



# Fixation et transport de O<sub>2</sub>



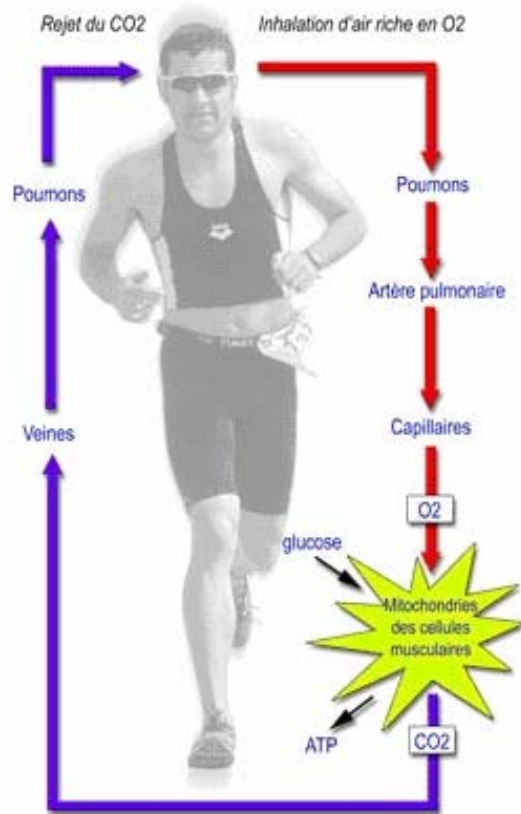
I. Introduction

II. Transport de O<sub>2</sub> chez les invertébrés:  
Hémérythrine

III. Transport de O<sub>2</sub> chez les mollusques:  
Hémocyanine

IV. Transport de O<sub>2</sub> chez les mammifères:  
Myoglobine et Hémoglobine

# I. Introduction

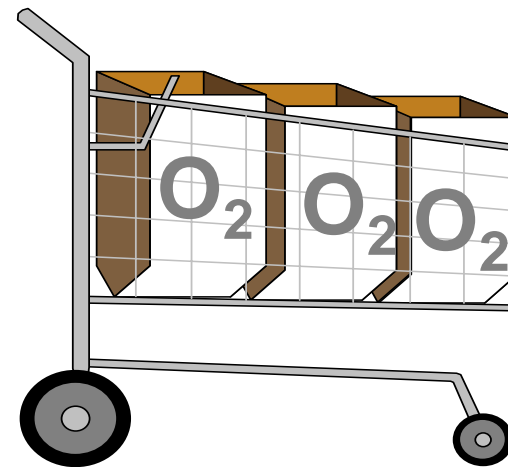


**O<sub>2</sub> est essentiel à la vie**

Faible solubilité de O<sub>2</sub> dans l'eau



Il faut des transporteur pour O<sub>2</sub>



# Solubilité O<sub>2</sub> (20° C, 1 atm):

- Eau: 6.59 cm<sup>3</sup> / dm<sup>3</sup>  
Soit [O<sub>2</sub>] = 3 x 10<sup>-4</sup> M
- Sang: 200 cm<sup>3</sup> / dm<sup>3</sup>  
Soit [O<sub>2</sub>] = 9 x 10<sup>-3</sup> M !!!



Existence de  
transporteurs de O<sub>2</sub> dans le  
sang



# Les protéines du transport de O<sub>2</sub> contiennent toutes au moins un métal

- ◆ Hémarythrine (Hr): Fe

*invertébrés marins*

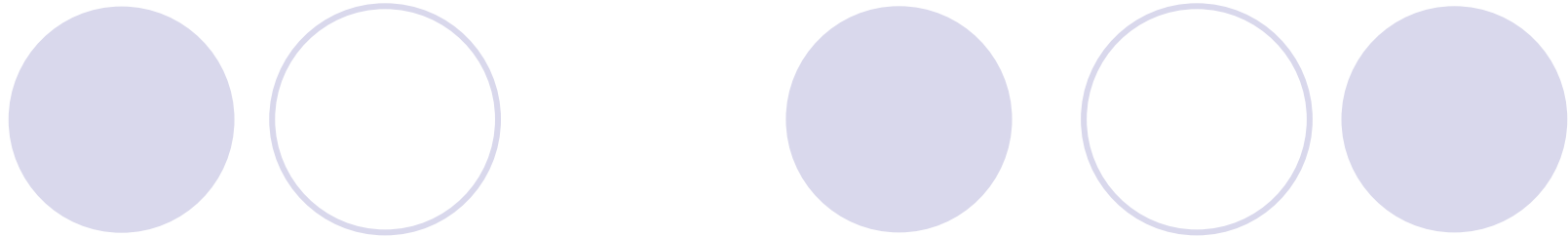
- ◆ Hémoctyanine (Hc): Cu

*mollusques et arthropodes*

- ◆ Myoglobine (Mb) et Hémoctyanine (Hb): Fe

*vertébrés (globules rouges), échinodermes, mollusques*





<b>TABLE 2.1</b>		<b>Some properties of protein oxygen carriers</b>		
<b>Properties</b>	<b>Hemoglobin</b>	<b>Hemerythrin</b>	<b>Hemocyanin</b>	
Metal	Fe	Fe	Cu	
Ox. state in deoxy form	(II)	(II)	(I)	
Metal :O <sub>2</sub>	Fe:O <sub>2</sub>	2Fe:O <sub>2</sub>	2Cu:O <sub>2</sub>	
Color deoxy form	Red - purple	Colorless	Colorless	
Color oxy form	Red	Violet - pink	Blue	
Metal coordination	Porphyrin ring	Prot. side chain (Glu, His)	Prot. side chain (His)	
Mol. weight (kD)	65	108	400 to 20 000	
Numb. of subunits	4	8	many	



## II. Transport de O<sub>2</sub> chez les invertébrés : Hémérythrine

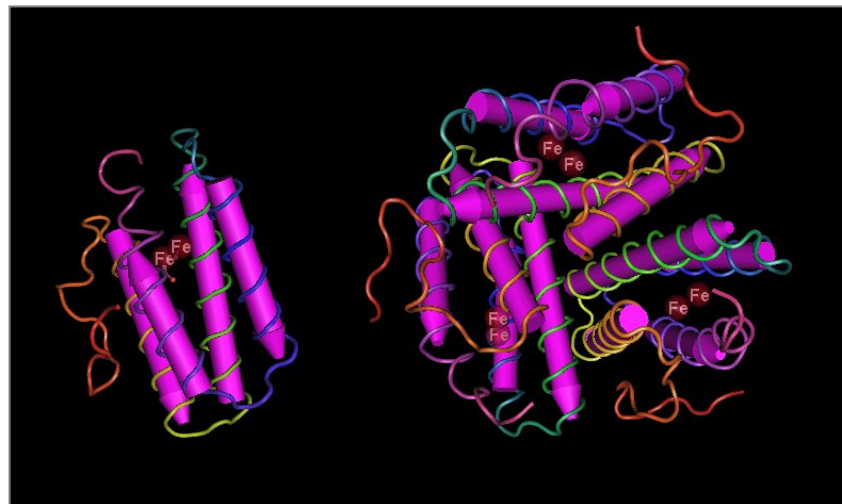
## II.1 Présentation



- Protéine à fer non-héminique.
- Transport / Stockage de l'oxygène
- Masse moléculaire qui a été sujette à controverse
- Structures oligomères: Chaque monomère contient atomes de fer indispensables pour la fixation de O<sub>2</sub>

# Historique

- 1957: 120 000 Da (Love et al)
- 1963: 108 000 Da (Keresztes-Naev et al) (Oosterom et al)  
→ Octamère dont chaque sous-unité=13500 Da  
(forme la plus courante)
- 1972: Monomère = myohémérythrine (par analogie avec l'hémoglobine et la myoglobine) (Oosterom et al)
- 1977-1981: Dimère, trimère et tétramère



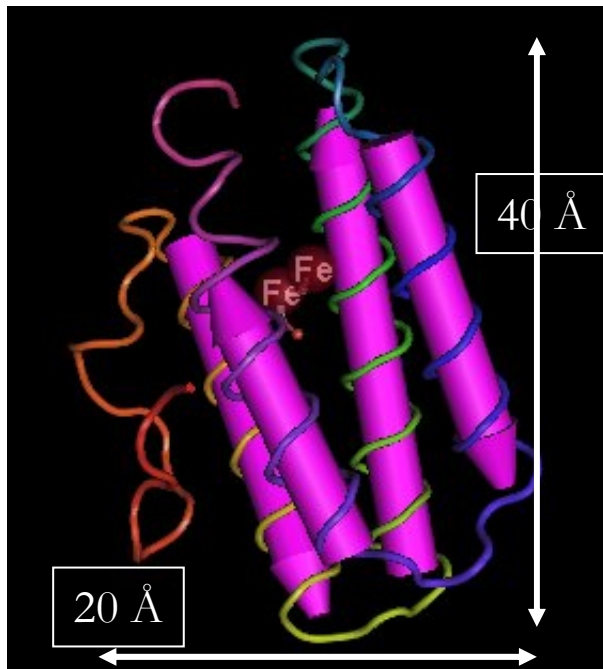
monomère

trimère



## II.2 Structure des formes les plus courantes

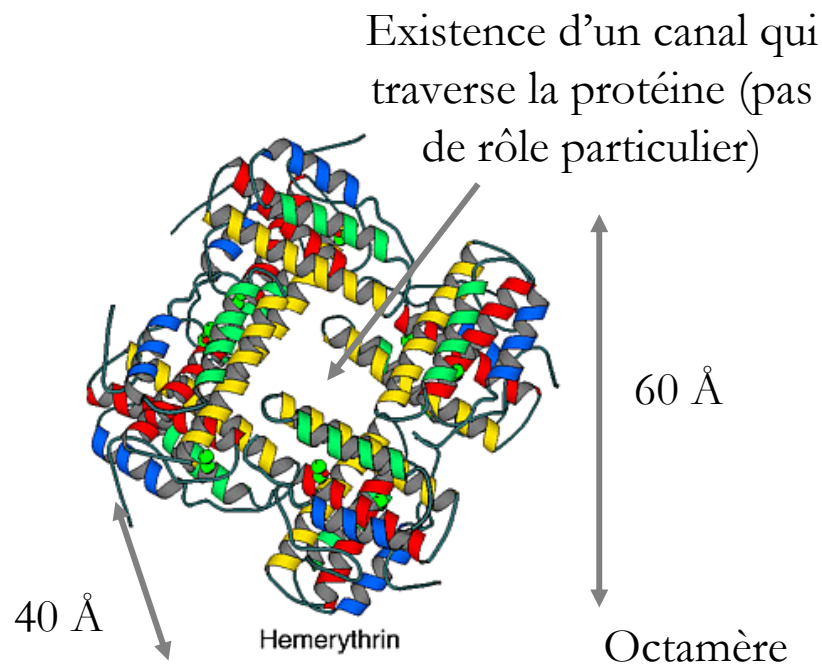
Monomère:



- 115 résidus
- 4 hélices  $\alpha$  presque parallèles
- En fait elles divergent un peu pour laisser place au domaine de fixation de  $O_2$  (di-Fer)
- Contrairement à l'hémoglobine, le fer est coordonné majoritairement par des acides aminés de la protéine et pas un groupement prosthétique (hème)

## II.2 Structure des formes les plus courantes

Octamère:



- Pas d'effet allostérique ni de coopérativité lors de la fixation de  $O_2$
- Forte affinité pour  $O_2$
- Le manque de coopérativité pourrait expliquer pourquoi l'hémérythrine ne se rencontre pas dans le monde animal (Cf suite)

## II.3 Site de fixation de O<sub>2</sub>

- 2 Fers / sous-unité → Fixation d'un O<sub>2</sub> / sous unité
- Fers fixés directement par les acides aminés de la protéine.

