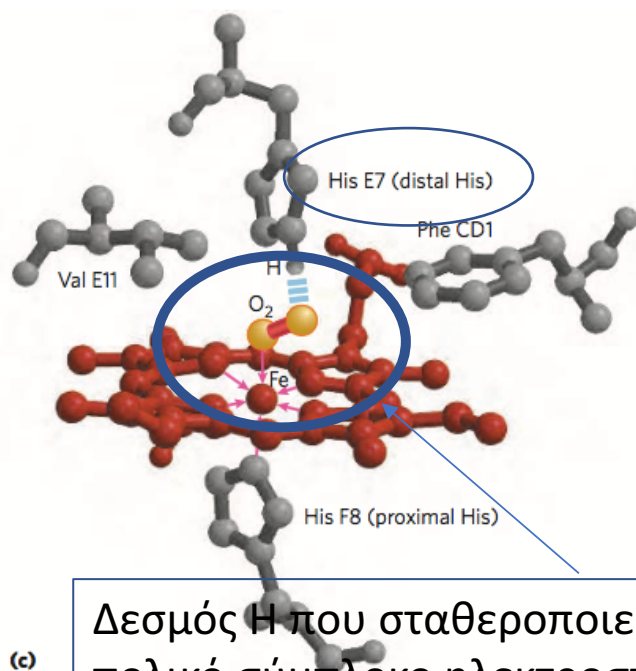
$$Y = \frac{[O_2]}{[O_2] + [O_2]_{0.5}}$$

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

Η συγκέντρωση μίας πτητικής ουσίας σε διάλυμα είναι πάντοτε ανάλογη με την τοπική μερική πίεση του αερίου



Η δομή της πρωτεΐνης επηρεάζει τον τρόπο πρόσδεσης των προσδεμάτων



(ε) Δεσμός H που σταθεροποιεί το πολικό σύμπλοκο ηλεκτροστατικά

Όταν η αίμη προσδένεται σε μυοσφαιρίνη, η συγγένειά της για το οξυγόνο αυξάνεται μέσω της παρουσίας της περιφερειακής ιστοιδίνης.

Η πρόσδεση εξαρτάται επίσης από μοριακές κινήσεις στη δομή της πρωτεΐνης.

Το μόριο της αίμης είναι ενταφιασμένο στο βάθος του πτυχωμένου μορίου.

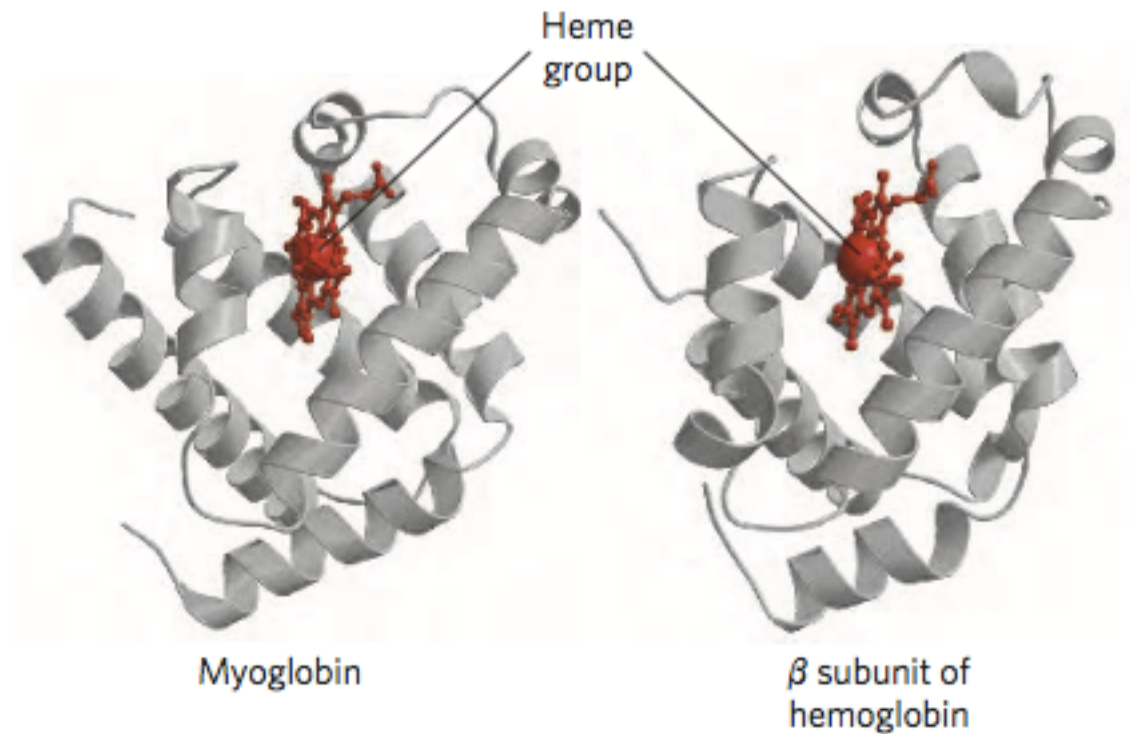
Δεν υπάρχει άμεση οδός για τη μετακίνηση του οξυγόνου απ' το διάλυμα προς τη θέση πρόσδεσης.

Η ταχεία κάμψη των πλευρικών αλυσίδων των αμινοξέων δημιουργεί εφήμερες κοιλότητες στην πρωτεϊνική δομή και το O₂ βρίσκει το δρόμο του διαμέσου των κοιλοτήτων.

Η περιφερειακή ιστοιδίνη δρα ως κύρια δίοδος που ελέγχει την πρόσβαση σε έναν από τους κυριότερους θύλακες κοντά στο σίδηρο της αίμης.

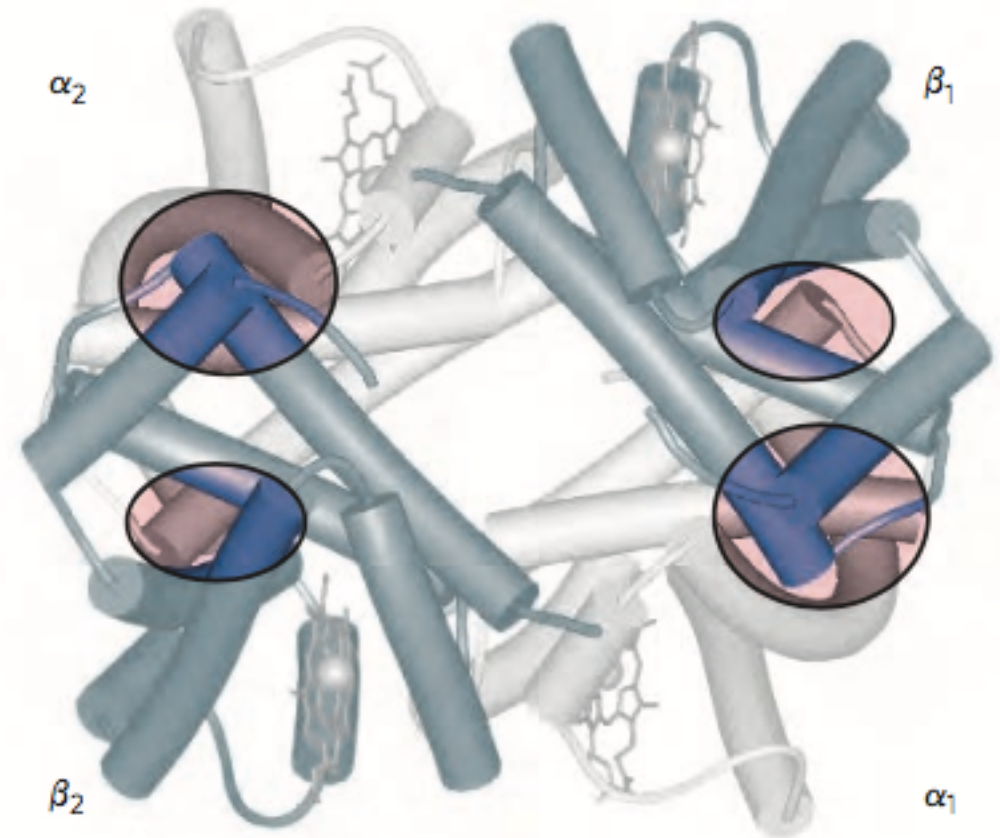
Αιμοσφαιρίνη: μεταφορά του O_2 στο αίμα

- Ερυθροκύτταρα: διάρκεια ζωής 120 ημέρες και δεν πολλαπλασιάζονται (ατελή κύτταρα)
- Στο αρτηριακό αίμα, η αιμοσφαιρίνη είναι κορεσμένη με οξυγόνο περίπου 96%
- Στο φλεβικό αίμα, είναι κορεσμένη κατά 64%
- Σε κάθε 100ml αίματος που διέρχονται από έναν ιστό απελευθερώνουν 1/3 του οξυγόνου που μεταφέρουν ή 6.5 ml αερίου οξυγόνου σε ατμοσφαιρική πίεση και στη θερμοκρασία του σώματος



