



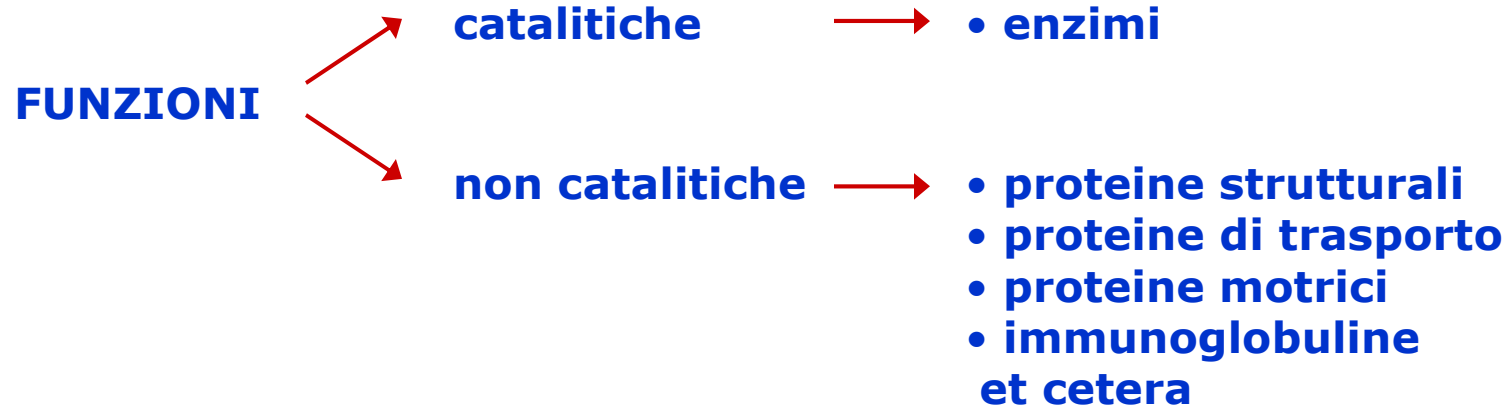
## **CORSO DI LAUREA IN SCIENZE BIOLOGICHE**

**Corso di "Biochimica con Laboratorio"  
9 CFU**

## **LEZIONE 6**

**Prof. Paola Di Donato  
Stanza 520, V piano lato NORD  
Tel. 081 547 6625  
*E-mail: [paola.didonato@uniparthenope.it](mailto:paola.didonato@uniparthenope.it)***

## LE FUNZIONI DELLE PROTEINE



**FUNZIONE ⇔ STRUTTURA TRIDIMENSIONALE**



**Dinamica, flessibile:  
sono possibili variazioni conformazionali**



**Aspetto rilevante dei processi biochimici:**

- **Mediano le funzioni delle proteine**
- **Regolate e coordinate dalla dinamica della struttura proteica**

## INTERAZIONI PROTEINA ⇔ MOLECOLA

**MOLECOLA** → **ligando**, si lega reversibilmente e specificamente alla

**PROTEINA** → su sito specifico detto **sito di legame**, complementare al ligando in virtù della sua forma, carica, carattere idrofilo/idrofobo

**INTERAZIONE** → legame reversibile, transitorio: spesso comporta una modificazione conformazionale definita **ADATTAMENTO INDOTTO**, che rende il sito di legame più complementare al ligando

**Nel caso degli ENZIMI**

**ligando** → substrato

**sito di legame** → sito catalitico o sito attivo

## INTERAZIONI PROTEINA $\Leftrightarrow$ LIGANDO

### DESCRIZIONE QUANTITATIVA



$$K_a = \frac{[PL]}{[P][L]} \quad \text{Costante di associazione}$$

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

Il rapporto tra siti occupati e siti liberi dipende dalla concentrazione di L

$$\theta = \frac{[PL]}{[PL] + [P]}$$

$\theta$  = rapporto tra siti occupati e somma dei siti liberi e siti già occupati