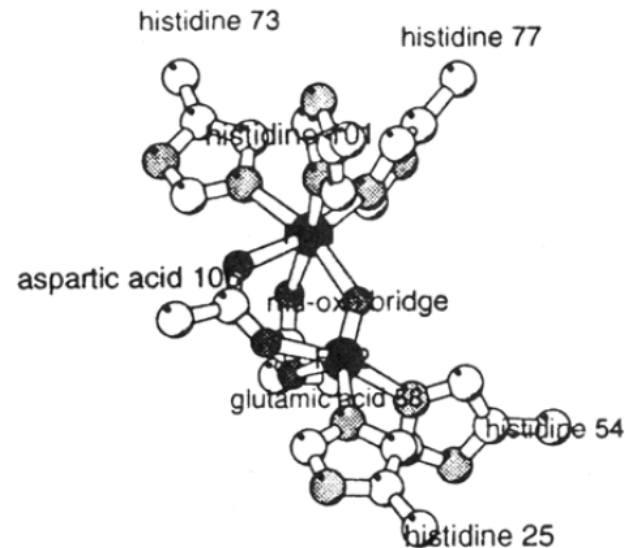
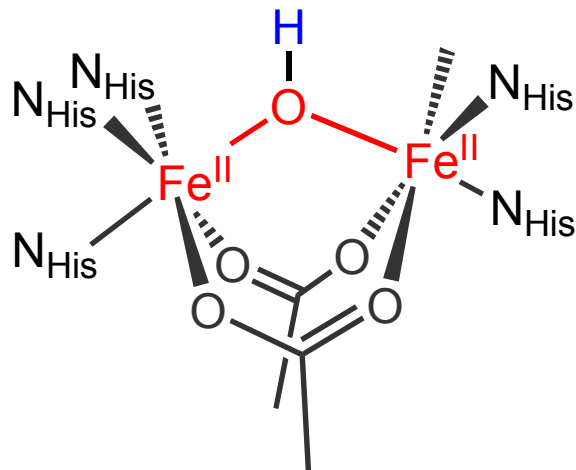


TABLE 2.3

Selecte d structural, magne tic and spectroscopic properties of  $\text{Fe}_2\text{O}(\text{A cO})_2$  core

	oxyHr	deoxyHr	HBPz <sub>3</sub>	TACN	Me <sub>3</sub> TACN
<b>Structural properties</b>					
Fe-O-Fe angle, °	128	128	123.6	118.3	113.2
Fe-μO distance, Å	1.82	1.98	1.784	1.785	1.987
Fe---Fe distance, Å	3.24	3.57	3.146	3.064	3.32
<b>Mössbauer a nd magnetic properties</b>					
Isomer shift , mm s <sup>-1</sup>	0.52, 0.48	1.14	0.52	0.43	1.16
Quadrupole splittin g, mm s <sup>-1</sup>	1.92, 1.00	2.76	1.60	1.72	2.83
J, cm <sup>-1</sup>	-77	-13	-121		-13
<b>Electronic spectra</b>					
LMCT (O <sup>2-</sup> to Fe), nm	330, 360 sh		262, 339, 358 sh	333, 368 sh	
d-d, nm	750, 990		528 sh, 695, 995		
<b>Vibrati onal spectra</b>					
Fe-O-Fe, symm . Strech, cm <sup>-1</sup>	486		528		
Fe-O-Fe, asymm . Strech, cm <sup>-1</sup>	757		751	749	

Changement de déplacement isomérique au cours de l'oxygénation  
 → L'oxygène se fixe sur le fer

	oxyHr	deoxyHr
--	-------	---------

**Mössbauer and magnetic properties**

Isomer shift,  $\text{mm s}^{-1}$

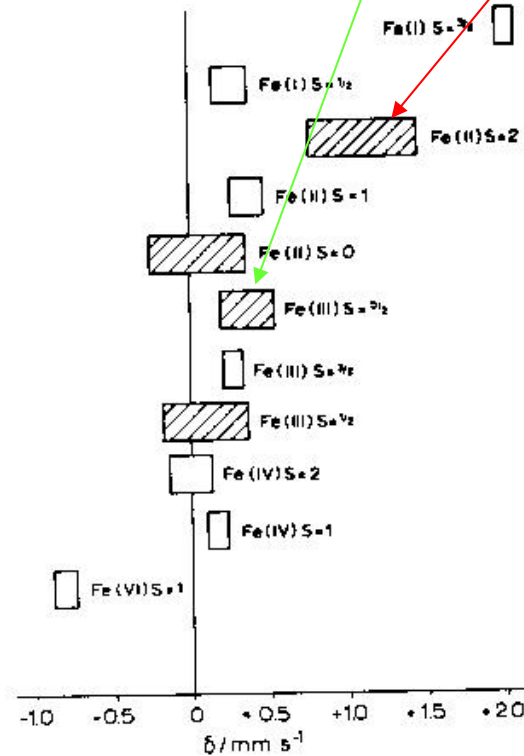
Quadrupole splitting,  $\text{g, mm s}^{-1}$

0.52, 0.48

1.92, 1.00

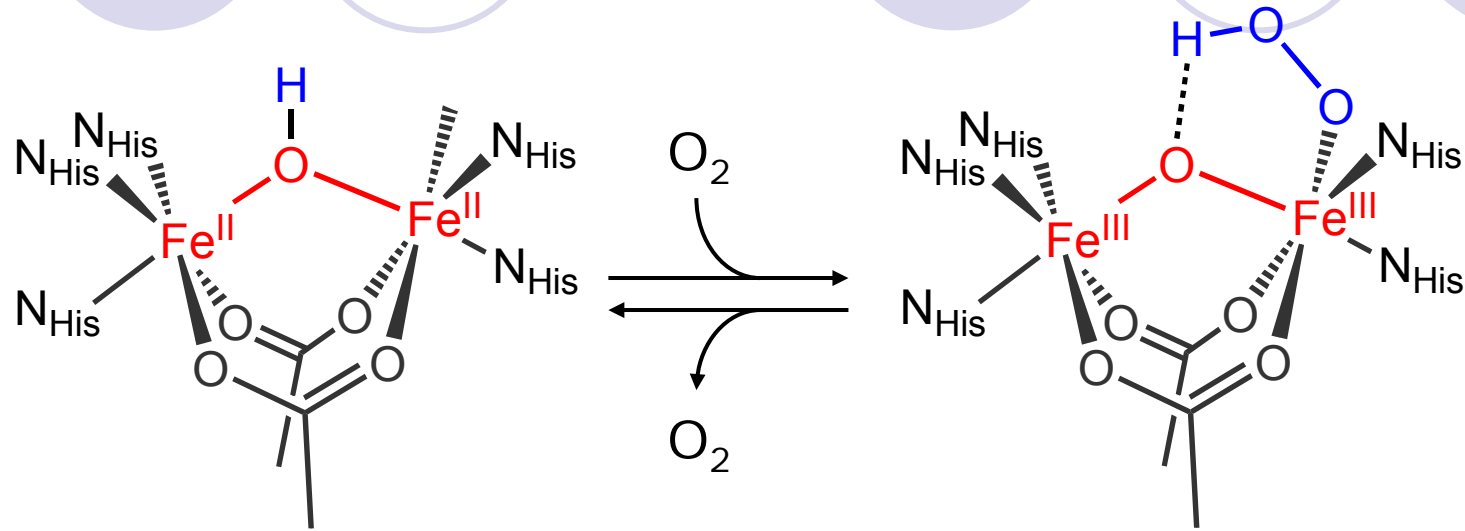
1.14

2.76



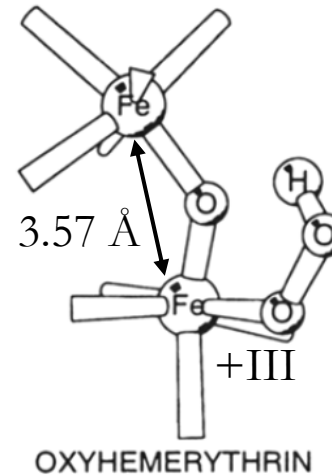
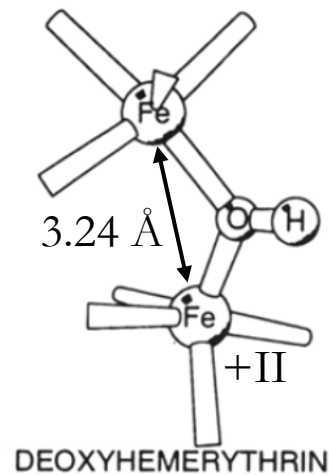
- Changement de l'état d'oxydation du fer au cours de la fixation de dioxygène. Fers non-équivalents dans la forme oxygénée

# Structures par diffraction des RX



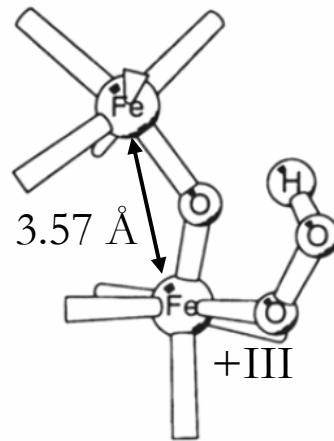
deoxy-Hr

oxy-Hr



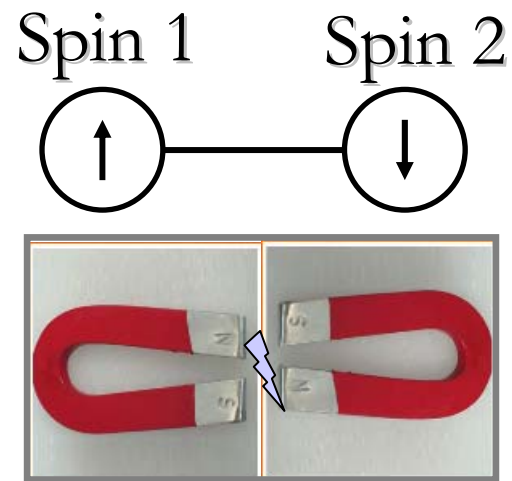
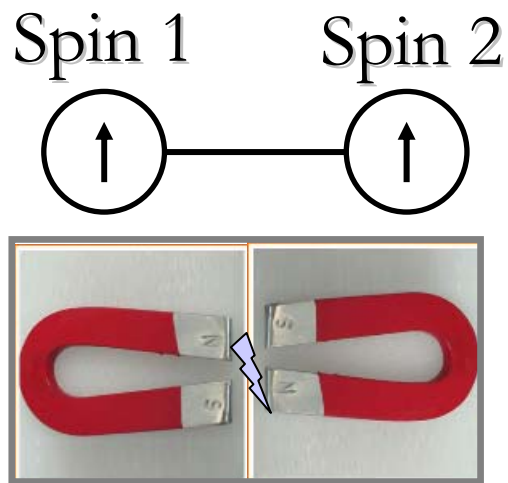
# Propriétés magnétiques particulières

- 2 Fers / sous-unité
- Spectroscopie RPE 4K: Pas de signal
  - Forme déoxyHr: 2  $\text{Fe}^{2+}$  haut spin (tjs difficile à détecter)
  - Forme oxy-Hr: 2  $\text{Fe}^{3+}$  généralement très faciles à détecter par RPE ?????