Αιμοσφαιρίνη: μεταφορά του O_2 στο αίμα

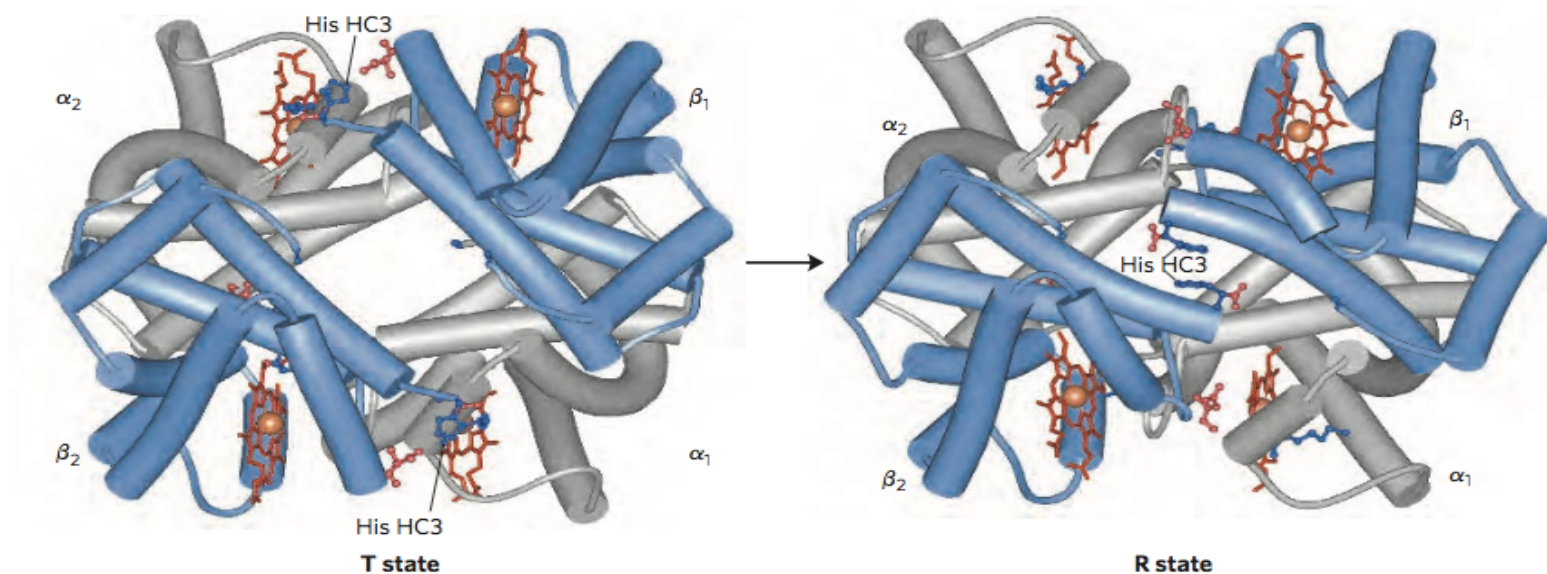
- Αδρά σφαιρική
- Τετραμερής με 4 προσθετικές ομάδες αίμης, μία/πολυπεπτιδική αλυσίδα: 2 α (141 αμινοξέα η κάθε μία) και 2 β (146 αμινοξέα η κάθε μία) για τους ενήλικες
- 50% ομολογία με την αλληλουχία της μυοσφαιρίνης, μεγάλες ομοιότητες των δομών
- Ονοματολογία όπως για μυοσφαιρίνη
- Η αίμη προσδένεται στις έλικες E και F σε κάθε μία από τις υπομονάδες
- Ισχυρές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα σε ανόμοιες υπομονάδες
- Διαφάσεις:
 - $\alpha_1\beta_1$ και $\alpha_2\beta_2$, περιλαμβάνουν >30 αμινοξέα
 - $\alpha_1\beta_2$ και $\alpha_2\beta_1$, περιλαμβάνουν 19 αμινοξέα

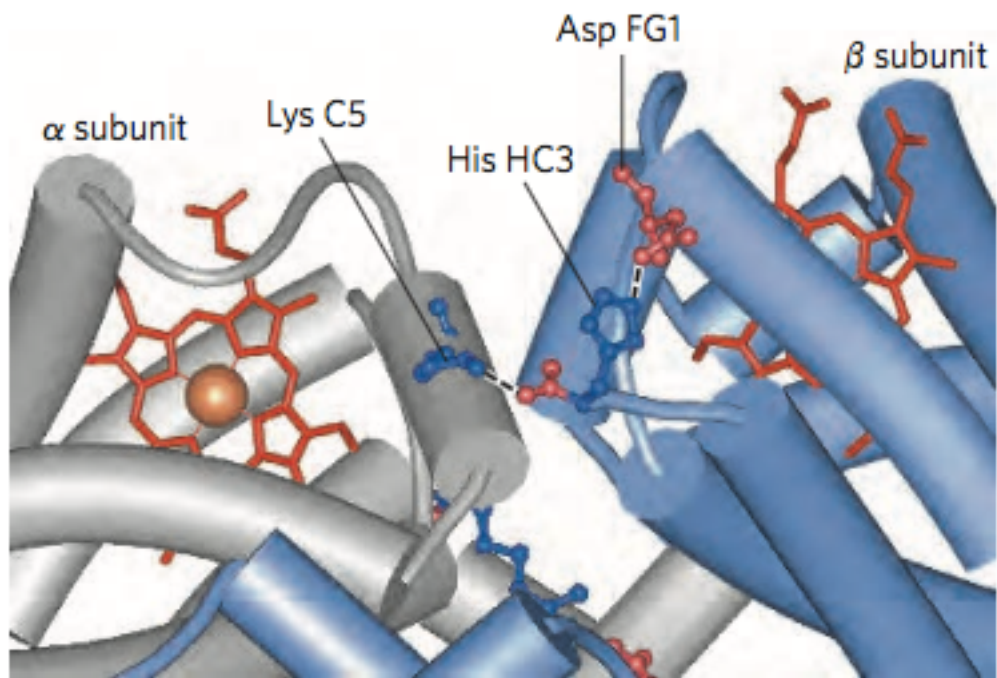


Ήπια κατεργασία με ουρία αποσυναρμολογεί το τετραμερές σε $\alpha\beta$ διμερή
Δεσμοί υδρογόνου και λίγα ιοντικά ζεύγη

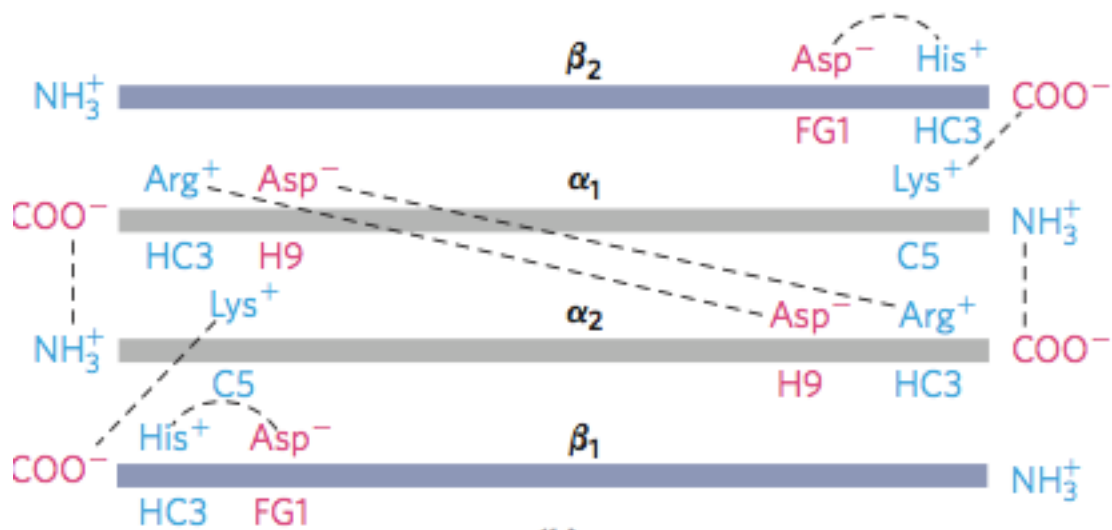
Αιμοσφαιρίνη: μεταφορά του O_2 στο αίμα

- 2 διαμορφώσεις: κατάσταση Relaxed, Tense
- Υψηλότερη συγγένεια του οξυγόνου για την κατάσταση R (οξυαιμοσφαιρίνη)
- Η κύρια διαμόρφωση είναι η T (πιο σταθερή) (δεοξυαιμοσφαιρίνη)