$\theta$  = FRAZIONE DI SITI DI LEGAME OCCUPATI DAL LIGANDO

• Dall'espressione di  $K_a$   $[P][L] K_a = [PL]$

• Sostituendo nell'espressione di  $\theta$

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

• dividendo per  $[P]$

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

• dividendo per  $K_a$

$$\theta = \frac{[L]}{[L] + 1/K_a}$$

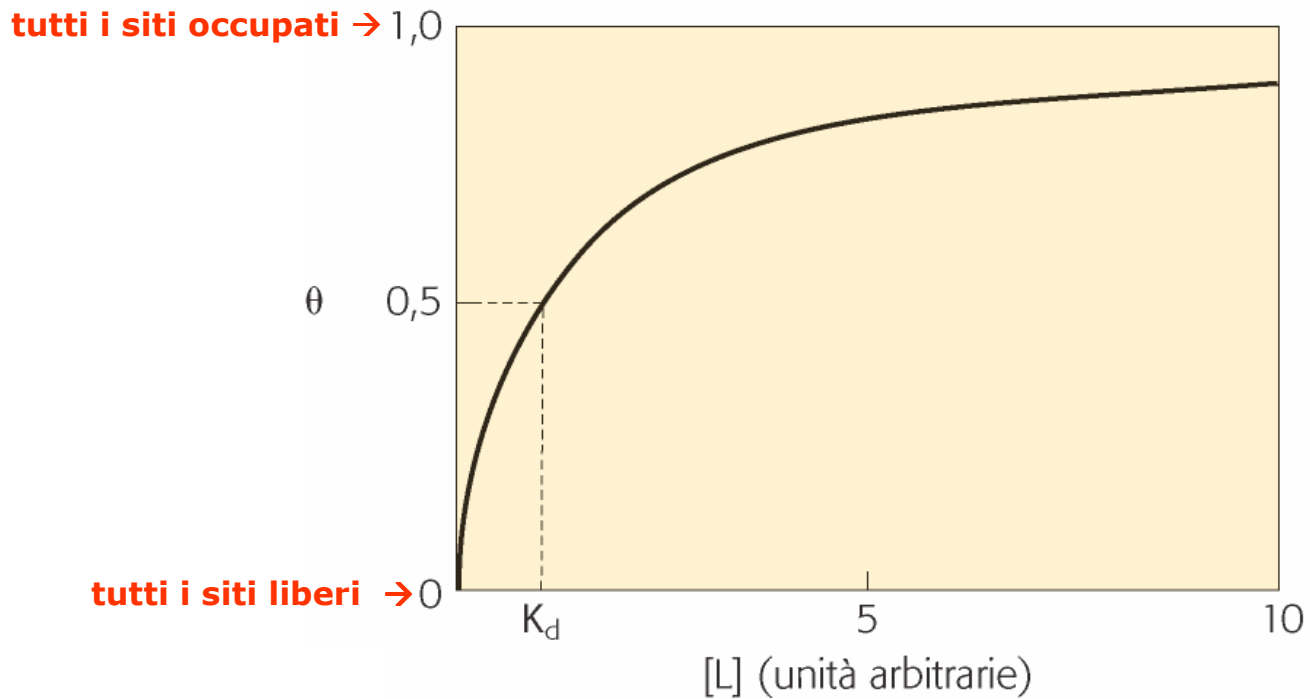
$$\theta = \frac{[L]}{[L] + K_d}$$

$K_d =$  costante di dissociazione

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

• l'espressione di  $\theta$  descrive un'iperbole

**curva di legame ligando-proteina**

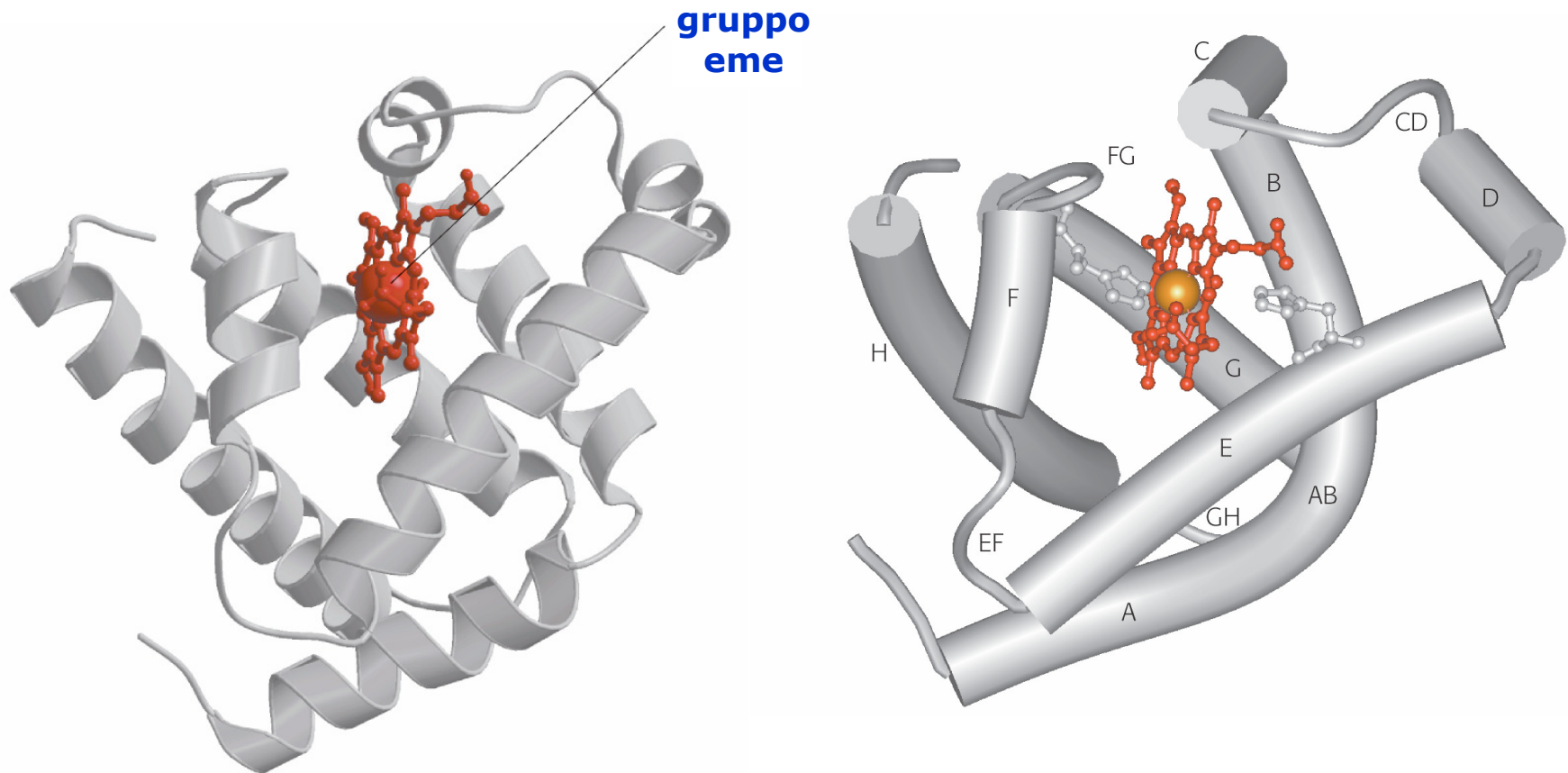


**$K_d$  = concentrazione di L a cui metà dei siti della proteina sono occupati**

**$K_d$  = misura dell'affinità del ligando per la proteina**

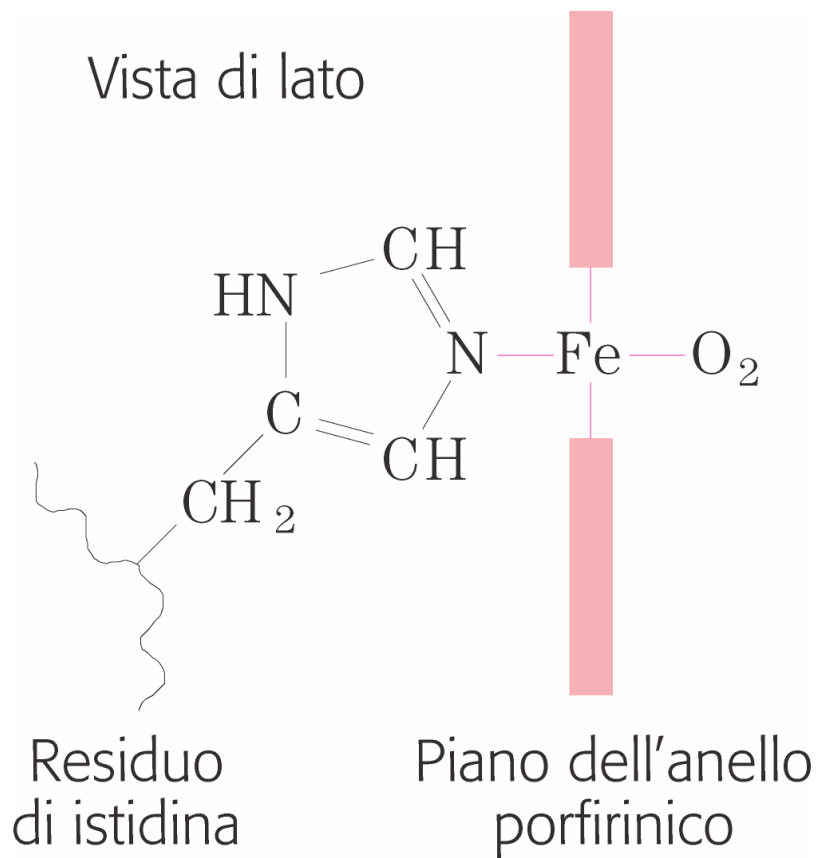
## INTERAZIONI PROTEINA ⇔ MOLECOLA

### MIOGLOBINA ⇔ O<sub>2</sub>



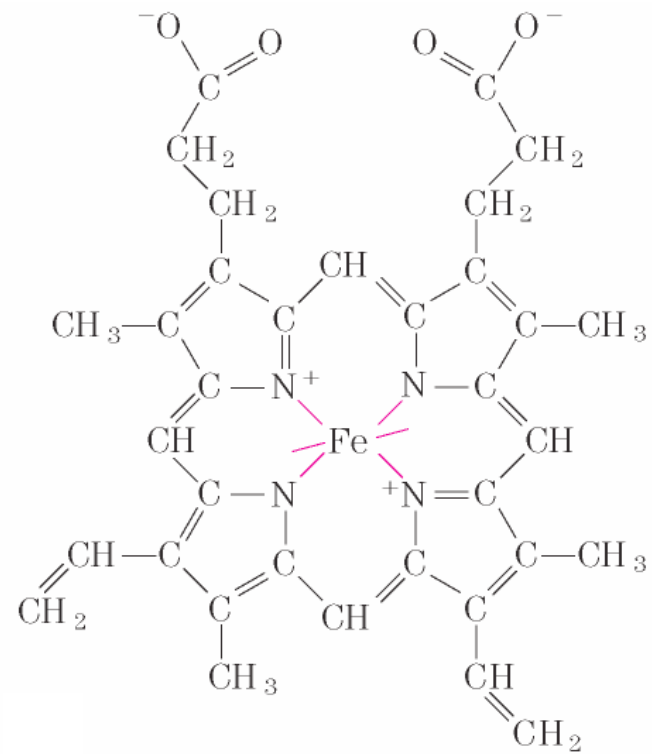
**singola catena polipeptidica di 153 AA, nel muscolo dei mammiferi marini conserva O<sub>2</sub> durante lunghe immersioni**