# Interaction entre les 2 Fe<sup>III</sup> (chacun S ≠ 0) créée par le pont chimique

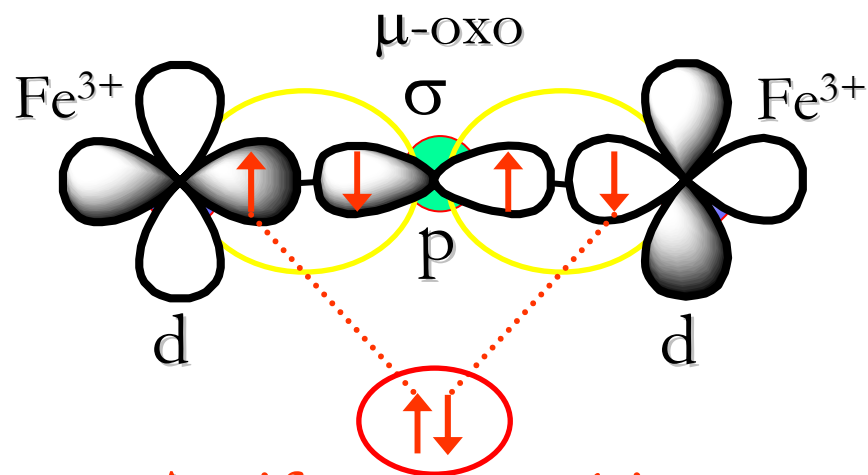
- Les 2 Fe<sup>III</sup> (censés posséder une signature RPE) ne peuvent pas être considérés comme indépendants:



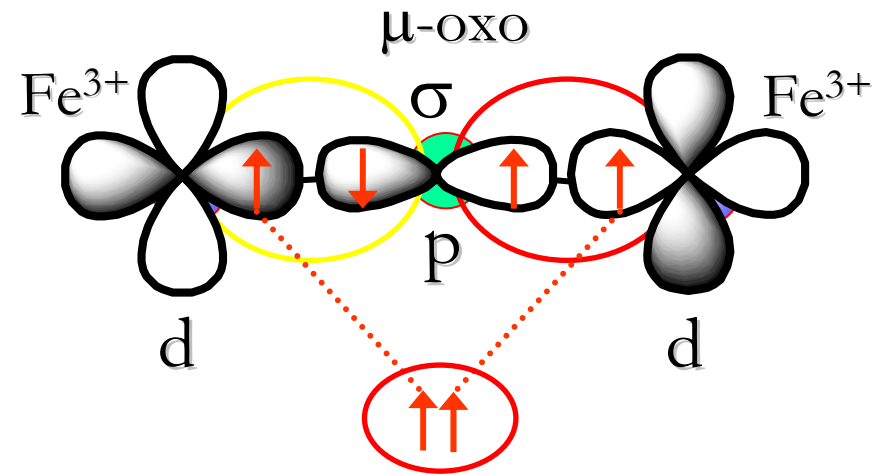
Spin total  $S_{\text{tot}} = 1/2 + 1/2 = 1$       Spin total  $S_{\text{tot}} = 1/2 - 1/2 = 0$



# Raisonnement qualitatif au niveau orbitalaire



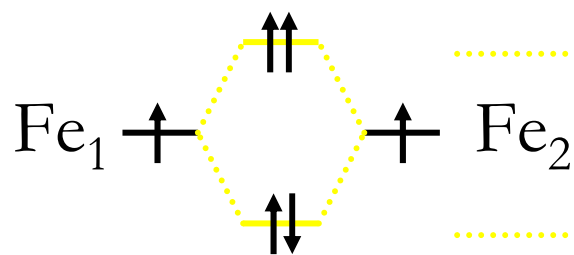
Antiferromagnétisme  
Etat stable



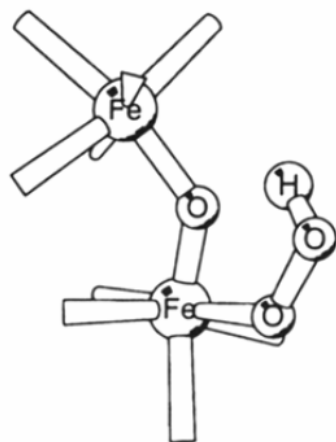
Etat moins stable ferromagnétique

# Magnétisme

$E$



$$J = E_{\text{triplet}} - E_{\text{singlet}} = -77 \text{ cm}^{-1}$$



Rappel:

- Couplage très fort:  $|200| \text{ cm}^{-1}$
- Plutôt faible:  $< |5| \text{ cm}^{-1}$
- Force du couplage dépend de la distance intermétallique (2.9 à 8Å) et du recouvrement orbitalaire.

Hm: Couplage fort  $-77 \text{ cm}^{-1}$  en accord avec la distance Fe-Fe de 3.57Å

### III. Transport de O<sub>2</sub> chez les mollusques et certains arthropodes: Hémocyanine

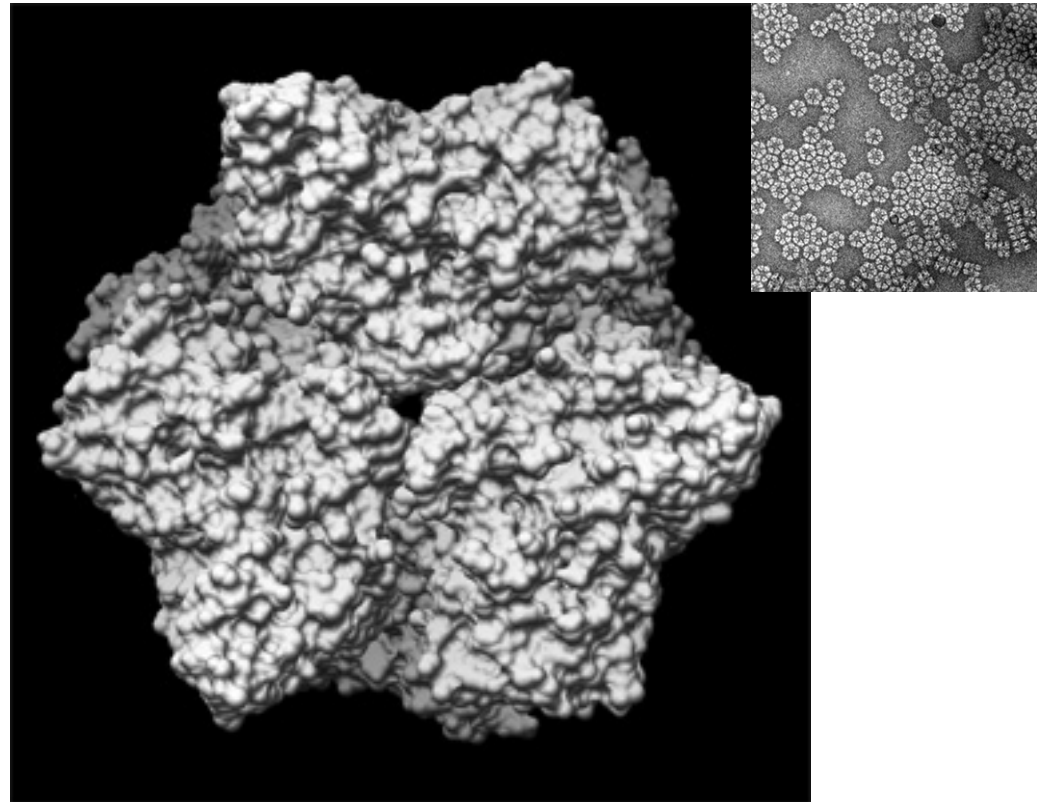
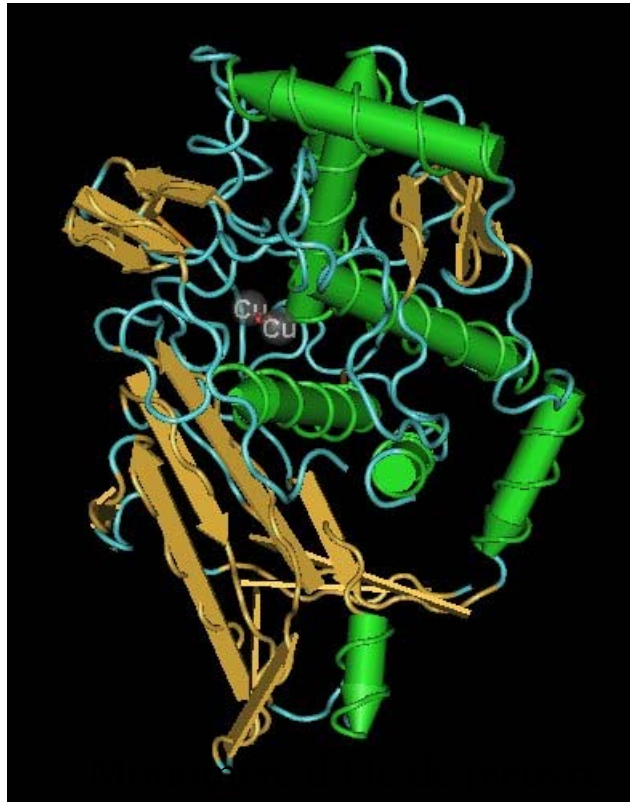


# III.1 Présentation

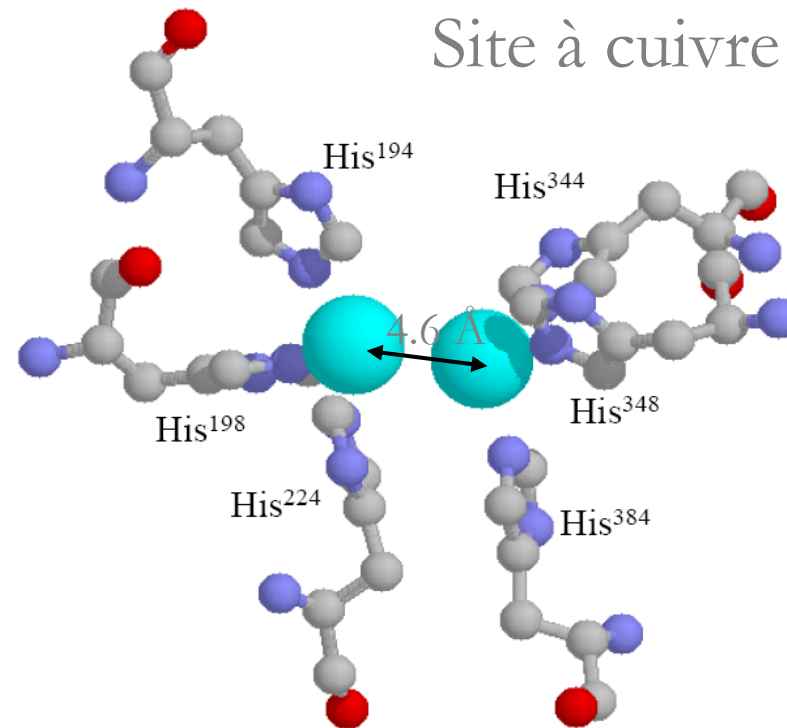
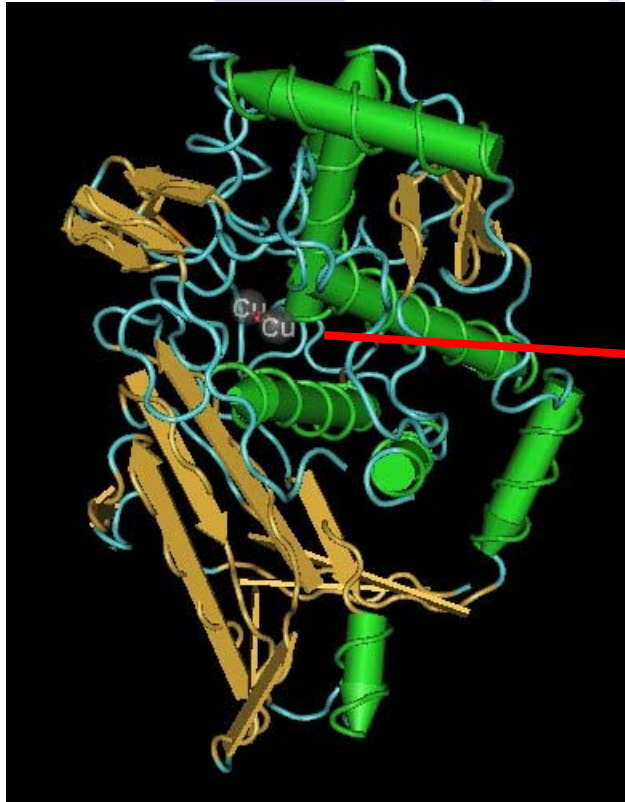
- Protéine à cuivre
- PM: 50 kDa (pieuvre), 400 – 20 000 kDa (crabes)
- Dans l'hémolymphe ( $\approx$  sang) de nombreux arthropodes et mollusques: 50 g de cuivre/ litre.
- Donne une couleur bleu au sang oxygéné (d'où son nom)
- Des études sur des complexes modèles ont permis de proposer une structure pour l'adduit avec  $O_2$  avant qu'il ne soit caractérisé dans la protéine