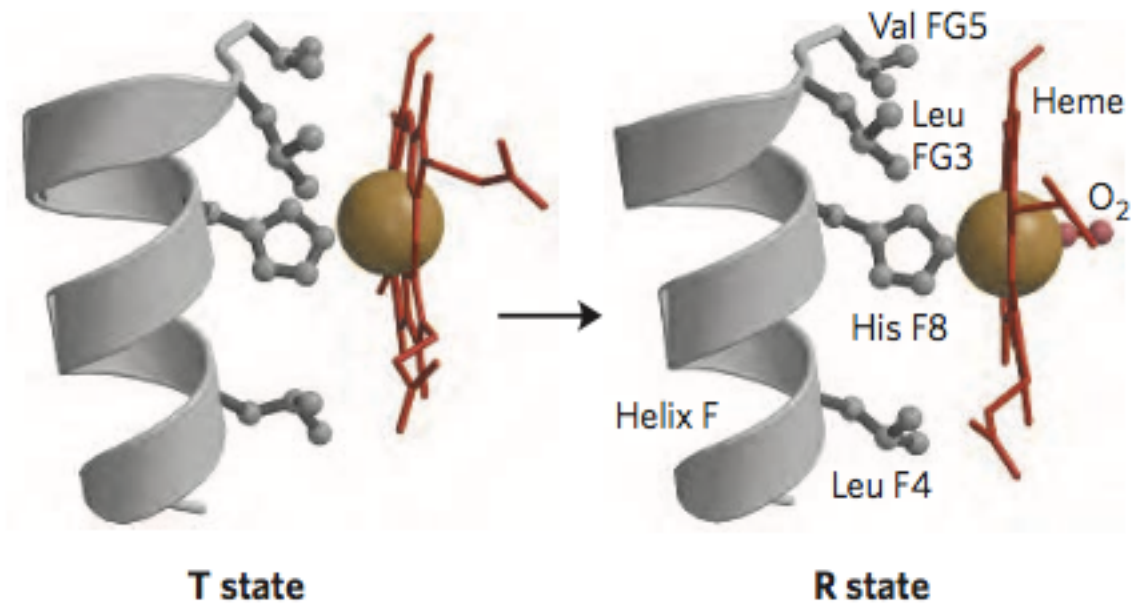


(a)



(b)

Η πρόσδεση του O₂ σε μία υπομονάδα αιμοσφαιρίνης σε κατάσταση T πυροδοτεί την αλλαγή διαμόρφωσης προς την κατάσταση R
 Οι δομές των ξεχωριστών υπομονάδων αλλάζουν λίγο και τα ζεύγη των υπομονάδων αβ ολισθαίνουν μεταξύ τους και περιστρέφονται στενεύοντας τον θύλακο ανάμεσα στις υπομονάδες β
 Κάποια από τα ιοντικά ζεύγη που σταθεροποιούν την T διασπώνται και δημιουργούνται άλλα ζεύγη

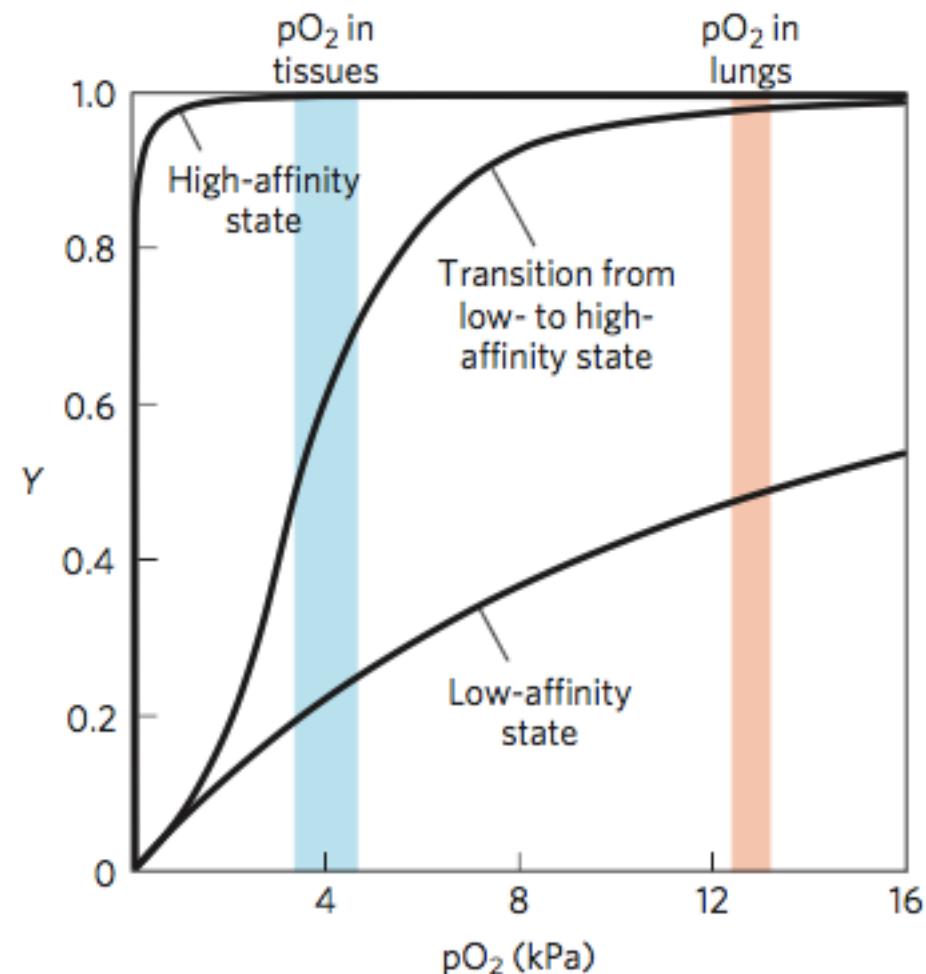


T state

R state

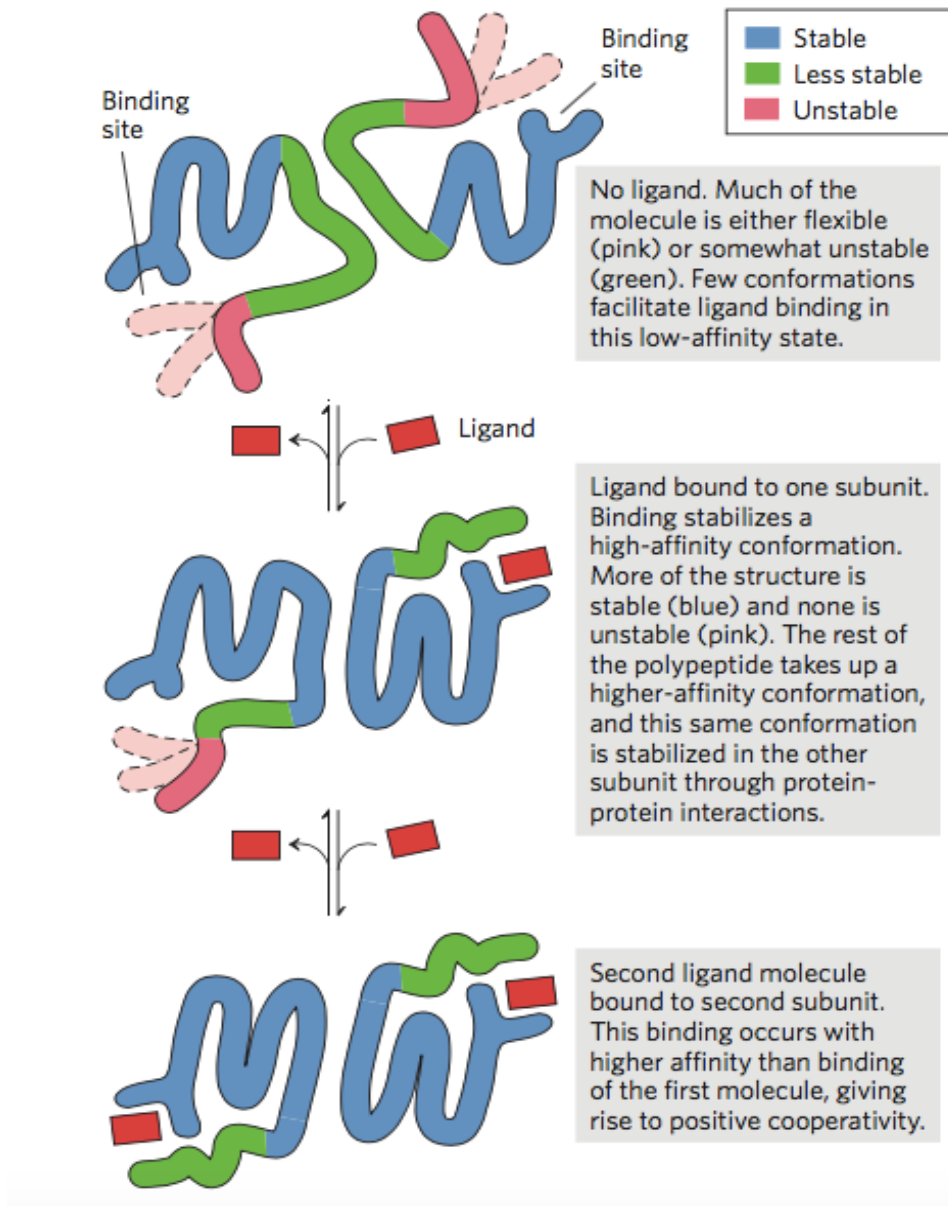
Η αιμοσφαιρίνη προσδένει το O_2 συνεργατικά