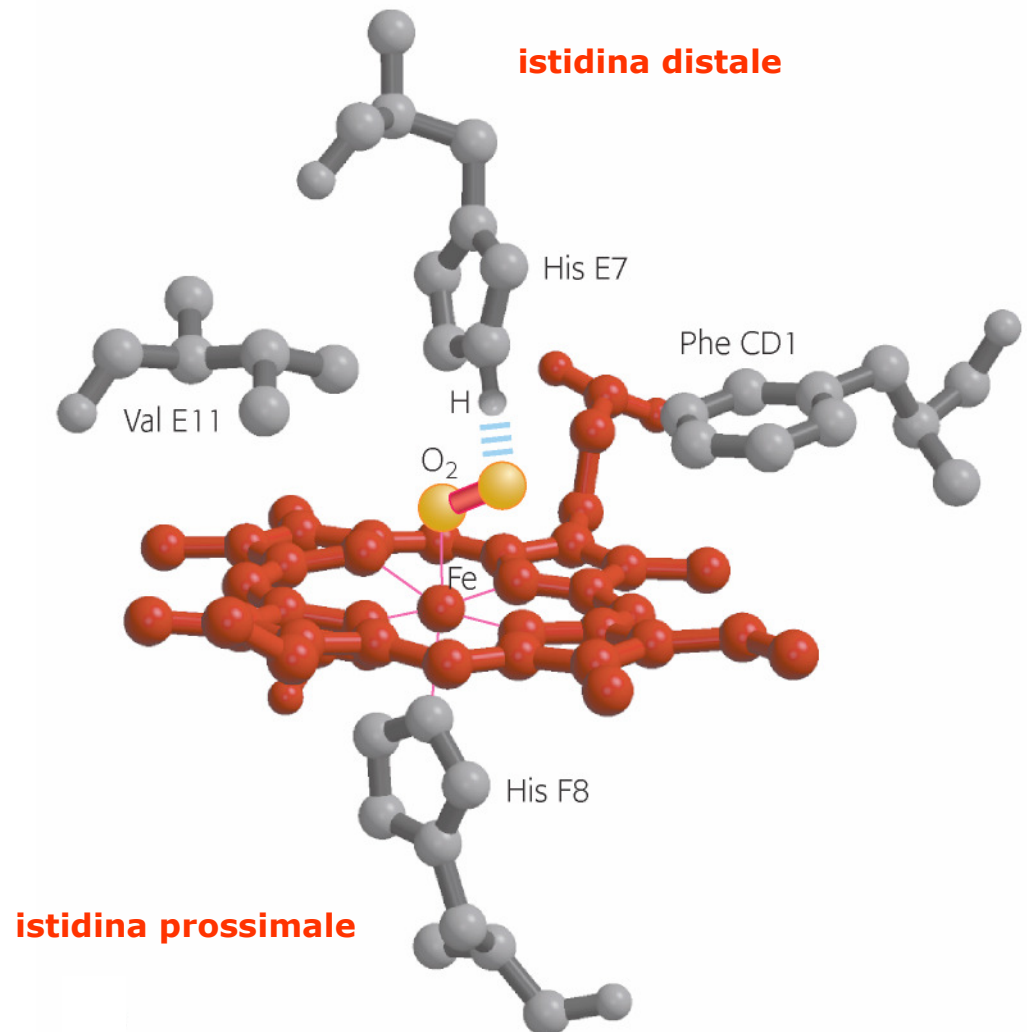
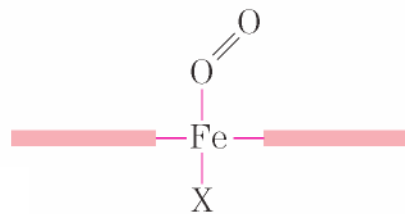


**Fe<sup>2+</sup> ha 6 legami di coordinazione**

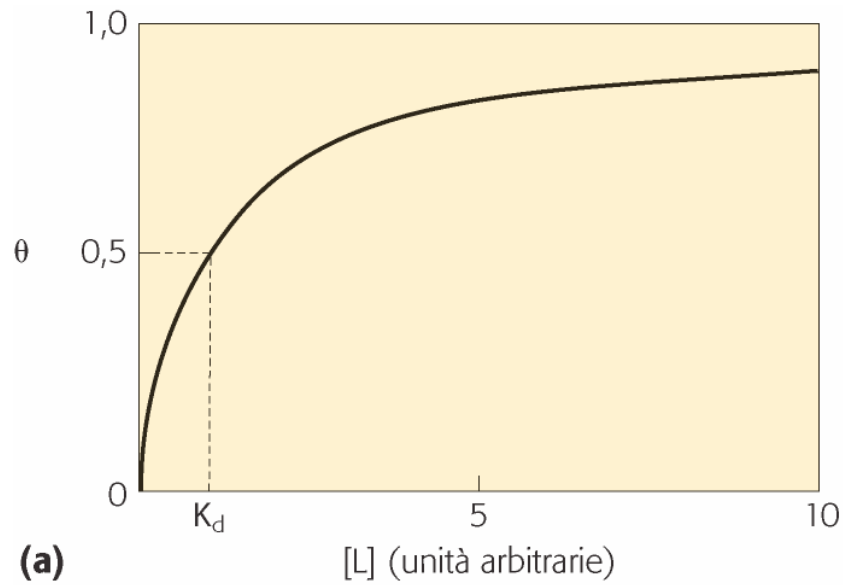
- **4 con l'anello porfirinico**
- **1 con N dell'istidina**
- **1 con O<sub>2</sub>**



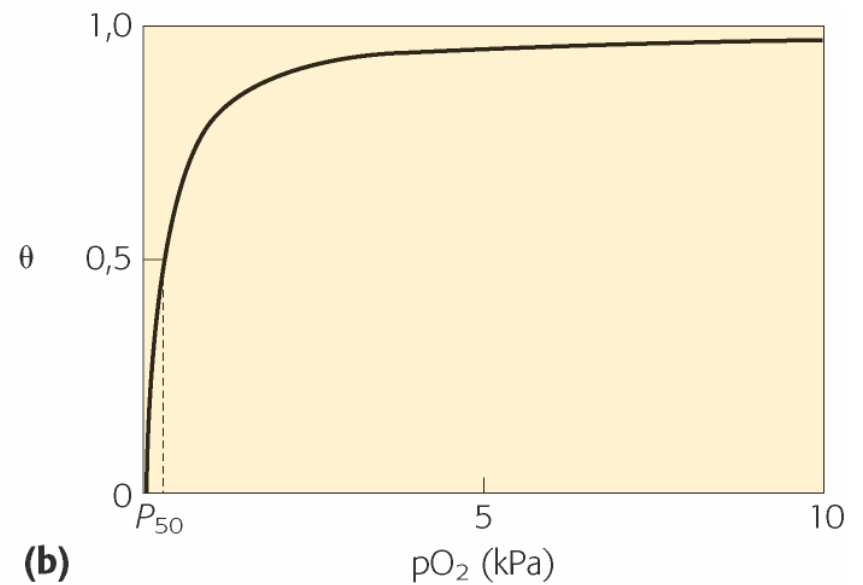
## INTERAZIONE O<sub>2</sub>- EME NELLA MIOGLOBINA