- Nombreuses sous-unités:  $\alpha_6$  (pieuvre),  $\alpha_{10} - \alpha_{20}$  (crabes)
- Entre 6 et 160 sites de fixation de  $O_2$ .
- Forte coopérativité entre sous-unités pour la fixation de  $O_2$ . Aucun modèle simple ne permet de l'expliquer.
- Structures différentes selon l'origine (mollusques: assemblage en tubes, arthropodes ci-dessous)

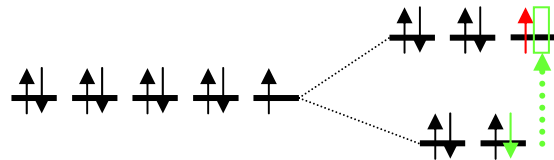


# Structure de l'hémocyanine

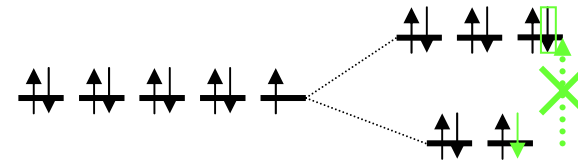


- Mutations des His: Perte du cuivre
- En absence de cuivre pas de fixation de O<sub>2</sub>: O<sub>2</sub> se lie donc au cuivre
- Résidus aromatiques (poche hydrophobe) autour du site

# Spectroscopie attendue (forme déoxy)



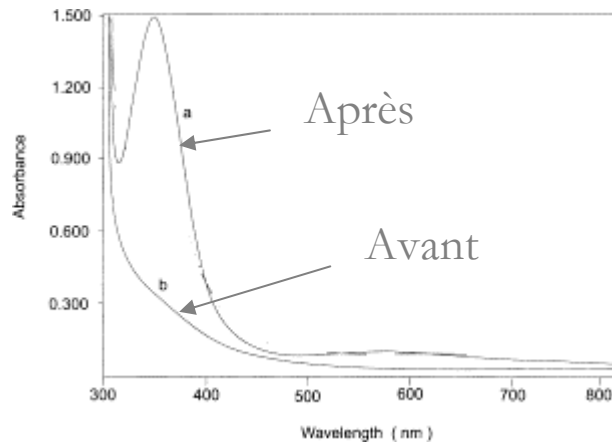
- Si  $\text{Cu}^{2+}$  ( $d^9$ ):
  - Un électron célibataire: **Signal RPE attendu**
  - Une **transition dd** en UV-Vis: absorption dans le visible



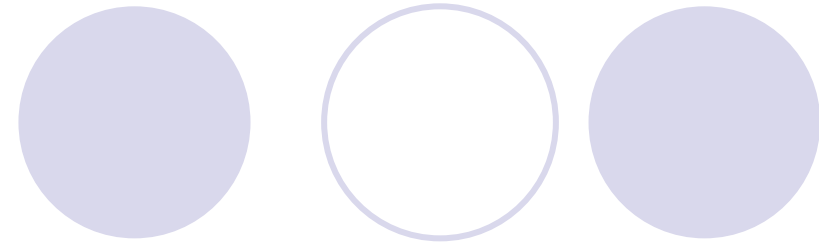
- Si  $\text{Cu}^+$  ( $d^{10}$ ):
  - Pas d'électron célibataire: **Pas de signal RPE**
  - Pas de mobilité électronique: **Pas d'absorption dans le visible**

# UV-Vis

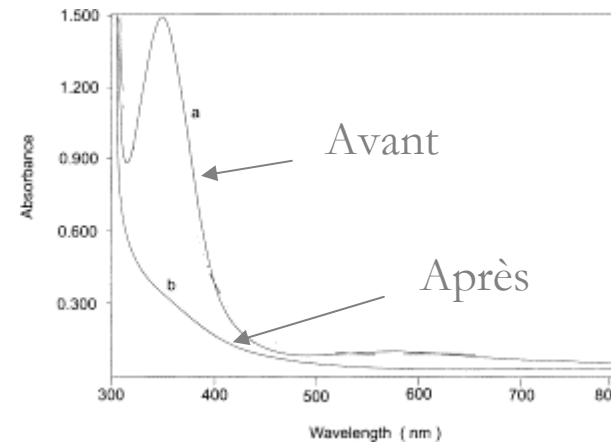
- Hémocyanine avant et après oxygénation



Domaine où les résidus aromatiques de la protéine absorbent (transitions  $\pi-\pi^*$ )



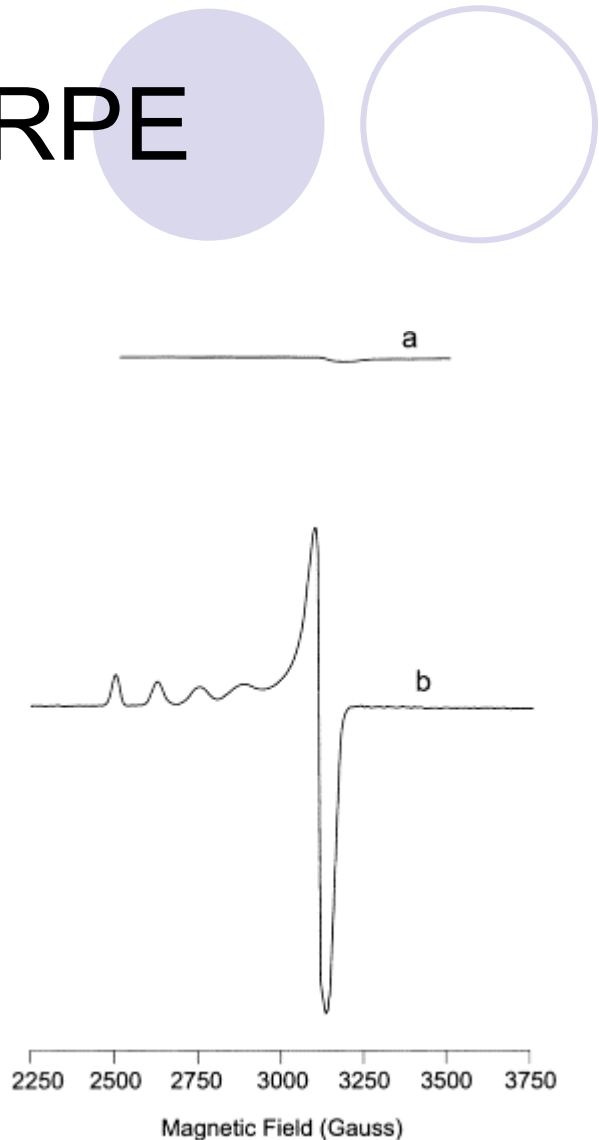
- Hémocyanine oxygénée après ajout de sulfure de sodium (réducteur)



- Forme déoxy:  $\text{Cu}^+ \rightarrow$  En accord avec le champ de ligand
- Forme oxy:  $\text{Cu}^{2+}$



# RPE

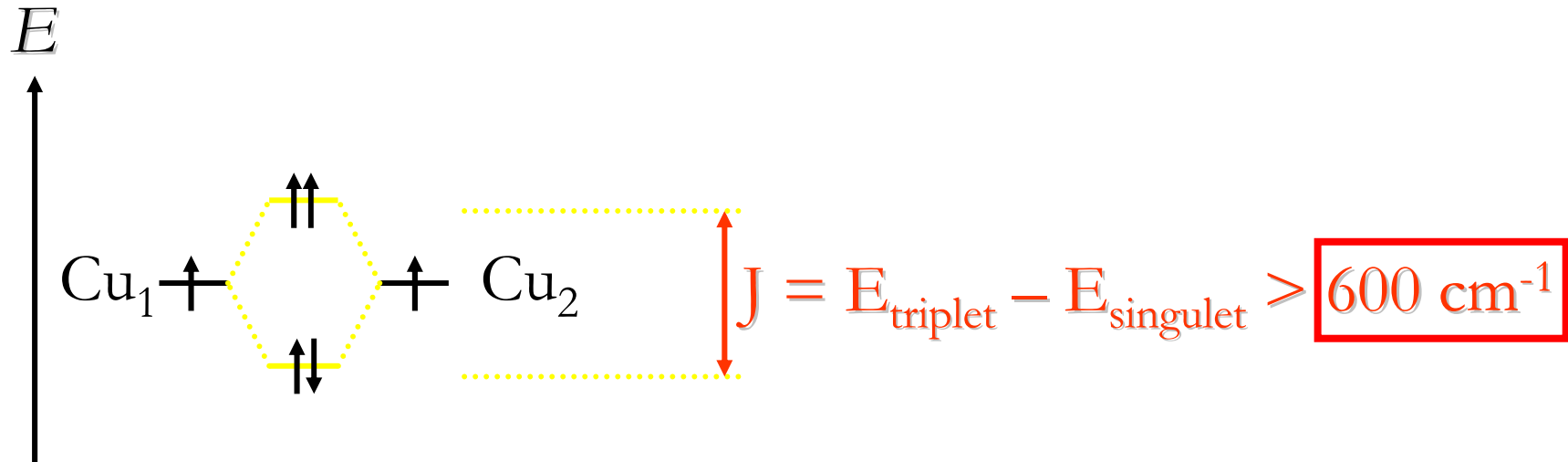


- a: Formes déoxy et oxy
- b: Forme oxy après ajout d'acide phosphorique concentré (décomplexation du cuivre)

• Forme déoxy:  $\text{Cu}^+$

• Forme oxy:  $\text{Cu}^{2+}$  Paradoxe ??????