- Η αιμοσφαιρίνη πρέπει να προσδένει αποτελεσματικά το οξυγόνο στους πνεύμονες, όπου η pO_2 είναι 13.3kPa και να το απελευθερώνει στους ιστούς όπου η πίεση είναι 4kPa.
- Μία μονομερής πρωτεΐνη με μόνο μία θέση πρόσδεσης του προσδέματος δεν μπορεί να παράγει σιγμοειδή καμπύλη πρόσδεσης επειδή κάθε μόριο του προσδέματος προσδένεται ανεξάρτητα και αδυνατεί να επηρεάσει την πρόσδεση ενός άλλου μορίου.
- Αντίθετα, η πρόσδεση του O_2 στις ξεχωριστές υπομονάδες της αιμοσφαιρίνης μπορεί να μεταβάλει τη συγγένεια για το O_2 στις γειτονικές υπομονάδες



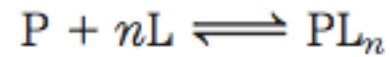
Αλλοστερική πρόσδεση

- Αλλοστερική πρωτεΐνη: η πρόσδεση του προσδέματος σε μία θέση επηρεάζει τις ιδιότητες πρόσδεσης μίας άλλης θέσης πάνω στην ίδια πρωτεΐνη
- Ρυθμιστές: προσδέτες (αναστολείς ή ενεργοποιητές) που επάγουν διαμορφώσεις στις αλλοστερικές πρωτεΐνες
- Ομότροπη αλληλεπίδραση: όταν το κανονικό πρόσδεμα ταυτίζεται με τον ρυθμιστή (O_2 ομότροπος ρυθμιστής της αιμοσφαιρίνης)
- Ετερότροπη αλληλεπίδραση: όταν το κανονικό πρόσδεμα δεν ταυτίζεται με τον ρυθμιστή (H^+ , CO_2 , και διφωσφογλυκερινικό οξύ ετερότροποι ρυθμιστές της αιμοσφαιρίνης)
- Συνεργατική πρόσδεση: Μεταβολές διαμόρφωσης που μεταδίδονται από υπομονάδα σε υπομονάδα μέσω αλληλεπιδράσεων μεταξύ των υπομονάδων (σιγμοειδής καμπύλη)



Οι θέσεις πρόσδεσης μίας αλλοστερικής πρωτεΐνης συνήθως αποτελούνται από σταθερά τμήματα που γειτονεύουν με άλλα, γενικά ασταθή, γειτονικά, τα οποία είναι ικανά να υφίστανται συχνές αλλαγές διαμόρφωσης ή να πραγματοποιούν αποδιοργανωμένες κινήσεις

Ποσοτική περιγραφή συνεργατικής πρόσδεσης του προσδέματος: εξίσωση του Hill



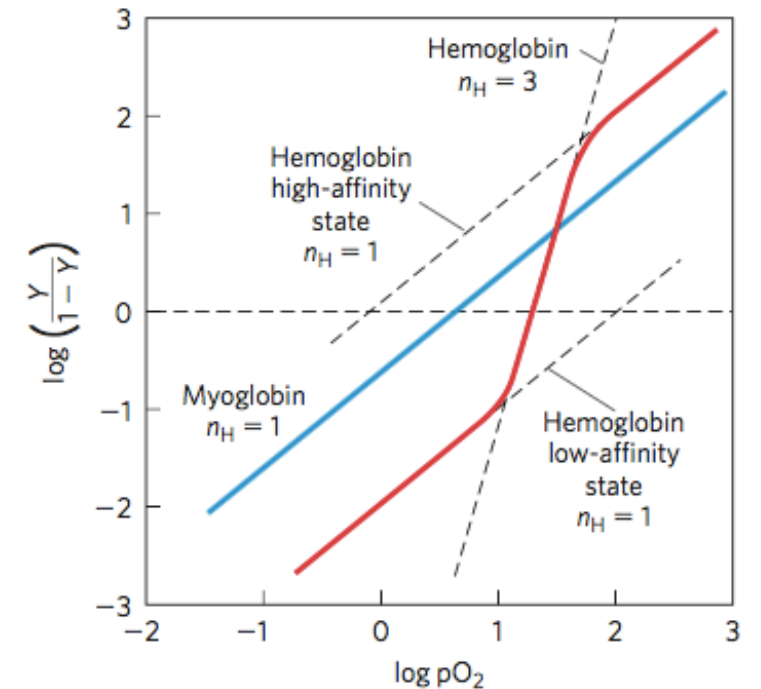
$$K_a = \frac{[PL_n]}{[P][L]^n}$$

$$Y = \frac{[L]^n}{[L]^n + K_d}$$

$$\frac{Y}{1 - Y} = \frac{[L]^n}{K_d}$$

$$\log\left(\frac{Y}{1 - Y}\right) = n \log pO_2 - n \log P_{50}$$

$$\log\left(\frac{Y}{1 - Y}\right) = n \log [L] - \log K_d$$



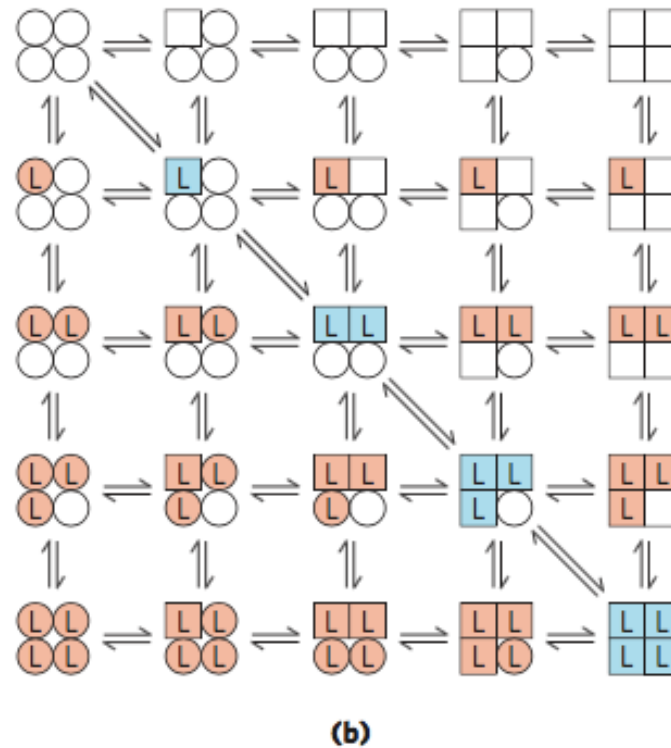
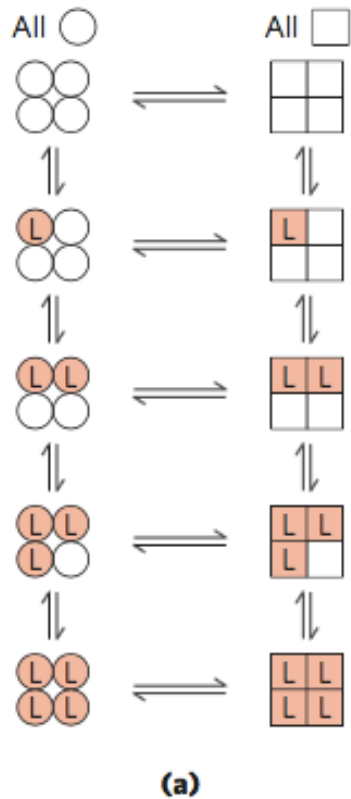
Πειραματικά η κλίση δεν αντικατοπτρίζει τον αριθμό των θέσεων πρόσδεσης, αλλά το βαθμό αλληλεπίδρασης μεταξύ τους

n_H : συντελεστής Hill, μέτρο βαθμού συνεργατικότητας

Μοντέλα – μηχανισμοί για τη συνεργατική σύνδεση

Μοντέλο MWC ή συνδυαστικό μοντέλο:

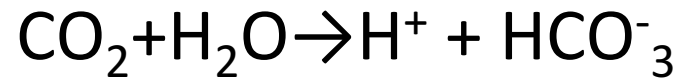
Υποθέτει ότι οι υπομονάδες μίας πρωτεΐνης που πραγματοποιεί συνεργατική πρόσδεση είναι λειτουργικώς ταυτόσημες
Κάθε υπομονάδα μπορεί να υφίσταται σε 2 τουλάχιστον διαμορφώσεις
Όλες οι υπομονάδες πραγματοποιούν τη μετάβαση από μία διαμόρφωση στην άλλη ταυτόχρονα
Καμία υπομονάδα δεν έχει επιμέρους υπομονάδες σε διαφορετικές διαμορφώσεις



Διαδοχικό μοντέλο:

Η πρόσδεση του προσδέματος προκαλεί αλλαγή διαμόρφωσης σε μία ξεχωριστή υπομονάδα
Περισσότερες δυνητικές ενδιάμεσες καταστάσεις σε σχέση με το συνδυαστικό

Η αιμοσφαιρίνη μεταφέρει H^+ και CO_2 από τους ιστούς προς τους πνεύμονες και τους νεφρούς



(Παρουσία καρβονικής ανυδράσης στα ερυθρά κύτταρα)

Από την αντίδραση προκύπτει ότι αυξάνεται η συγκέντρωση του H^+ (μειώνεται το pH) στους ιστούς