**curva di saturazione dell'O<sub>2</sub>  
per la mioglobina**



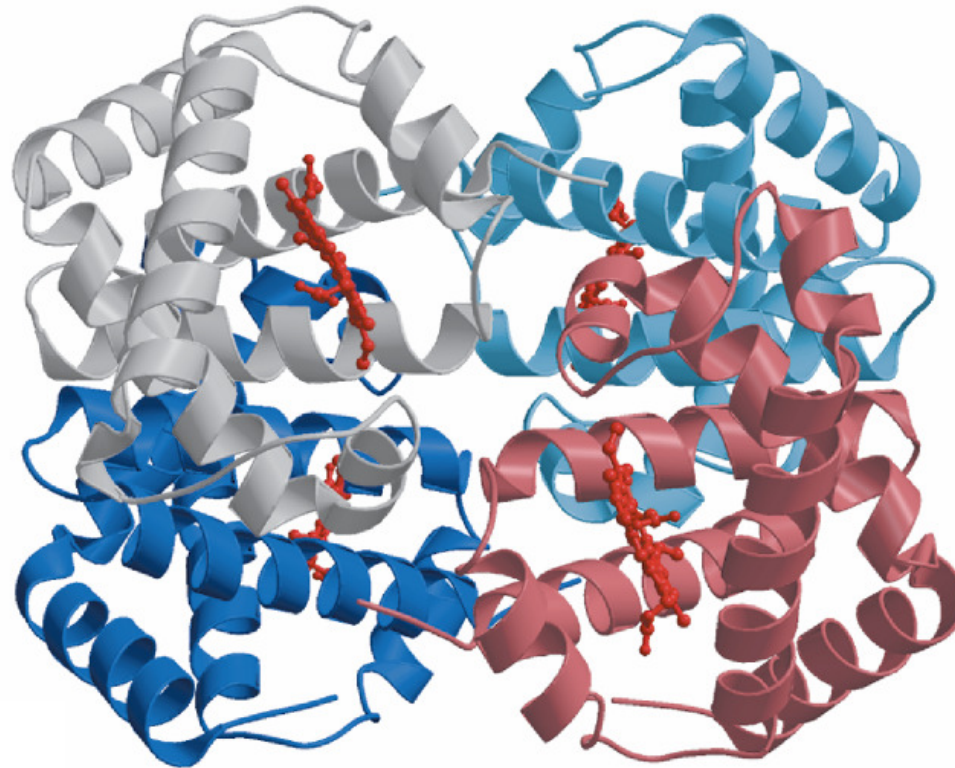
**curva di legame ligando-proteina**



**curva di legame O<sub>2</sub> -mioglobina**

$$P_{50} = 2.67 \times 10^{-1} \text{ KPa}$$

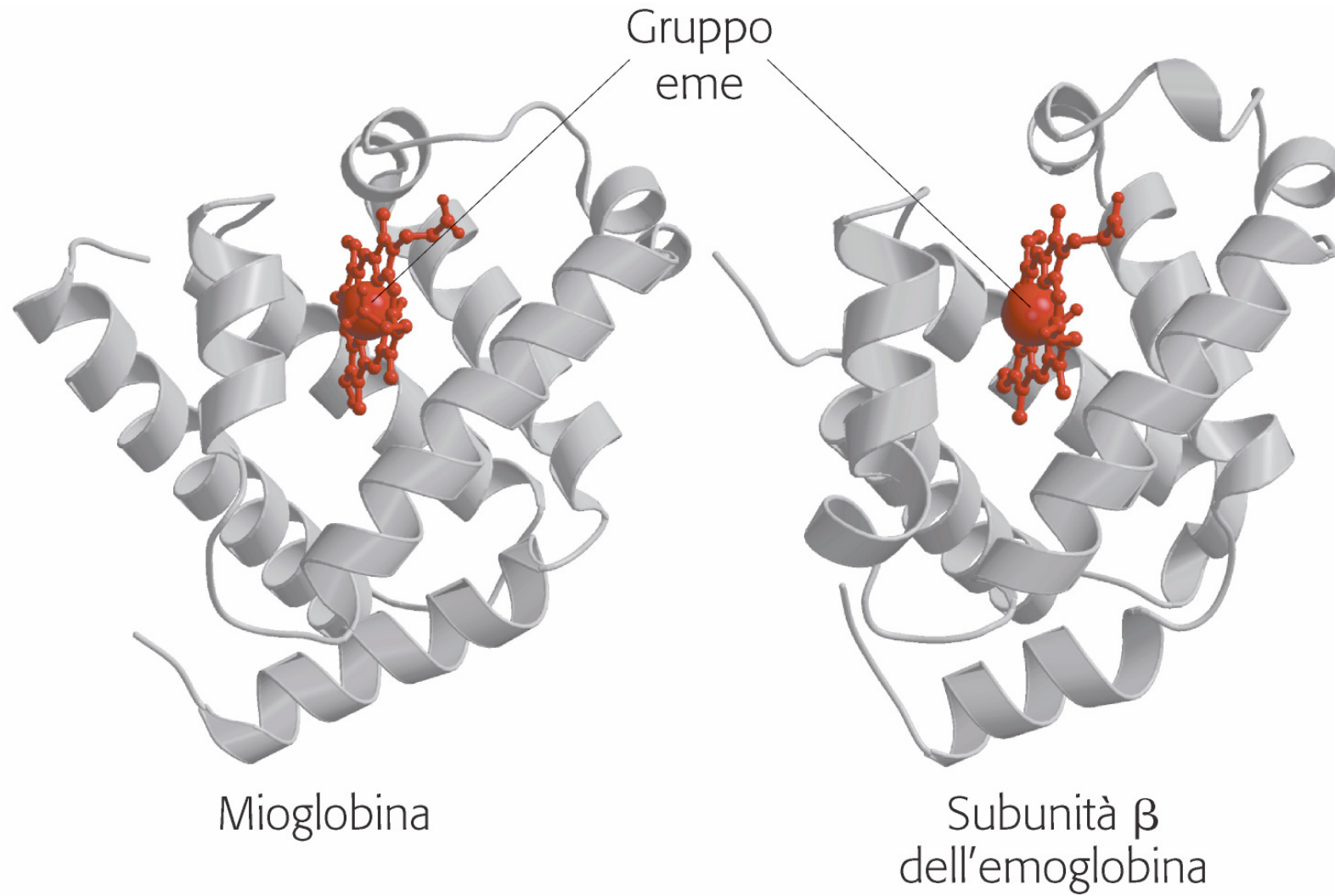
## INTERAZIONE O<sub>2</sub>- EME NELL'EMOGLOBINA