# Explication: 2 Cu<sup>2+</sup> en interaction dans la forme oxyHc



Rappel:

- Couplage très fort:  $|200| \text{ cm}^{-1}$
- Plutôt faible:  $< |5| \text{ cm}^{-1}$

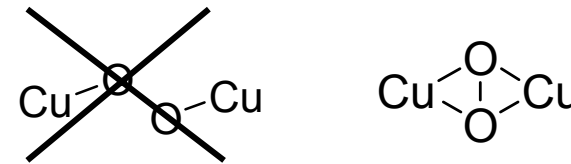
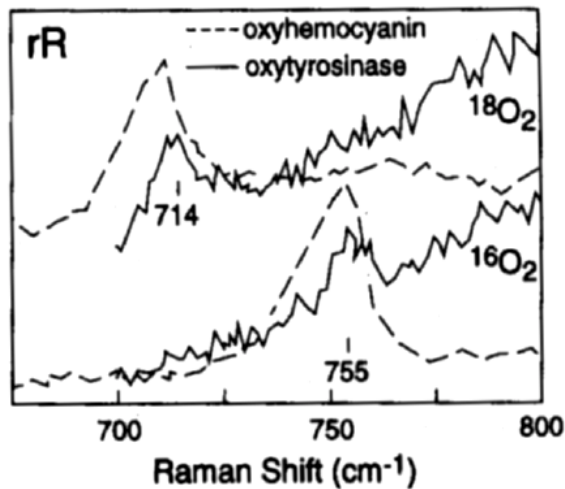
Hc: Couplage très fort

**Trop fort pour 2 Cu<sup>2+</sup> couplés dans l'espace ( $d_{\text{Cu-Cu}} \approx 3.5 \text{ \AA}$ )!!!**

# Explication: Un ligand pontant génère ce couplage très fort

## ● Possibilités:

- Resonance Raman  
 $\nu_{\text{O-O}} = 755 \text{ cm}^{-1}$  **peroxide**

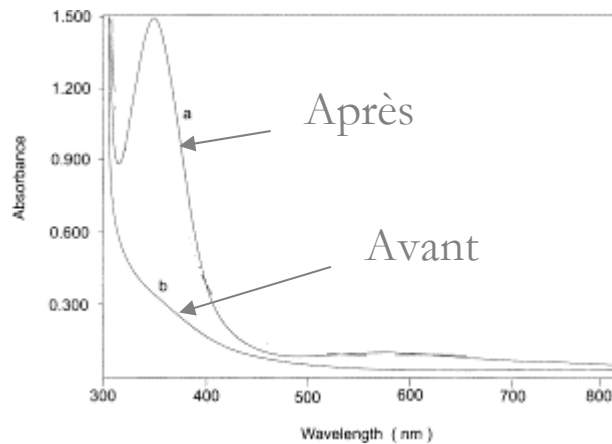


Couplage attendu  $< 200 \text{ cm}^{-1}$  car  
 Pont = 2 atomes

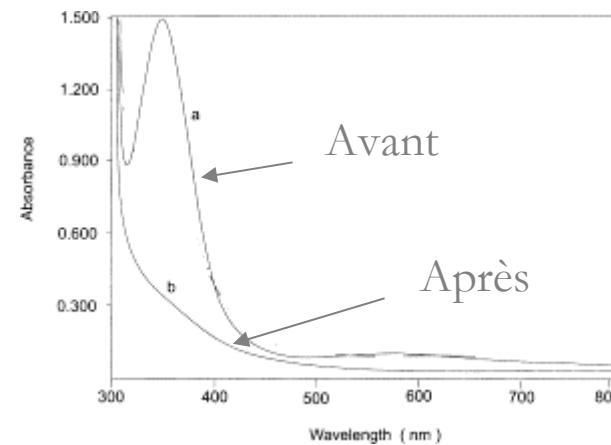
	$\text{O}_2$	$\text{O}_2^-$	$\text{O}_2^{2-}$
$\nu_{\text{O-O}} \text{ (cm}^{-1}\text{)}$	1560	$\sim 1100$	850–740

# UV-Vis: Interprétation

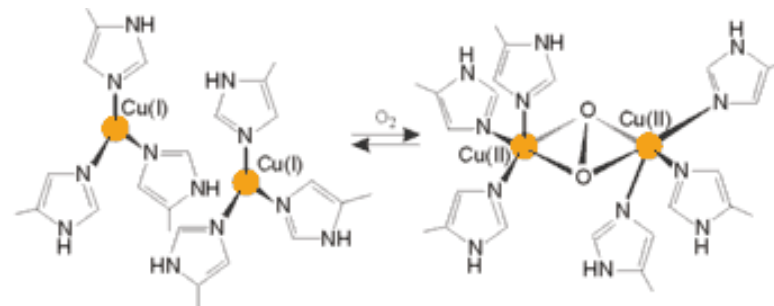
- 345 nm: Transfert de charge peroxyo  $\rightarrow$   $\text{Cu}^{2+}$



- Hémocyanine oxygénée après ajout de sulfure de sodium (réducteur)



←  
Domaine où les résidus aromatiques de la protéine absorbent (transitions  $\pi-\pi^*$ )



# Adduit avec O<sub>2</sub>: Comparaison avec des complexes caractérisés

## *trans* μ-peroxo

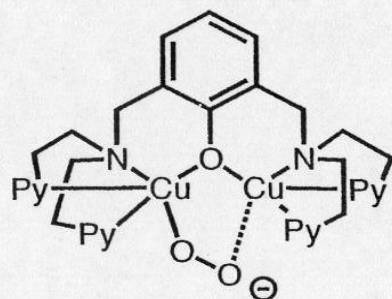
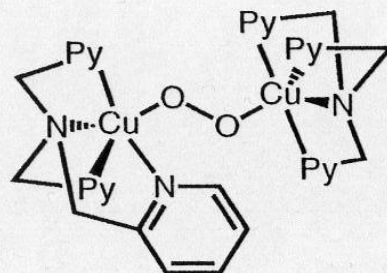
K. D. Karlin JACS 1988, 110, 3690.

X-ray  $d_{\text{Cu-Cu}} = 4.36 \text{ \AA}$

UV-vis. 525 nm ( $\epsilon = 11\,500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

590 nm ( $\epsilon = 7\,600 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

EPR Silent



## terminal peroxo

K. D. Karlin JACS 1984, 106, 3372.

UV-vis. 505 nm ( $\epsilon = 3\,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

385 nm ( $\epsilon = 6\,300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

EPR Silent

## OxyHc

UV-vis. 345 nm ( $\epsilon = 20\,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

550 nm ( $\epsilon = 1\,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

EPR Silent

Raman  $\nu(\text{O-O}) = 749 \text{ cm}^{-1}$

## μ-η<sup>2</sup>:η<sup>2</sup> peroxo

Kitajima JACS, 1989, 111, 8975.

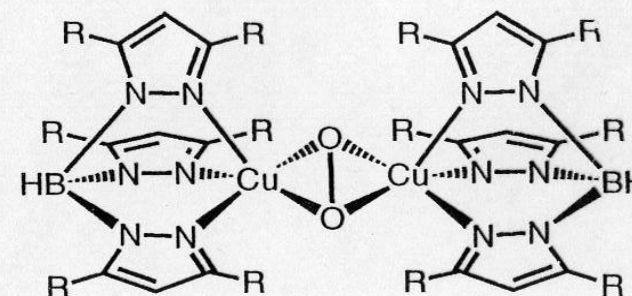
X-ray  $d_{\text{Cu-Cu}} = 3.56 \text{ \AA}$

UV-vis. 349 nm ( $\epsilon = 21\,000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

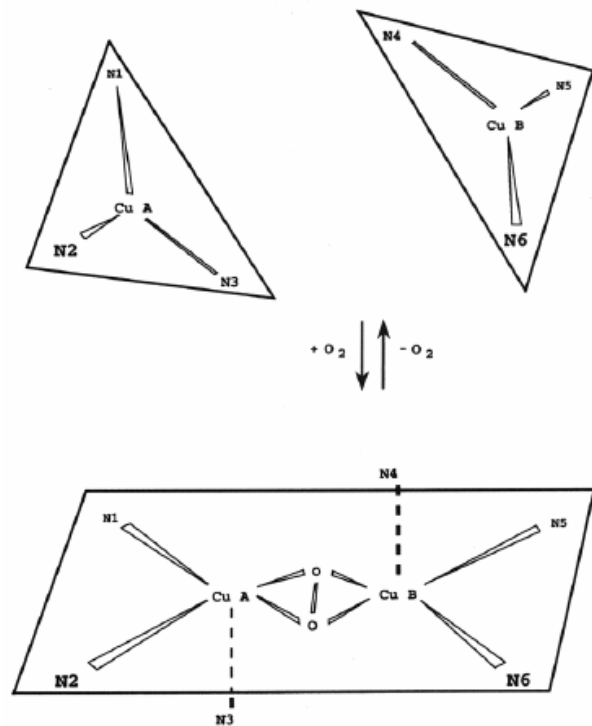
551 nm ( $\epsilon = 800 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ )

EPR Silent

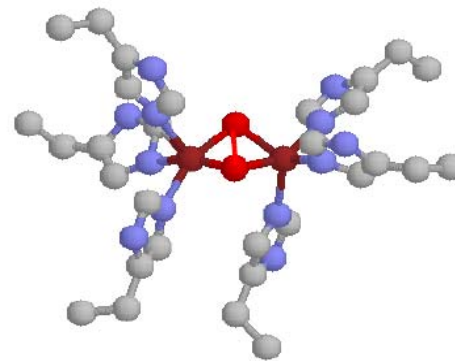
Raman  $\nu(\text{O-O}) = 741 \text{ cm}^{-1}$



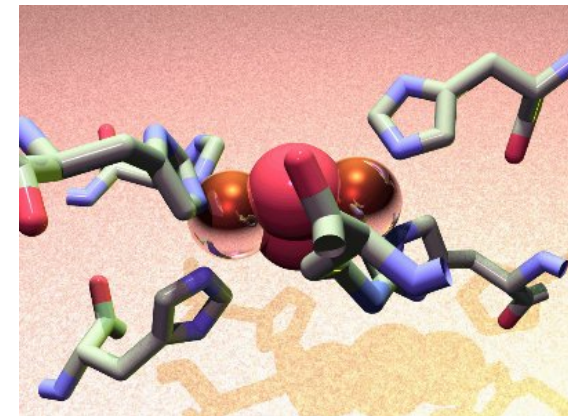
# La structure RX de l'oxyHc a été résolue après celle du complexe modèle:



**Figure 6.** Schematic diagrams of the deoxygenated (top) and oxygenated (bottom) *Limulus* subunit II hemocyanin dicopper sites. In the deoxygenated state, each copper atom and its three ligating nitrogen are nearly coplanar (top). Each copper atom in the oxygenated *Limulus* II hemocyanin is strongly coordinated by the two closest nitrogen atoms of histidine residues and the oxygen atoms of the bound oxygen molecule (bottom). Cu A to N1 = 2.1 Å, Cu A to N2 = 2.1 Å, Cu A to N3 = 2.5 Å, Cu A to O = 2.0 Å, Cu B to N3 = 2.2 Å, Cu B to N4 = 2.4 Å, Cu B to O = 2.1 Å.