Η πρόσδεση του O_2 στην αιμοσφαιρίνη επηρεάζεται από το pH

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

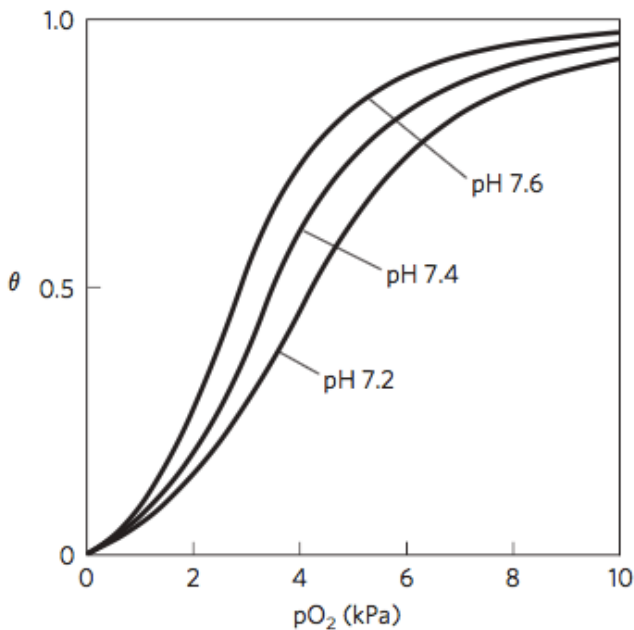
Φαινόμενο Bohr: η επίδραση του pH και του CO_2 στην πρόσδεση και την απελευθέρωση του οξυγόνου από την αιμοσφαιρίνη

- Στους περιφερειακούς ιστούς, όταν το pH είναι σχετικά χαμηλό και η συγκέντρωση του CO_2 υψηλή, η συγγένεια της αιμοσφαιρίνης για το οξυγόνο ελαττώνεται καθώς προσδένονται H^+ και CO_2 , οπότε απελευθερώνεται οξυγόνο στους ιστούς
- Στα τριχοειδή των πνευμόνων το CO_2 αποβάλλεται οδηγώντας σε αύξηση του pH του αίματος, έτσι η συγγένεια της αιμοσφαιρίνης για το οξυγόνο αυξάνει και η πρωτεΐνη προσδένει περισσότερο οξυγόνο για μεταφορά στους περιφερειακούς ιστούς

- Ισορροπία πρόσδεσης της αιμοσφαιρίνης με ένα μόριο οξυγόνου:



- Λαμβάνοντας υπόψη την επίδραση της συγκέντρωσης του H^+ στην ισορροπία πρόσδεσης:



Καμπύλη πρόσδεσης του οξυγόνου στην αιμοσφαιρίνη σε σχέση με την μερική πίεση του οξυγόνου

Όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι υψηλή, όπως στους πνεύμονες, η αιμοσφαιρίνη προσδένει οξυγόνο και απελευθερώνει πρωτόνια.

Όταν η συγκέντρωση του οξυγόνου είναι χαμηλή, όπως στους περιφερειακούς ιστούς, η αιμοσφαιρίνη προσδένει H^+ και απελευθερώνει οξυγόνο

Όσο μειώνεται το pH (π.χ. στους ιστούς σε σχέση με τους πνεύμονες) μειώνεται η πρόσδεση O_2 στην αιμοσφαιρίνη

- Το οξυγόνο προσδένεται στα άτομα σιδήρου των ομάδων της αίμης, ενώ τα H^+ His¹⁴⁶ (His HC3) των β υπομονάδων, τα αμινοτελικά αμινοξέα των α υπομονάδων και σε ορισμένα άλλα κατάλοιπα ιστιδίνης
- Σημαντική η λειτουργία της His¹⁴⁶ (His HC3) των β υπομονάδων στο φαινόμενο Bohr

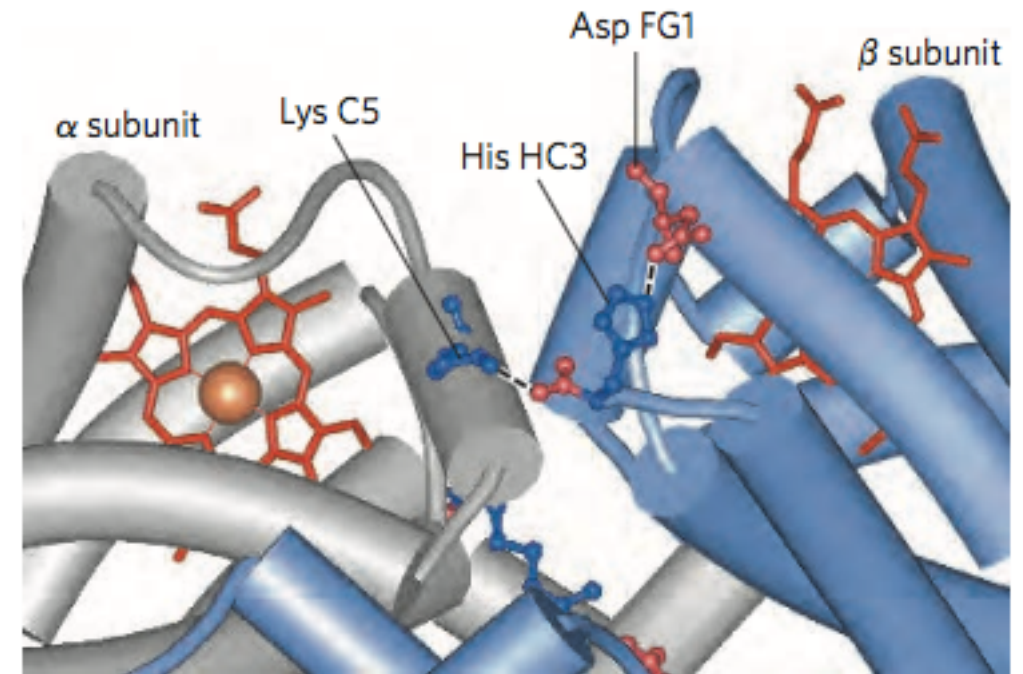
Στους περιφερικούς ιστούς, καθώς αυξάνει η συγκέντρωση των H^+ (προϊόν κυτταρικού μεταβολισμού), η His¹⁴⁶ πρωτονιώνεται, αλλάζει η δομή της οξυαιμοσφαιρίνης, ευνοείται η μετάπτωση στην κατάσταση T (δεοξυαιμοσφαιρίνη) και τελικά απελευθερώνεται οξυγόνο στους ιστούς.

Όταν πρωτονιωθεί η ιστιδίνη His¹⁴⁶ (HC3) σχηματίζει ιοντικό ζεύγος με το γειτονικό (αρνητικά φορτισμένο) Asp⁹⁴ (Asp FG1) και σταθεροποιείται η κατάσταση T.

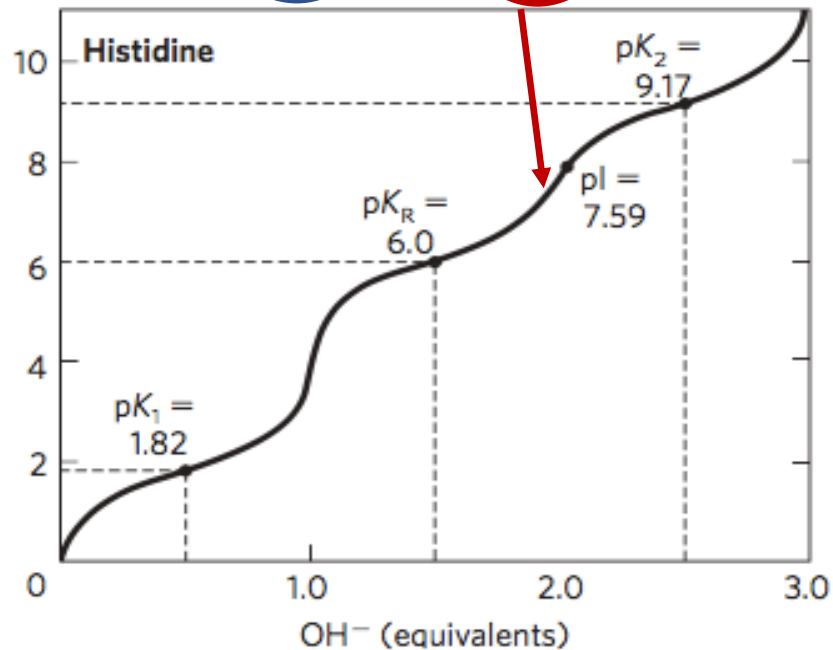
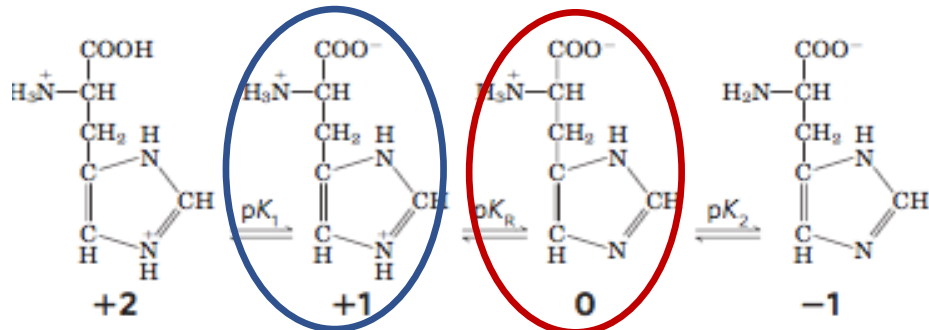
Η His¹⁴⁶ σταθεροποιείται στην πρωτονιωμένη μορφή, αποκτά ιδιαίτερα υψηλή pKa.