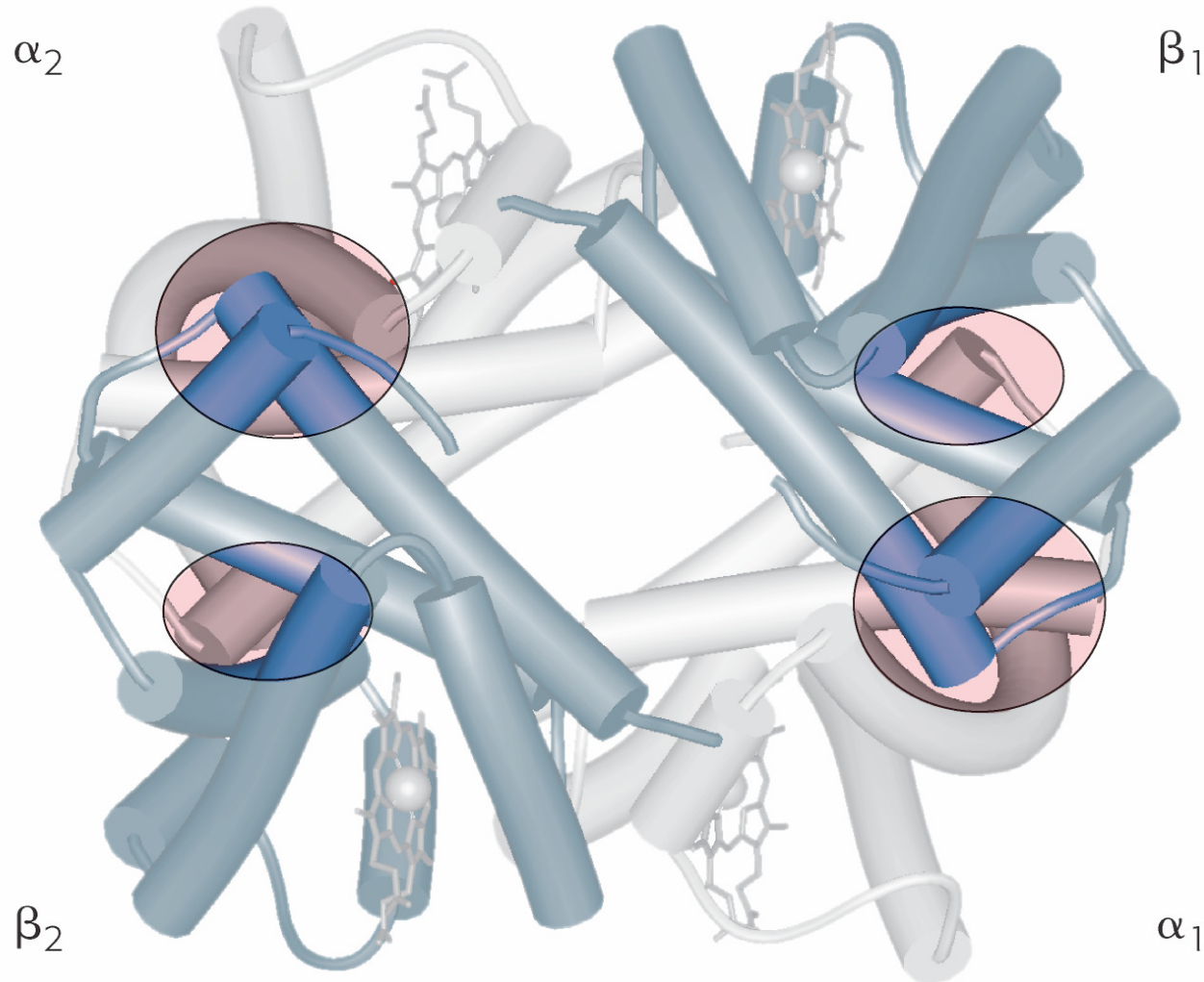
**Proteina tetramerică che trasporta l'O<sub>2</sub> dal cuore ai tessuti**

- 4 catene polipeptidiche (subunità):**
- 2 catene  $\alpha$  costituite da 141 AA
  - 2 catene  $\beta$  costituite da 146 AA