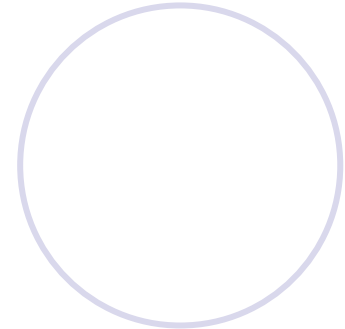
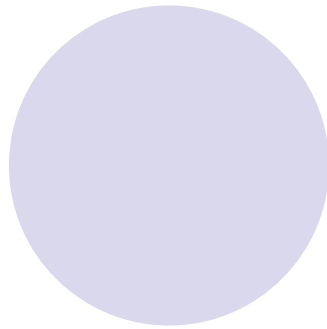
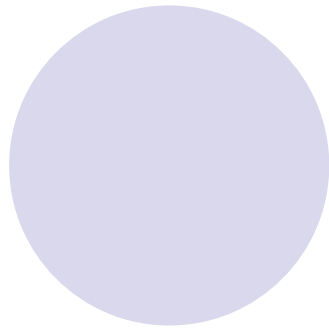
Complexe modèle



OxyHc

- $\text{Cu}^+$  plan, 3 ligands
  - $\text{Cu}^{2+}$  pyramide base carrée, 5 atomes chélatants
- En accord avec les géométries adoptées par le Cu en solution

# IV. Transport de O<sub>2</sub> chez les vertébrés

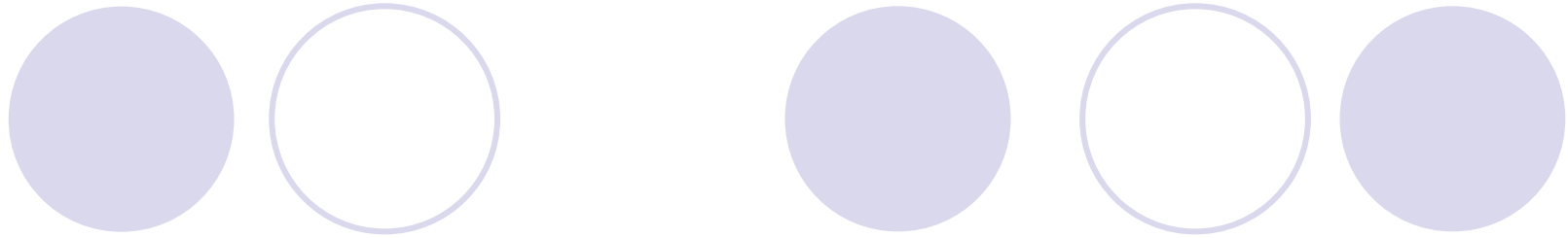


## IV.1 Introduction

Pré-requis chez les vertébrés:

- Fixation forte et réversible du dioxygène
- Le transporteur doit avoir une forte affinité pour  $O_2$  lorsqu'il est présent en grande quantité (poumon), et une affinité plus faible lorsqu'il doit le restituer (muscles)

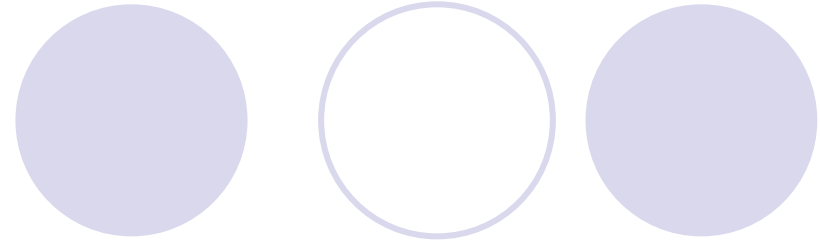




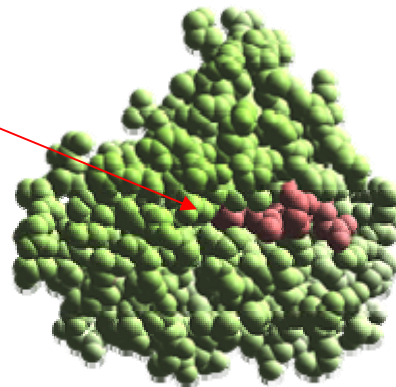
- 2 types de transporteurs:
  - Myoglobine dans le muscle
  - Hémoglobine dans le sang
- Dans 1 ml de sang: 5 Milliards de globules rouges (erythrocytes). Chaque erythrocyte = 280 millions molécules d'hémoglobine fixant chacune quatre molécules de  $O_2$

## IV.2 Myoglobine

### a) Structure

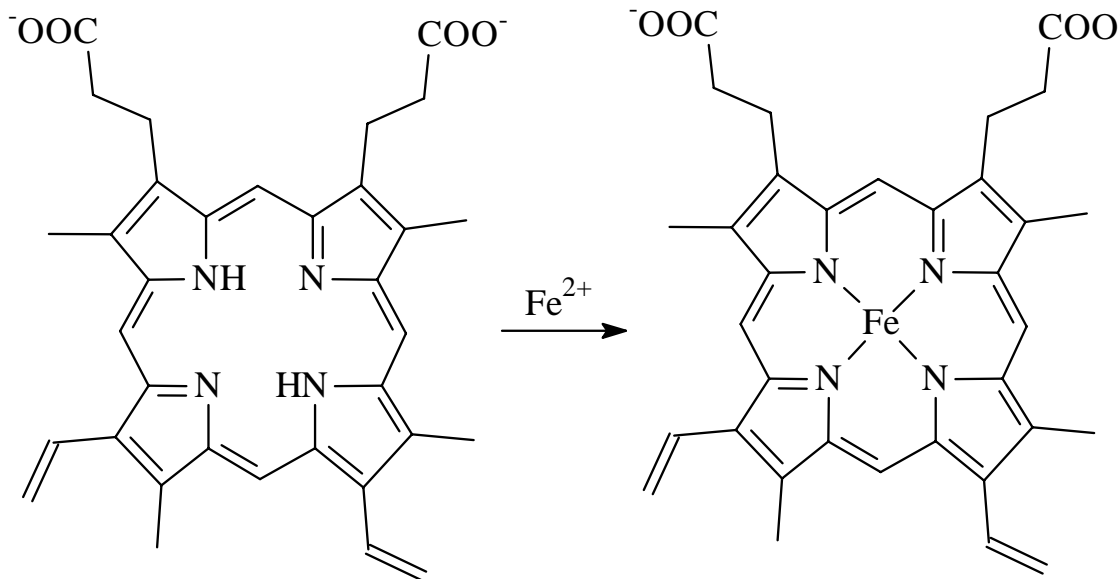


- Une seule unité de 153 amino-acides
- Mb est très compacte (44 x 44 x 25 Å), 75% d'hélices  $\alpha$ .
- 8 hélices  $\alpha$  nommées A-H. Hélices E et F portent l'hème
- **Hème** près de la surface



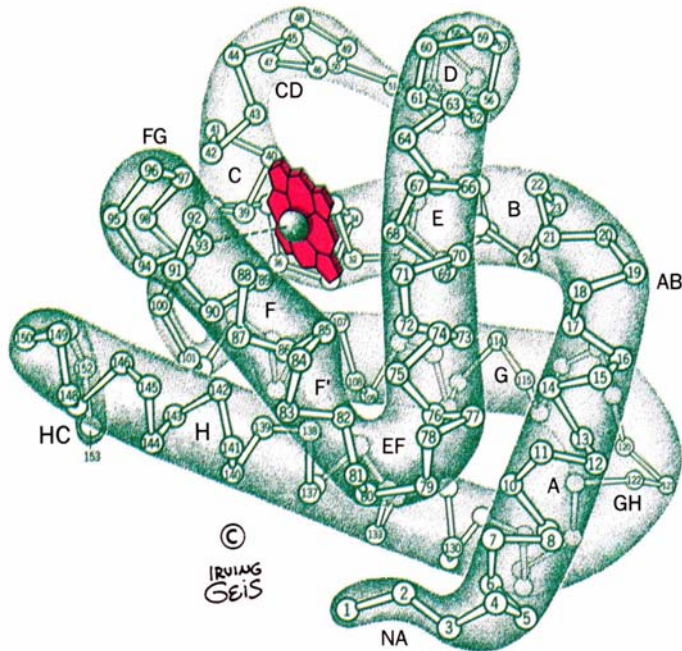
# Présence d'un hème (site de fixation de O<sub>2</sub>)

- Structure de l'hème (groupement prosthétique):



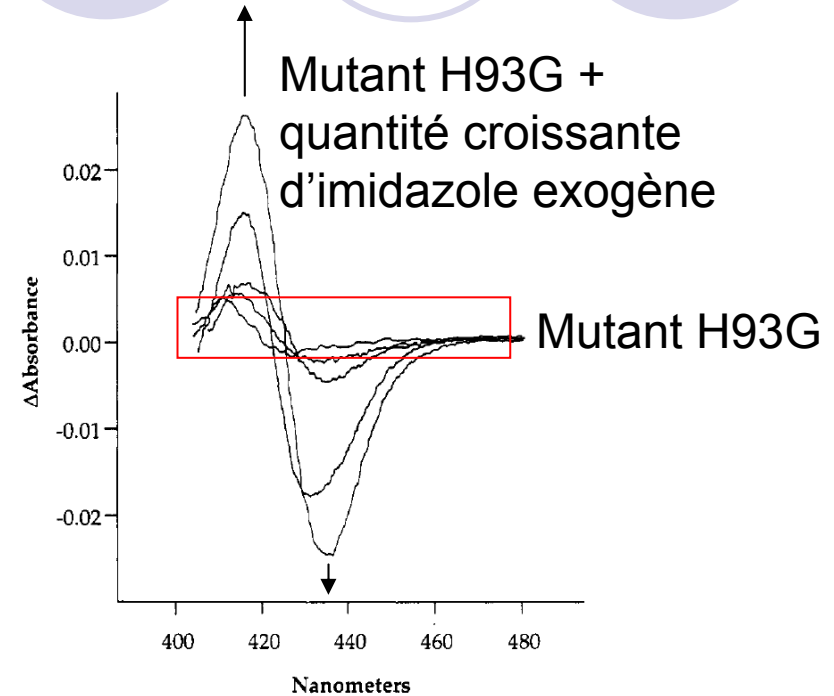
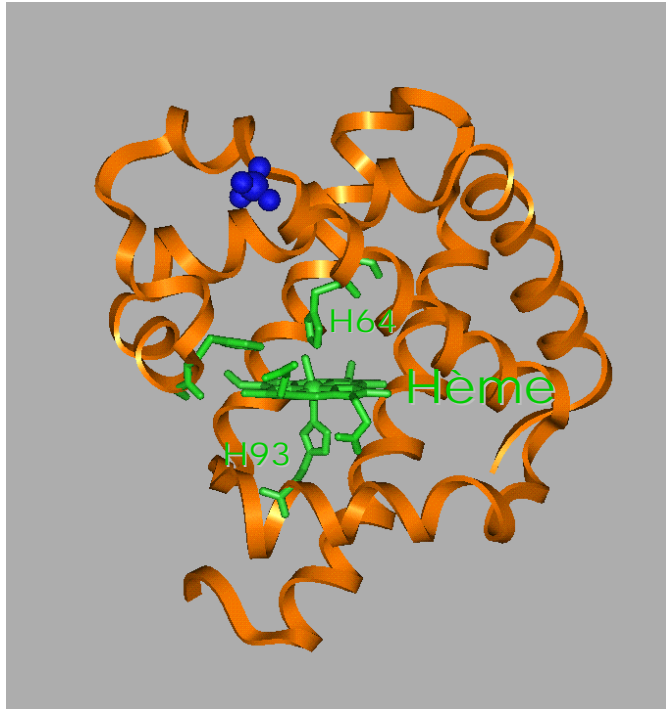
# Hème dans la myoglobine

- Forme déoxy (absence de O<sub>2</sub>)



- Fer coordonné dans le plan par 4 N de la porphyrine
- Un N de His 93 sert de ligand axial (position proximale).
- His 64 (position distale) ne coordonne pas directement le métal
- Carboxylates polaires pointent vers le solvant

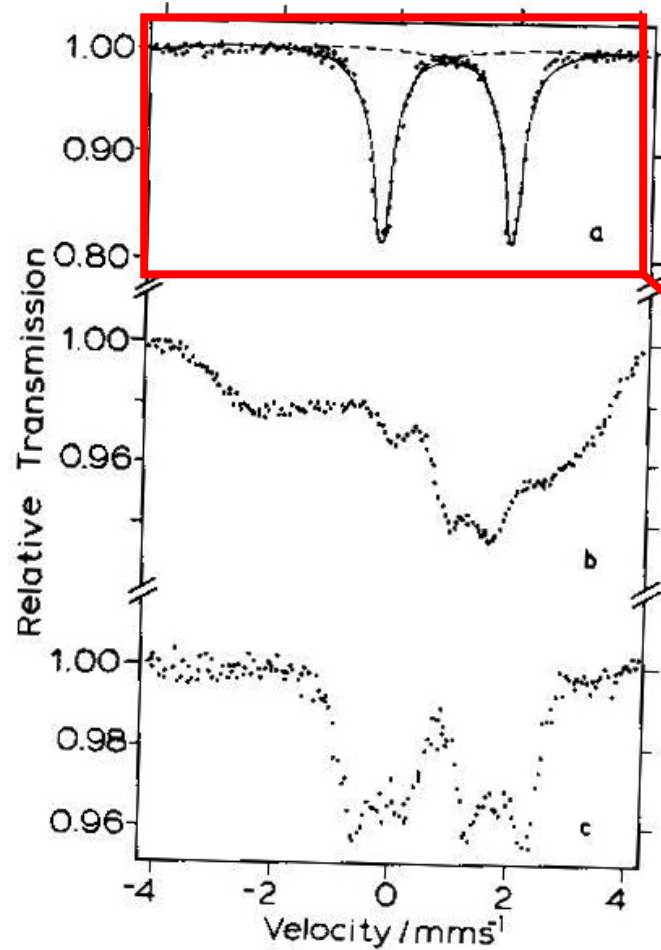
# Mutants sur His93 (site de fixation de l'hème à la protéine)