Η pKa επανέρχεται στην κανονική τιμή (6,0) στην κατάσταση R επειδή το ιοντικό ζεύγος δεν μπορεί να σχηματιστεί.

Σε τιμή pH 7,6 (pH στους πνεύμονες), η ιστιδίνη είναι κυρίως μη πρωτονιωμένη



Πρωτονίωση της His¹⁴⁶ στην αιμοσφαιρίνη



- Πνεύμονες: pH ~ 7,4, επικρατεί η αποπρωτονιωμένη μορφή της His¹⁴⁶, η pK_a επανέρχεται στην κανονική τιμή (6,0), το ιοντικό ζεύγος δεν μπορεί να σχηματιστεί, ακολουθεί μετάπτωση στην κατάσταση R.
- Ιστοί: αύξηση H⁺ λόγω κυτταρικού μεταβολισμού, μείωση pH, επικρατεί η πρωτονιωμένη μορφή της His¹⁴⁶, αποκτά ιδιαίτερα υψηλή pK_a, σχηματίζει ιοντικό ζεύγος με το γειτονικό (αρνητικά φορτισμένο) Asp⁹⁴, σταθεροποιείται η κατάσταση T και τελικά απελευθερώνεται οξυγόνο στους ιστούς.

- Η αιμοσφαιρίνη προσδένει επίσης CO₂ με τρόπο αντιστρόφως ανάλογο της πρόσδεσης του O₂

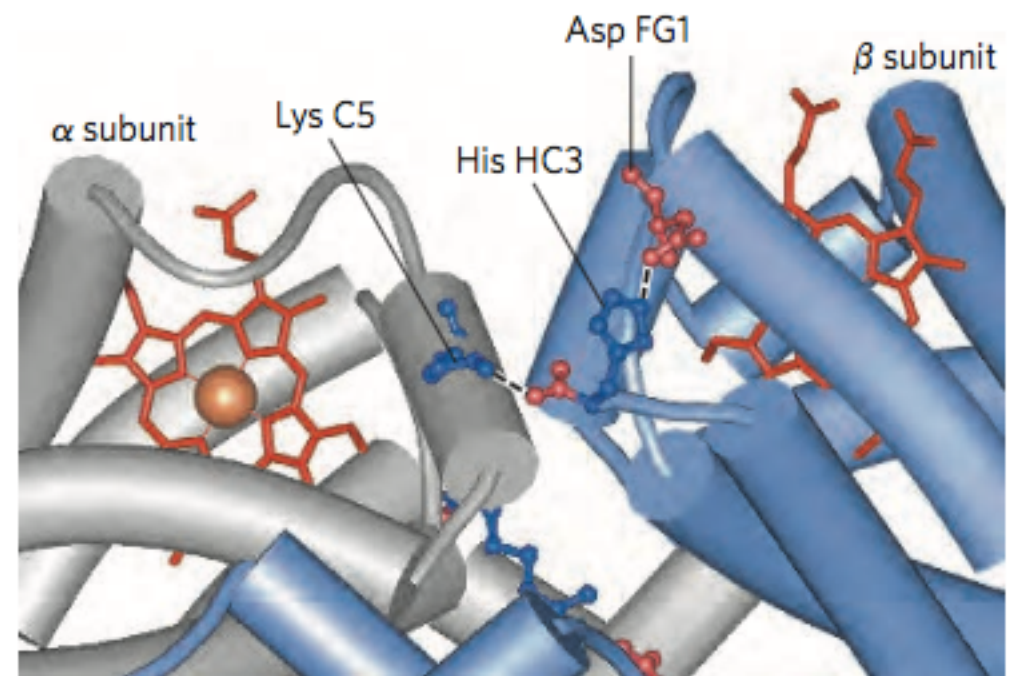
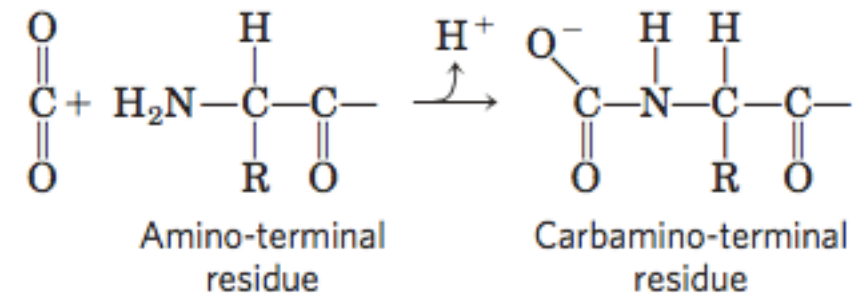
Το CO₂ προσδένεται ως καρβαμική ομάδα στην α-αμινομάδα του αμινοτελικού αμινοξέος κάθε αλυσίδα σφαιρίνης, σχηματίζοντας καρβαμिनοαιμοσφαιρίνη.

Η αντίδραση παράγει H⁺

Οι προσδεδεμένες καρβαμικές ομάδες σχηματίζουν επιπρόσθετες ιοντικές γέφυρες που συμβάλλουν στη σταθεροποίηση της κατάστασης T και προάγουν την απελευθέρωση του οξυγόνου

Όταν η συγκέντρωση του CO₂ είναι υψηλή, όπως στους ιστούς, μόρια CO₂ προσδένονται στην αιμοσφαιρίνη ελαττώνοντας τη συγγένειά για το O₂. Αυτό οδηγεί σε απελευθέρωση O₂

Όταν η αιμοσφαιρίνη φτάσει στους πνεύμονες, η υψηλή συγκέντρωση του O₂ προάγει την πρόσδεση O₂ και την απελευθέρωση CO₂



Συνοπτικά, κύριες αντιδράσεις που αφορούν τη λειτουργία της αιμοσφαιρίνης

- $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$ (λαμβάνει χώρα στους ιστούς όπου υπάρχει υψηλή παραγωγή CO_2)
- $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$ (λαμβάνει χώρα στους πνεύμονες, όπου απομακρύνεται το CO_2)
- $\text{Hb}^+ + \text{O}_2 \rightleftharpoons \text{HbO}_2 + \text{H}^+$

Στους πνεύμονες, η απομάκρυνση του CO_2 οδηγεί σε μείωση της συγκέντρωσης H^+ . Η His¹⁴⁶ αποπρωτονιώνεται, διασπάται ο ιοντικός δεσμός με το Asp⁹⁴, η αιμοσφαιρίνη μεταπίπτει στην κατάσταση R και δεσμεύει το O_2

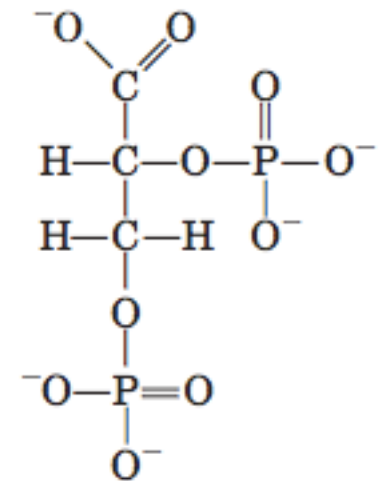
Στους ιστούς, η αύξηση των H^+ οδηγεί στην πρωτονίωση της His¹⁴⁶, η πρωτεΐνη μεταπίπτει στην κατάσταση T και σταθεροποιείται από τα ιοντικά ζεύγη ανάμεσα στην His¹⁴⁶ και το Asp⁹⁴. Η αιμοσφαιρίνη δεσμεύει CO_2 (μειώνει τη συγγένεια για το O_2) και απελευθερώνει O_2

Η πρόσδεση στην αιμοσφαιρίνη ρυθμίζεται από το 2,3 διφωσφογλυκερινικό (BPG): παράδειγμα ετερότροπης αλλοστερικής ρύθμισης