## STRUTTURA DELL'EMOGLOBINA: confronto con la mioglobina



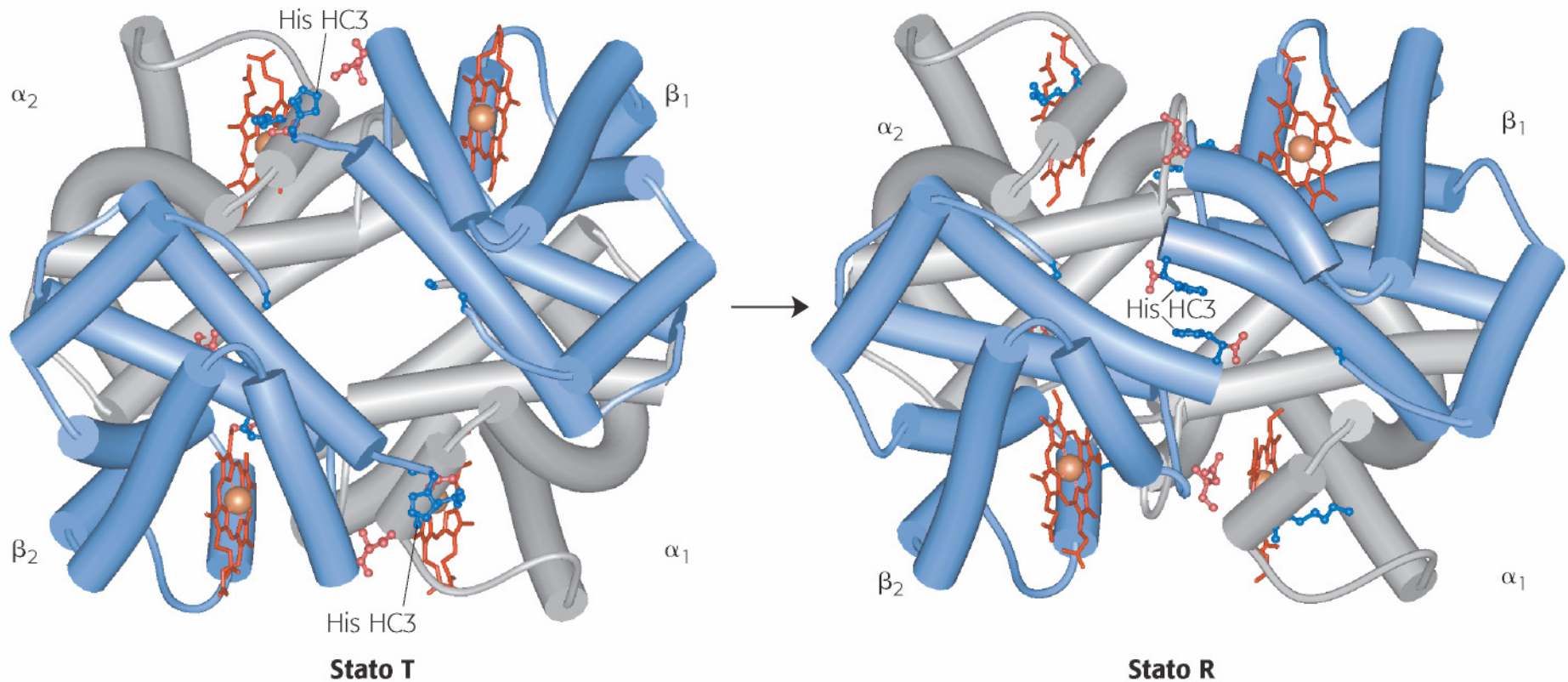
## STRUTTURA DELL'EMOGLOBINA



**Proteina tetrameric: coppia di dimeri  $\alpha\beta$  identici ( $\alpha_1\beta_1$  e  $\alpha_2\beta_2$ )**

**L'emoglobina esiste in due conformazioni principali: R e T**

**R e T legano l'O<sub>2</sub> con diversa affinità**

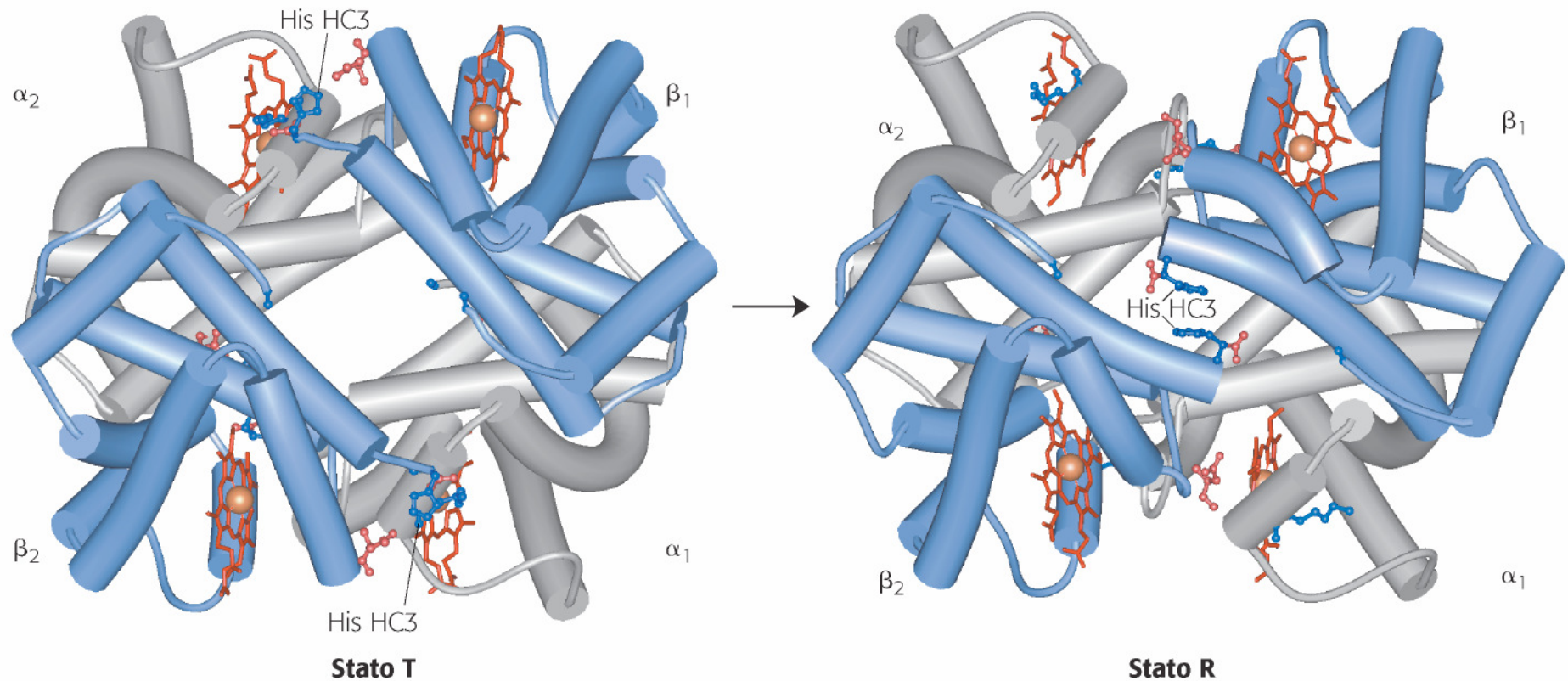


**T: stato a bassa affinità per O<sub>2</sub>  
(deossiemoglobina)**

**R: stato ad alta affinità per O<sub>2</sub>**

**L'emoglobina esiste in due conformazioni principali: R e T**

**R e T legano l'O<sub>2</sub> con diversa affinità**

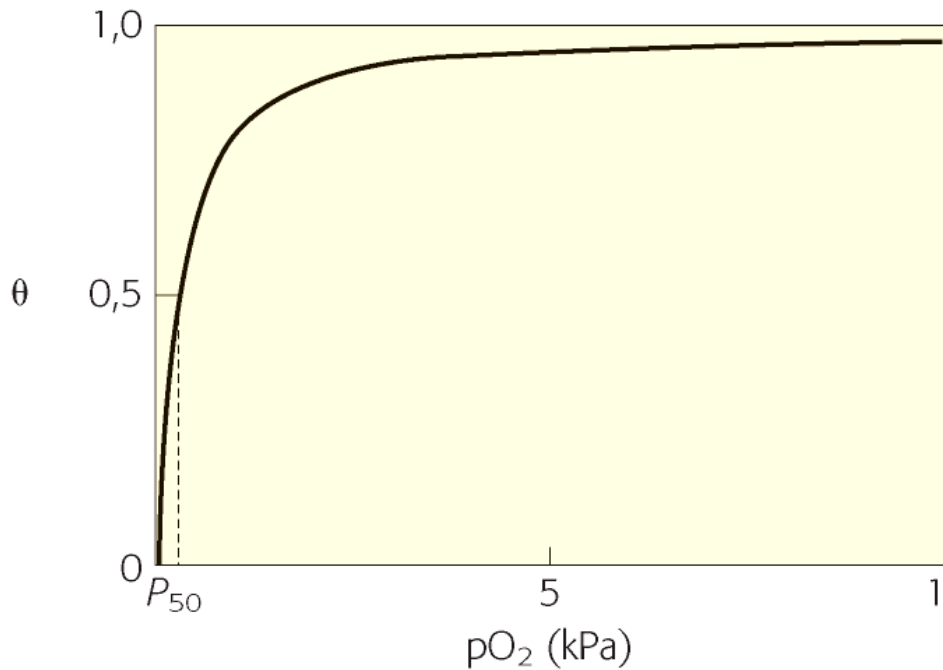


**Il legame di O<sub>2</sub> a T provoca una variazione conformazionale che converte la proteina nello stato R**



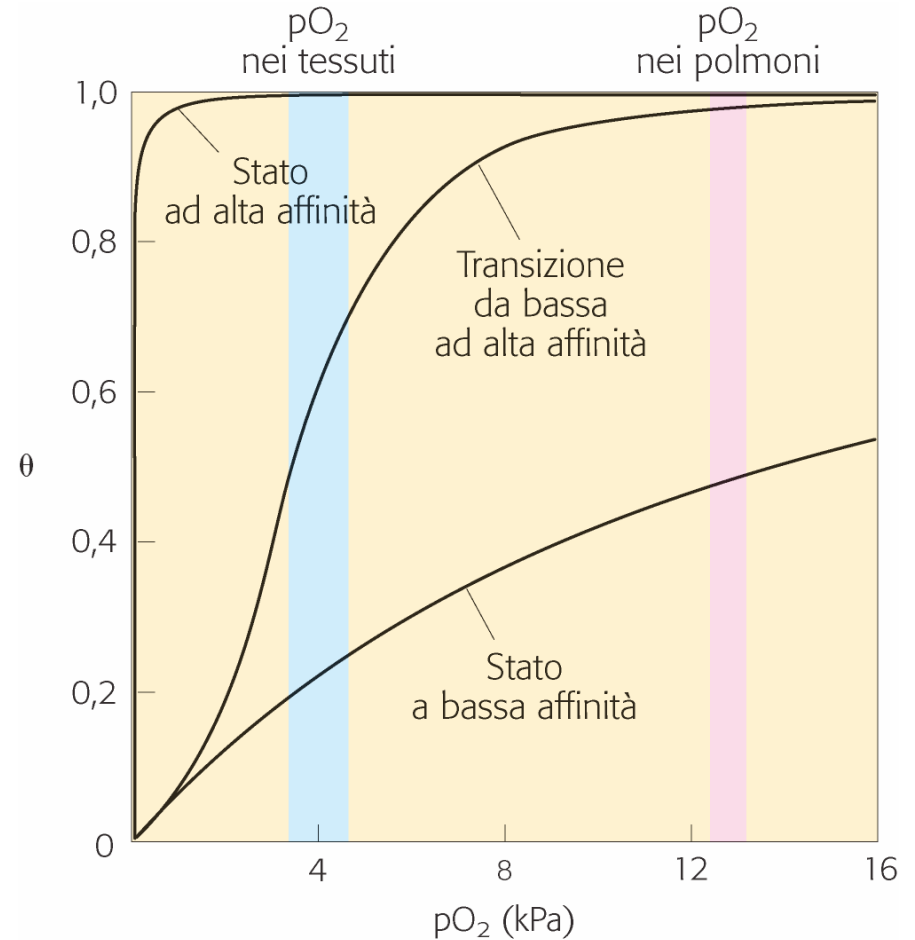
## L'emoglobina deve:

- Legare efficientemente  $O_2$  nei polmoni dove  $pO_2$  è pari a  $\sim 13.3$  KPa
- Rilasciare  $O_2$  nei tessuti dove  $pO_2$  è pari a  $\sim 4$  KPa



curva di legame  $O_2$  -mioglobina

$$P_{50} = 2.67 \times 10^{-1} \text{ KPa}$$



curva di legame  $O_2$  -emoglobina

$$P_{50} = 3.47 \text{ KPa}$$

## EMOGLOBINA E' UNA PROTEINA ALLOSTERICA

**PROTEINE ALLOSTERICHE:** proteine che possono avere conformazioni diverse indotte dal legame di ligandi che si definiscono anche MODULATORI

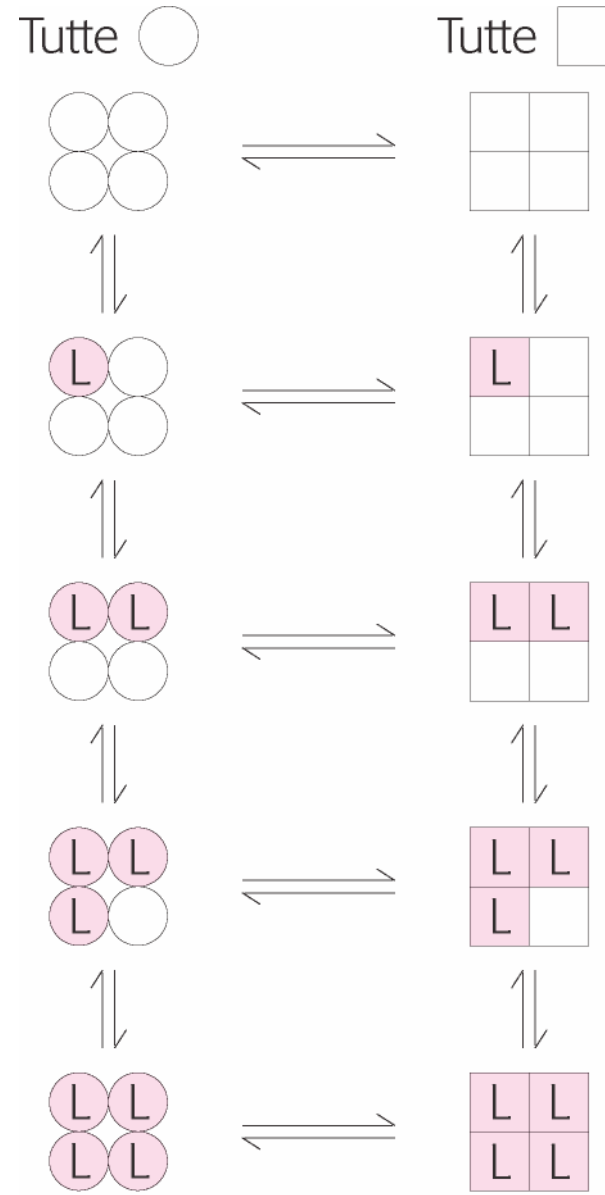
LEGAME O<sub>2</sub>-EMOGLOBINA è un **legame cooperativo**, una forma di legame allosterico che si riscontra nelle proteine multimeriche

**LEGAME COOPERATIVO:** il legame di una molecola di ligando ad una delle subunità favorisce il legame delle successive molecole di ligando alle altre catene