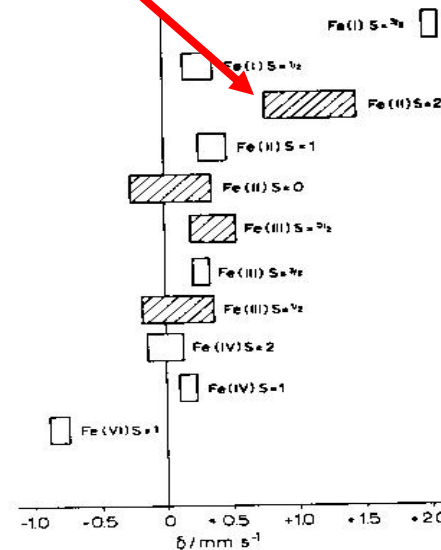
Différence: (Spectre en présence de CO) – (spectre en absence de CO)

- Mutant H93G: Pas de fixation de CO (pas d'hème)
- Mutant H93G + imidazole mimant H93: CO donc hème se fixe (moins bien)

## b) Etat d'oxydation du fer (forme Deoxy)

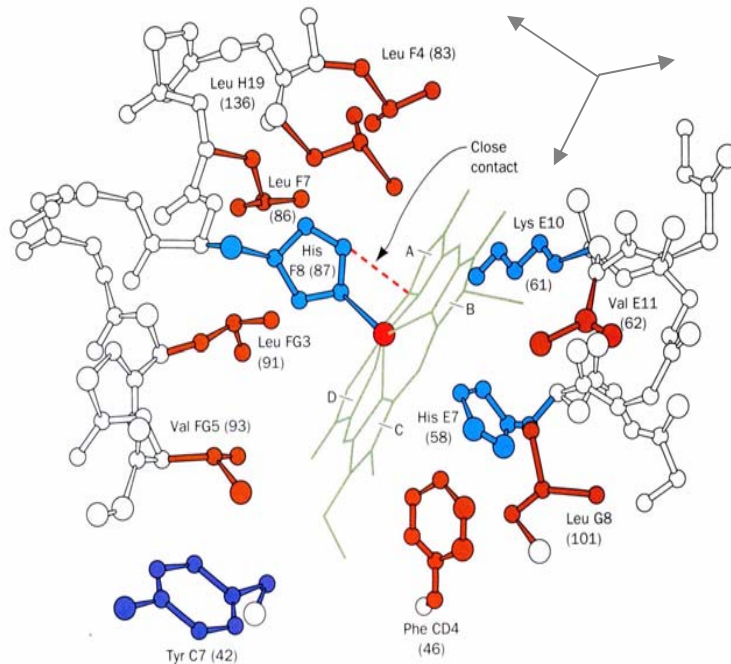


- Spectroscopie Mössbauer:
    - $\delta \approx 0.9 \text{ mm/s}$
    - Espèce paramagnétique
- Fe(II) haut spin



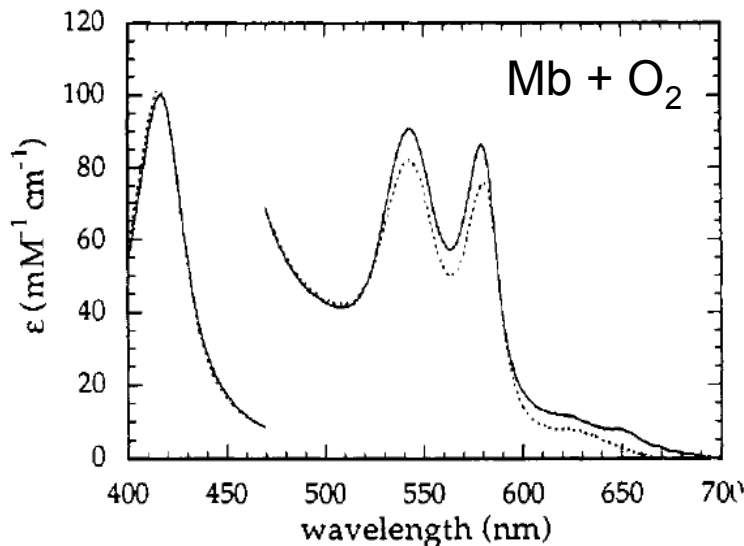
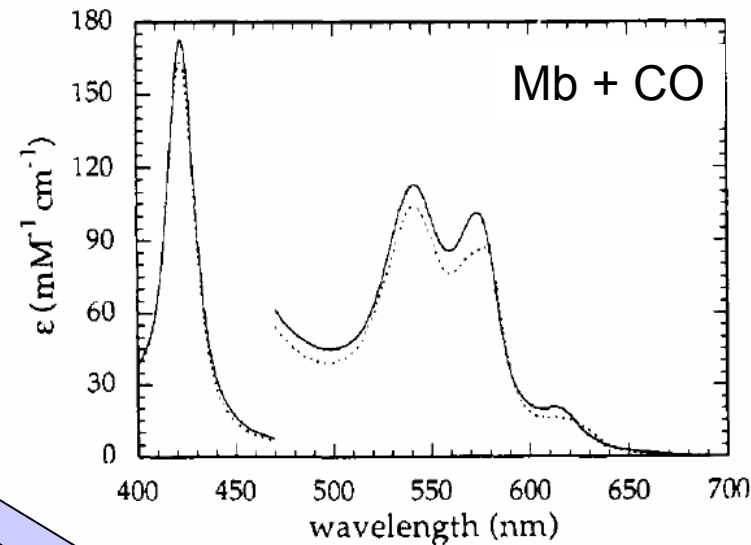
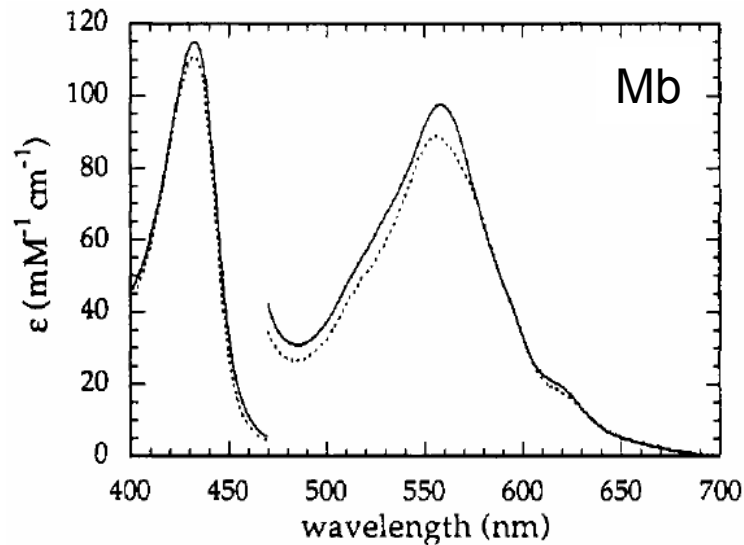
## c) Fixation de O<sub>2</sub>

Ne pas se fier à la numérotation  
des acides aminés



- Acides aminés qui définiraient une cavité pour un gaz:  
→ Résidus apolaires oranges
- Mutation de ces résidus hydrophobes → perturbation de la fixation de O<sub>2</sub>

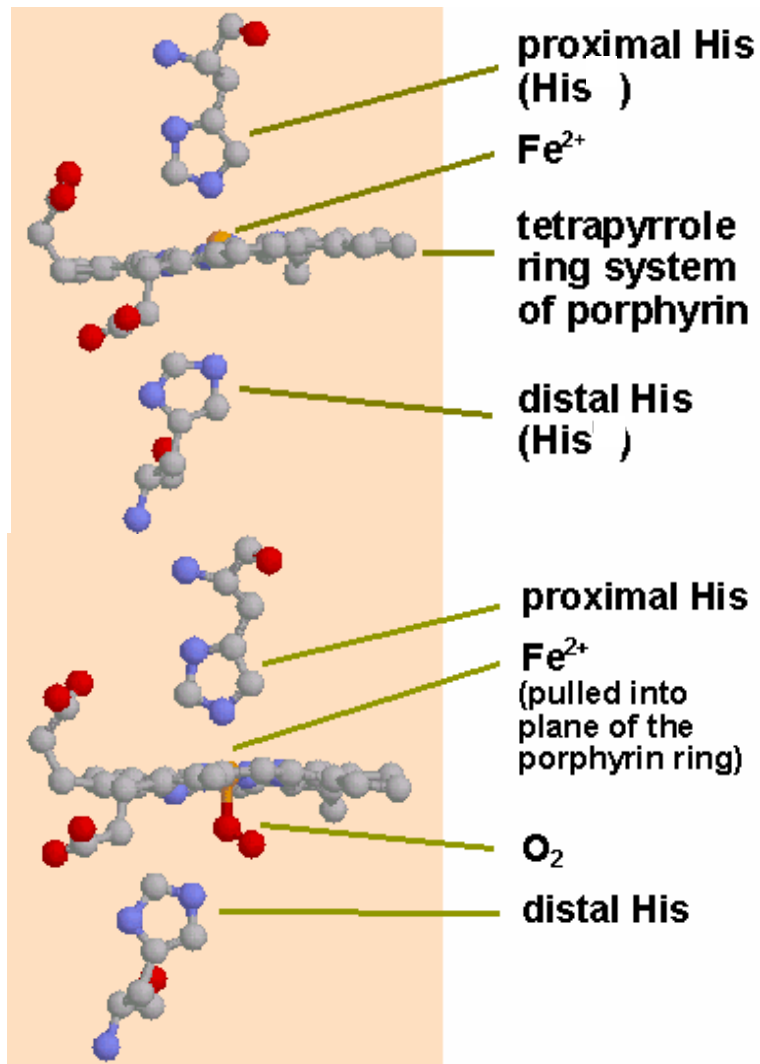
# Spectroscopie UV-Vis



- Absorption importante (bande de Soret)  
→ Transitions  $\pi$ - $\pi^*$  de la porphyrine (fortement conjuguée)
- Changement de spectre = fixation de CO et O<sub>2</sub> directement sur la porphyrine