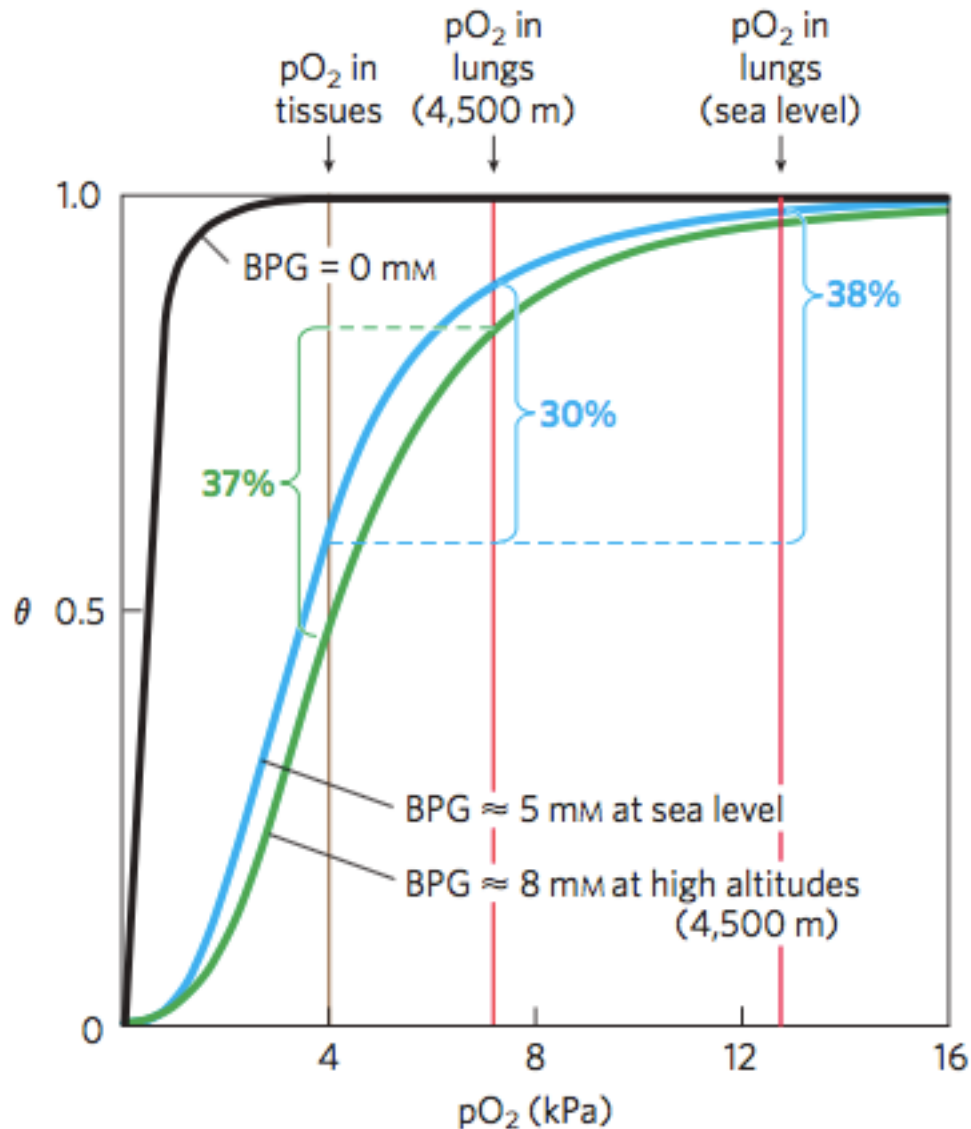
- Τα ερυθροκύτταρα έχουν υψηλή συγκέντρωση BPG, το οποίο μειώνει τη συγγένεια της αιμοσφαιρίνης με το οξυγόνο



- Παίζει σημαντικό ρόλο στην προσαρμογή του οργανισμού στις χαμηλότερες τιμές $p\text{O}_2$ στο μεγάλο υψόμετρο
- Στο επίπεδο της θάλασσας, πρόσδεση του O_2 στην αιμοσφαιρίνη σ' έναν υγιή άνθρωπο ρυθμίζεται έτσι ώστε η ποσότητα του O_2 , η οποία αποδίδεται στους ιστούς να είναι περίπου ίση με το 40% της μέγιστης ποσότητας που θα μπορούσε να μεταφερθεί από το αίμα

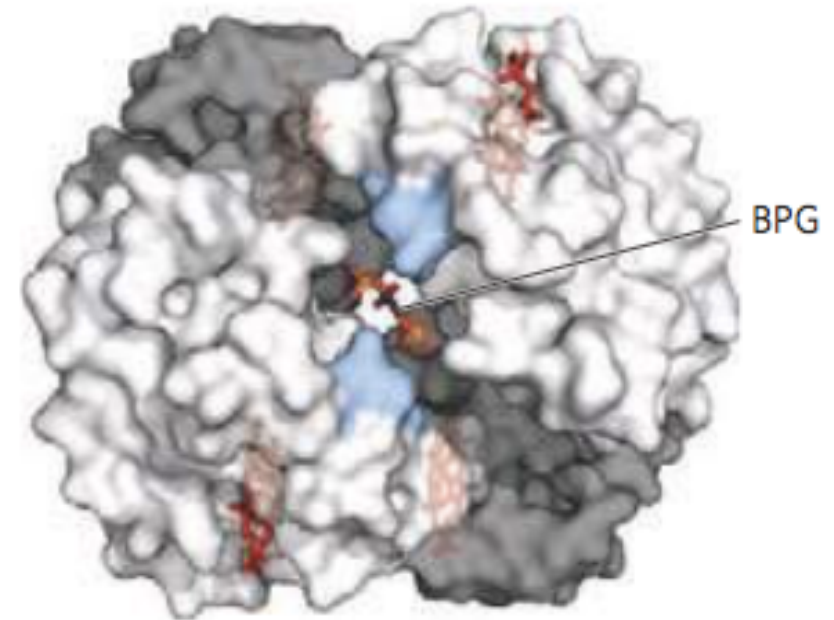


2,3-Bisphosphoglycerate

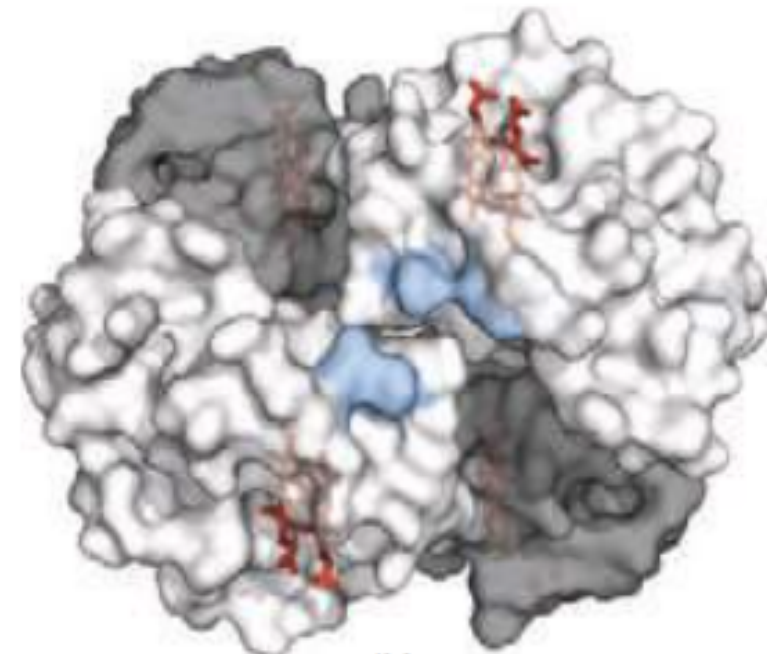


- Σε μεγάλο υψόμετρο όπου η pO_2 είναι χαμηλότερη, η απόδοση του O_2 στους ιστούς θα ελαττωνόταν.
- Ωστόσο μέσα σε λίγες ώρες η συγκέντρωση του BPG στο αίμα αρχίζει να αυξάνει προκαλώντας ελάττωση στη συγγένεια της αιμοσφαιρίνης για το οξυγόνο και επηρεάζοντας την απελευθέρωση του O_2 στους ιστούς
- Η απόδοση του O_2 στους ιστούς αποκαθίσταται στο επίπεδο του 40% της ποσότητας που μπορεί να μεταφερθεί από το αίμα.
- Η κατάσταση αντιστρέφεται κατά την κάθοδο στο επίπεδο της θάλασσας
- Η συγκέντρωση του BPG αυξάνεται επίσης στα ερυθροκύτταρα σε ασθενείς με υποξία

- Η θέση πρόσδεσης είναι η κοιλότητα που σχηματίζεται ανάμεσα στις β υπομονάδες όταν η αιμοσφαιρίνη βρίσκεται στην κατάσταση T
- Υπάρχουν ηλεκτροθετικά αμινοξέα που αλληλεπιδρούν με τις αρνητικά φορτισμένες ομάδες του BPG
- Σε κάθε μόριο τετραμερούς αιμοσφαιρίνης προσδένεται 1 μόριο BPG και ελαττώνει τη συγγένεια με το O_2 καθώς σταθεροποιεί την κατάσταση T
- Η μετάβαση στην κατάσταση R στενεύει τον θύλακο πρόσδεσης του BPG εμποδίζοντας την πρόσδεσή του
- Σημαντικός ρόλος στην ανάπτυξη του εμβρύου: η εμβρυϊκή αιμοσφαιρίνη έχει μεγαλύτερη συγγένεια για το O_2 από την αιμοσφαιρίνη της μητέρας.
- Το έμβρυο έχει γ υπομονάδες αντί των β υπομονάδων και σχηματίζει την $\alpha_2\gamma_2$ αιμοσφαιρίνη, τετραμερές που έχει χαμηλότερη συγγένεια για το BPG από την αιμοσφαιρίνη του ενήλικου και υψηλότερη συγγένεια για το O_2