# LEGAME COOPERATIVO

## Modello CONCERTATO (MWC, Monod-Wyman-Changeaux) 1965

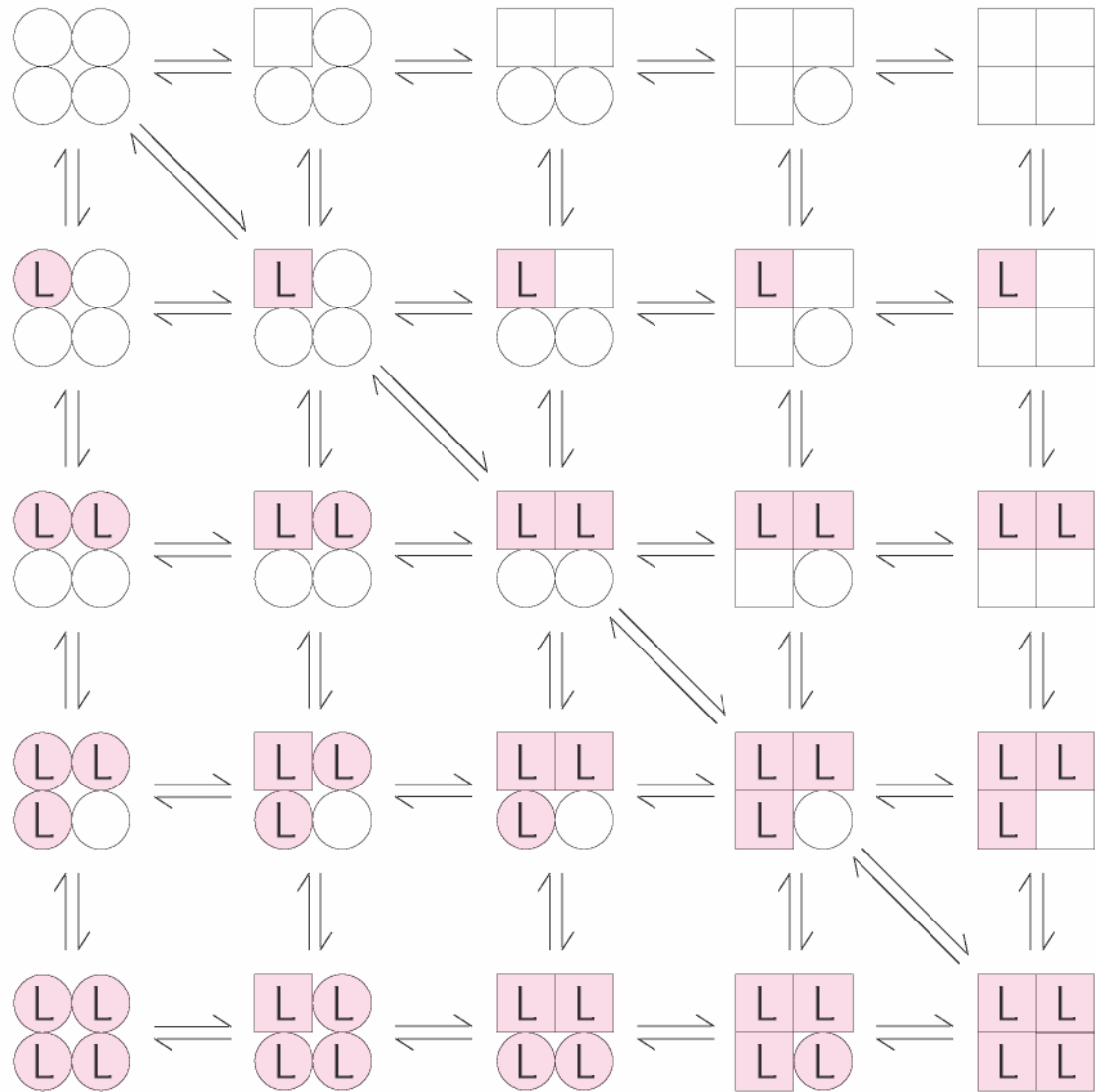
- subunità inattiva
- subunità attiva

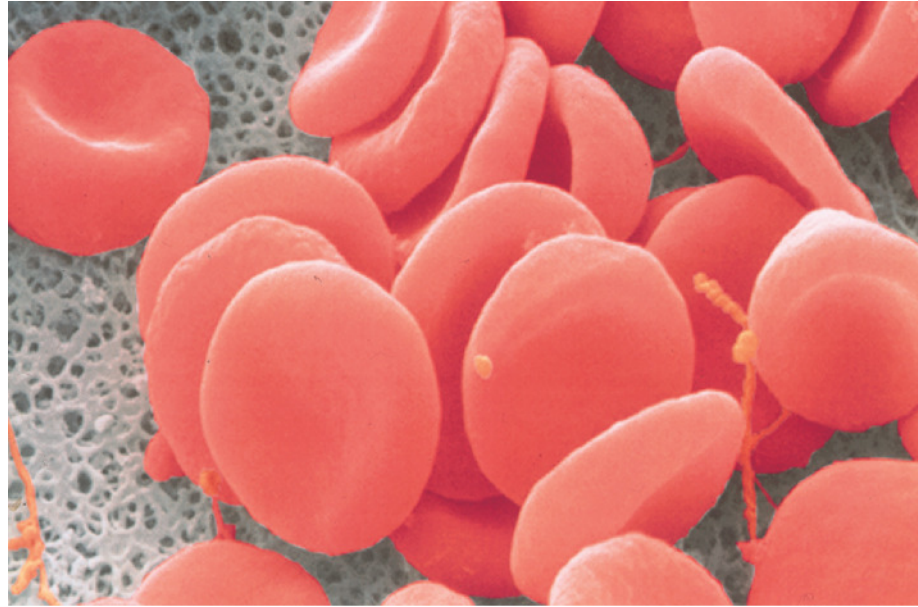


# LEGAME COOPERATIVO

**Modello SEQUENZIALE  
(Koshland e collaboratori)  
1966**

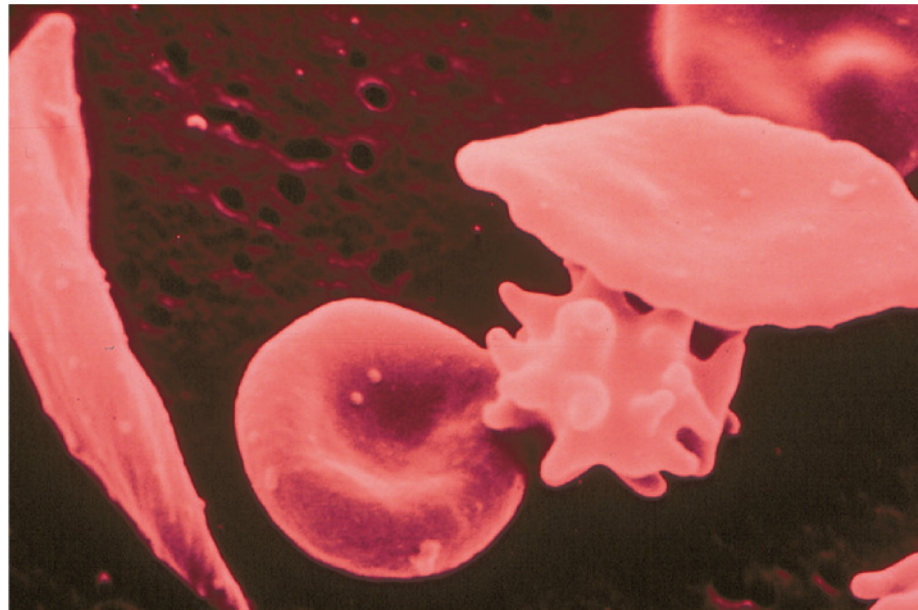
- subunità inattiva
- subunità attiva





(a)

2  $\mu\text{m}$



(b)

## IMMUNOGLOBULINE: molecole anticorpali

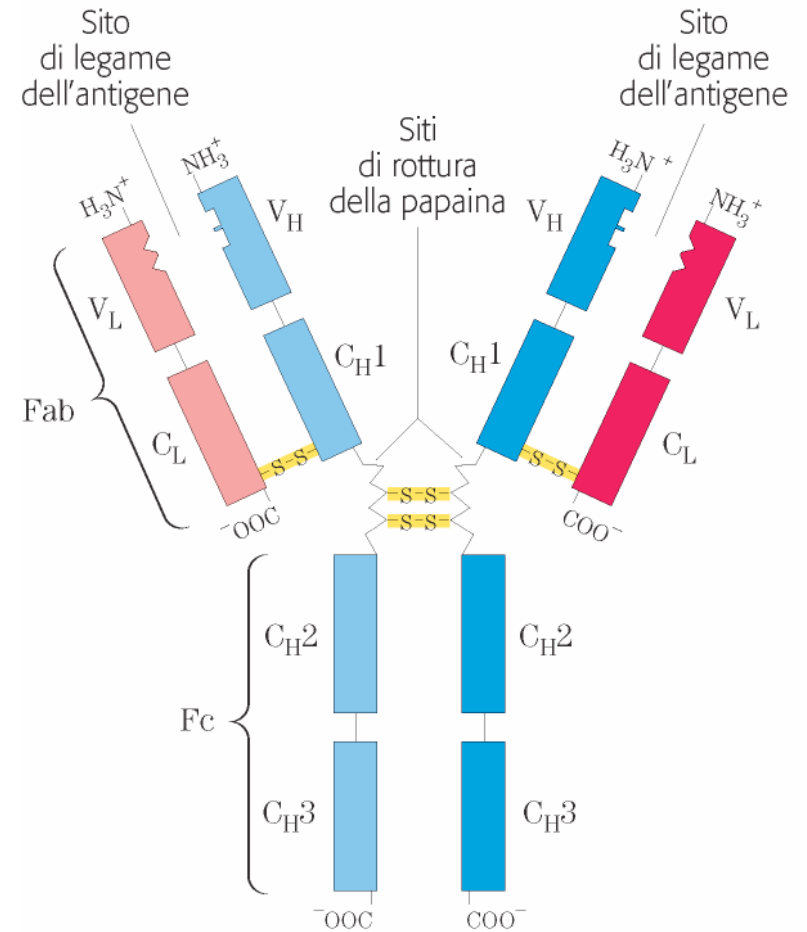
5 classi distinte in base alle catene pesanti:

- $\alpha \rightarrow$  IgA
- $\delta \rightarrow$  IgD
- $\epsilon \rightarrow$  IgE
- $\gamma \rightarrow$  IgG
- $\mu \rightarrow$  IgM

In ogni classe ci sono 2 tipi di catena leggera:

- $\kappa$
- $\lambda$

## IMMUNOGLOBULINA G



C = dominio costante  
V = dominio variabile  
H, L = catena pesante; catena leggera