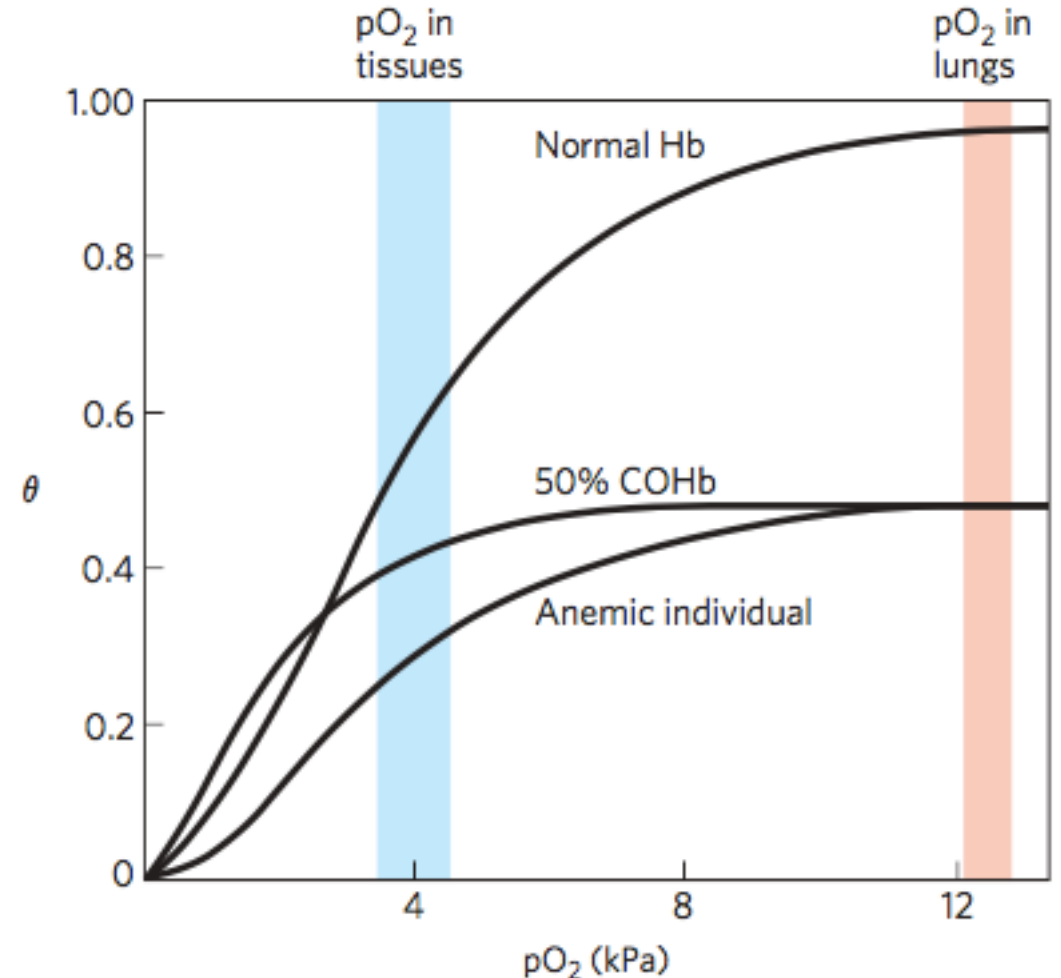
(a)



(b)

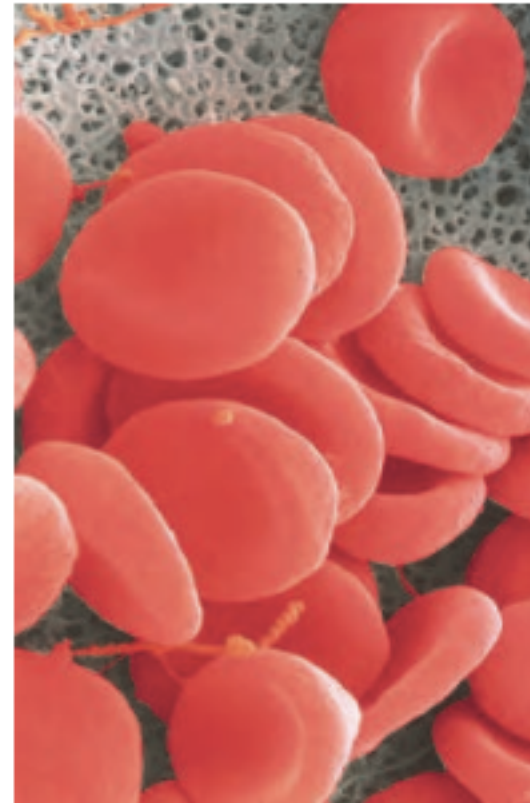
Αιμοσφαιρίνη και μονοξείδιο του άνθρακα: COHb

- Το CO έχει περίπου 250 φορές μεγαλύτερη συγγένεια για την αιμοσφαιρίνη συγκριτικά με το O₂
- Το σύμπλοκο αναφέρεται ως καρβοξυαιμοσφαιρίνη (COHb)
- Κατά μέσο όρο, 1% ή και λιγότερο της ολικής αιμοσφαιρίνης βρίσκεται υπό τη μορφή COHb
- Η πρόσδεση του CO στην αιμοσφαιρίνη επηρεάζει και τη συγγένεια για το O₂ των υπόλοιπων υπομονάδων της αιμοσφαιρίνης
- Ένα τετραμερές αιμοσφαιρίνης με 2 προσδεδεμένα μόρια CO δεσμεύει αποτελεσματικά O₂ στους ιστούς αλλά απελευθερώνει λίγο οξυγόνο
- Ταυτόχρονα το CO μπορεί να δεσμευτεί και σε άλλες πρωτεΐνες που περιέχουν αίμη
- Χρόνος ημίσειας ζωής του COHb είναι 2-6,5 ώρες

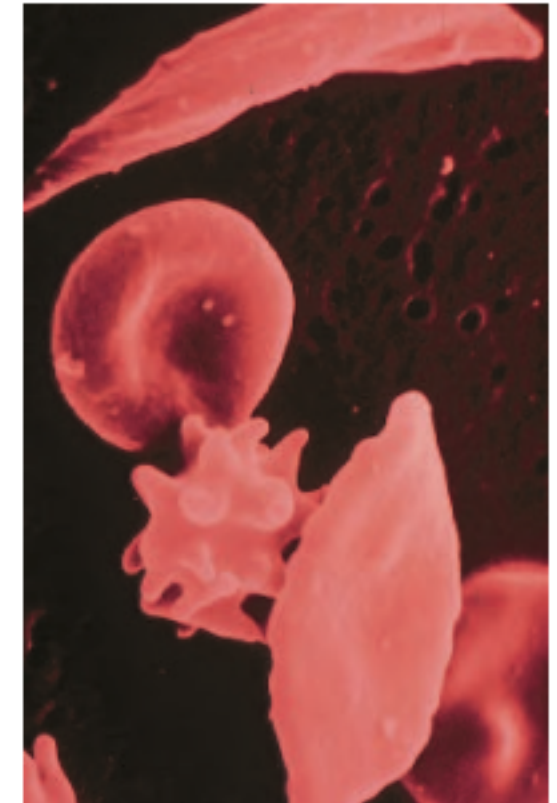


Δρεπανοκυτταρική αναιμία: παράδειγμα της σημασίας της πρωτοταγούς δομής στον καθορισμό της δευτεροταγούς, τριτοταγούς και τεταρτοταγούς δομής

- 500 γενετικές παραλλαγές στην αιμοσφαιρίνη, οι περισσότερες σημειακές
- Δρεπανοκυτταρική αναιμία: Υπολειπόμενη νόσος
- Λιγότερα ερυθροκύτταρα σε αριθμό και με ανώμαλη μορφή
- Ασυνήθιστα πολλά άωρα κύτταρα και άφθονα επιμήκη λεπτά δρεπανοειδή ερυθροκύτταρα



(a) 2 μm



(b)

Αιμοσφαιρίνη S

Όταν από-οξυγονώνεται η αιμοσφαιρίνη των δρεπανοκυττάρων (αιμοσφαιρίνη S) καθίσταται αδιάλυτη και σχηματίζει πολυμερή που συναθροίζονται σε σωληνοειδείς ίνες.

Σε αυτές οφείλεται το ανώμαλο σχήμα των ερυθροκυττάρων

Αιτία: αντικατάσταση του γλουταμικού οξέος στη θέση 6 των 2 β-αλυσίδων από βαλίνη

Συνεπώς η αιμοσφαιρίνη S έχει 2 λιγότερα αρνητικά φορτία σε pH 7,4

Δημιουργείται κολλώδες υδρόφοβο σημείο επαφής, το οποίο είναι εκτεθειμένο στην επιφάνεια του μορίου

Τα σημεία αυτά οδηγούν στην ανώμαλη αλληλεπίδραση των μορίων της αιμοσφαιρίνης S

Σοβαρή και επώδυνη νόσος. Οι ασθενείς εμφανίζουν επανειλημμένες κρίσεις (καταβολή δυνάμεων, ζάλη, δύσπνοια, ταχυκαρδία κα)

Η συγκέντρωση της φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης στο αίμα τους είναι περίπου η μισή της φυσιολογικής, τα δρεπανοκύτταρα υφίστανται λύση και τελικά οι ασθενείς εμφανίζουν αναιμία και πολυοργανική ανεπάρκεια

Οι ετεροζυγώτες εμφανίζουν αντοχή στην ελονοσία