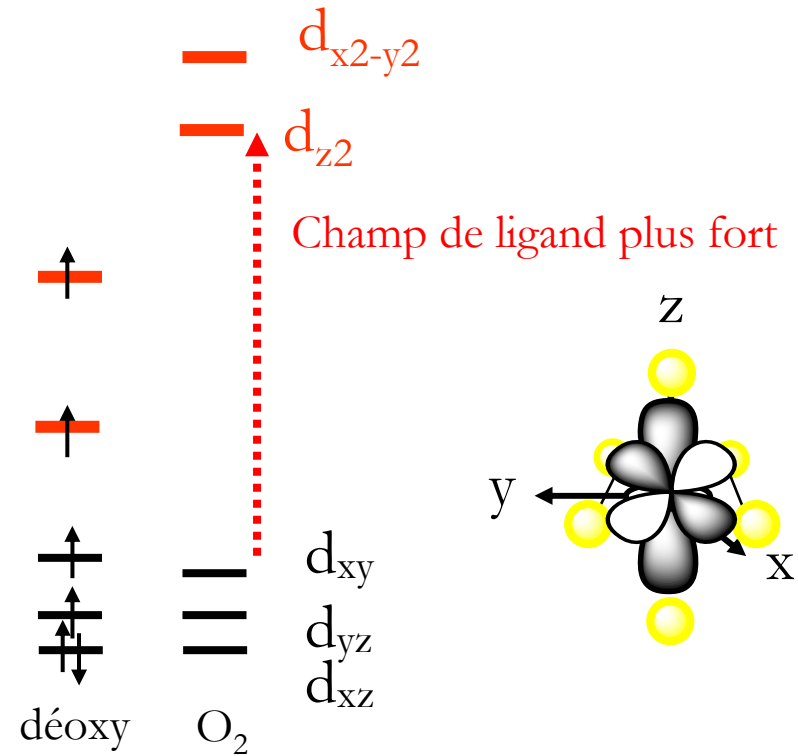
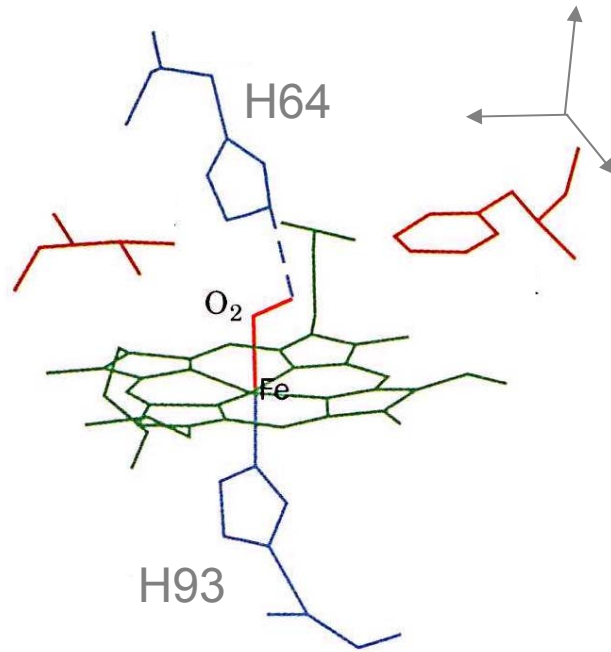


# Mécanisme de fixation de O<sub>2</sub>



- Myoglobine fixe O<sub>2</sub> (ou CO) réversiblement sur le site de coordination distal vacant.
- Stabilisation de l'adduit avec O<sub>2</sub> par liaison hydrogène avec l'His distale

# Géométrie de l'hème en présence d'O<sub>2</sub>



- Distances
  - H93-Fe: 2.1-2.3
  - N<sub>hème</sub>-Fe: 2.0
  - O(O<sub>2</sub>)-Fe: 1.8
- Fer dans le plan de l'hème

Fer devient bas spin  
 Comment remplir les orbitales ?

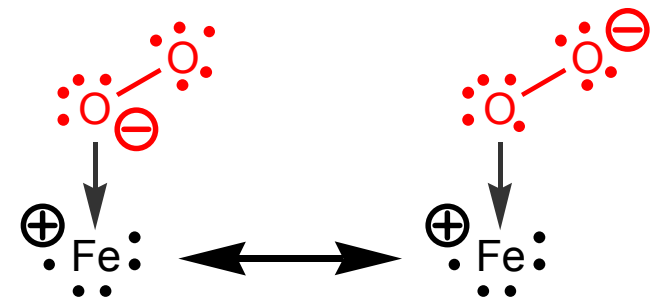
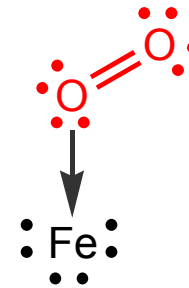
# Nature de la liaison Fe-O<sub>2</sub>

Formes déoxy paramagnétiques → Fe(II)  $d^6$  haut spin ( $S = 2$ )

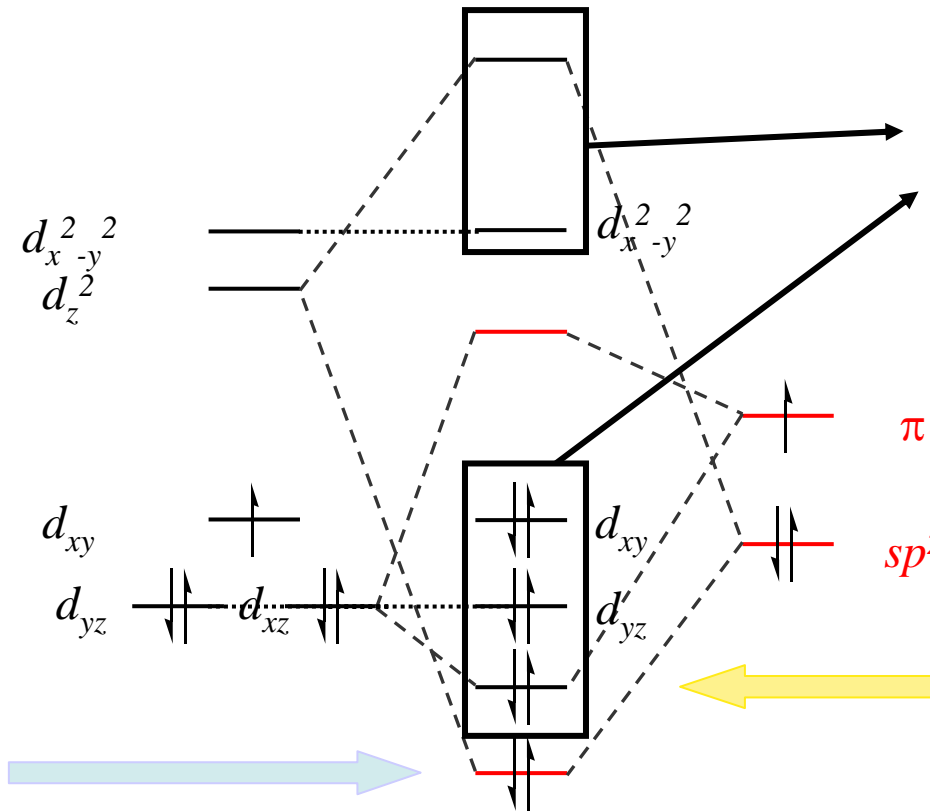
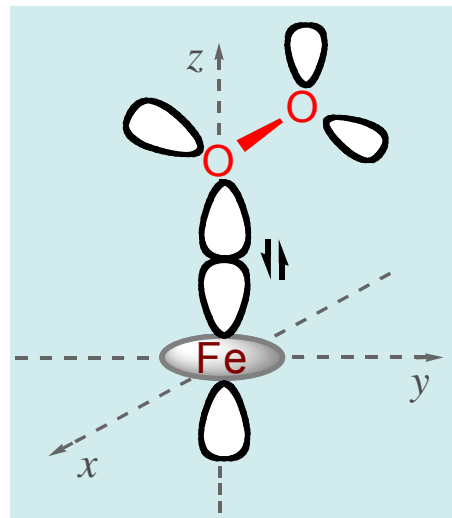
*Hypothèse de Pauling*  
Fe(II)  $d^6$  bas spin + ligand  $^1O_2$

Formes Oxy sont diamagnétiques

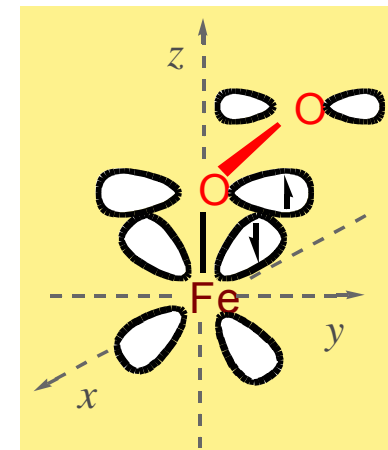
*Hypothèse de Weiss*  
Fe(III)  $d^5$  bas spin + ligand  $O_2^{\cdot-}$  (superoxo)  
Avec couplage antiferromagnétique



# Orbitales moléculaires du complexe: Semblent prédire un Fe(II)-O<sub>2</sub>



Bloc d  
→ 6 électrons sur Fe



# Spectroscopie raman

Raman  $\nu_{\text{O-O}} = 1105 \text{ cm}^{-1}$

TABLE 2.2

Vibrational and geometrical properties of dioxygen species

Species	$\nu_{\text{O-O}}$ (cm <sup>-1</sup> )	$d_{\text{O-O}}$ (Å)
O <sub>2</sub> <sup>+</sup>	1905	1.12
O <sub>2</sub> (dioxygen)	1580	1.21
O <sub>2</sub> <sup>-</sup> (superoxo)	1097	1.33
O <sub>2</sub> <sup>2-</sup> (peroxo)	802	1.49

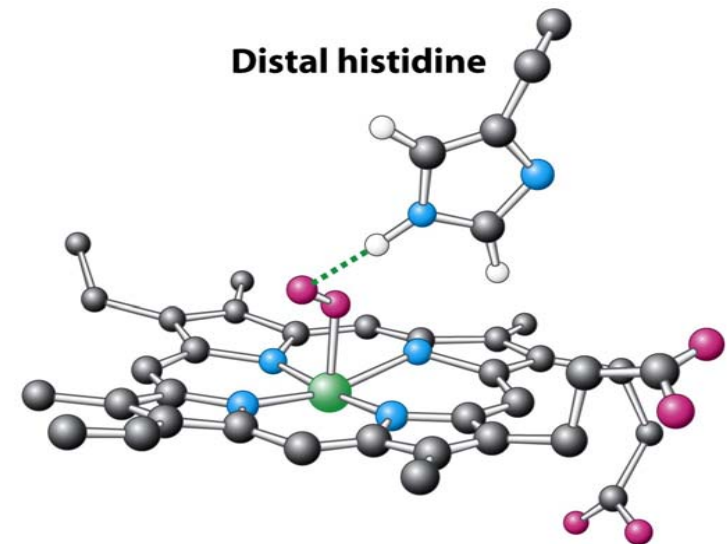
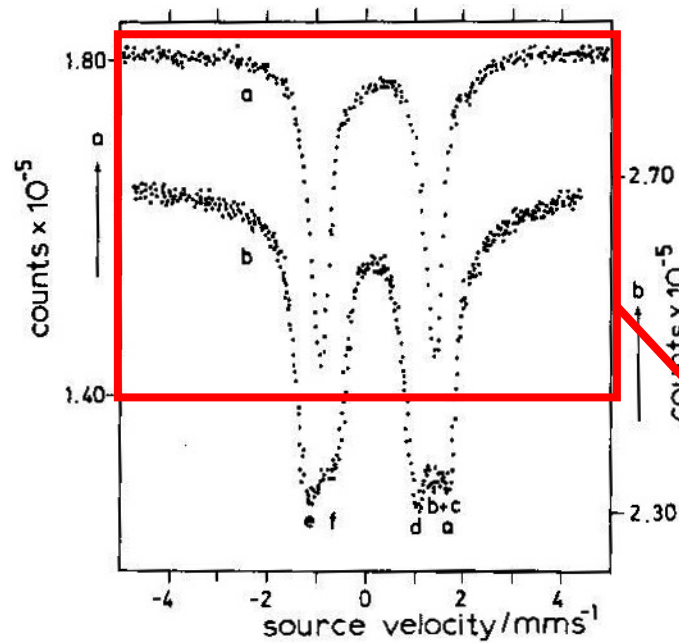


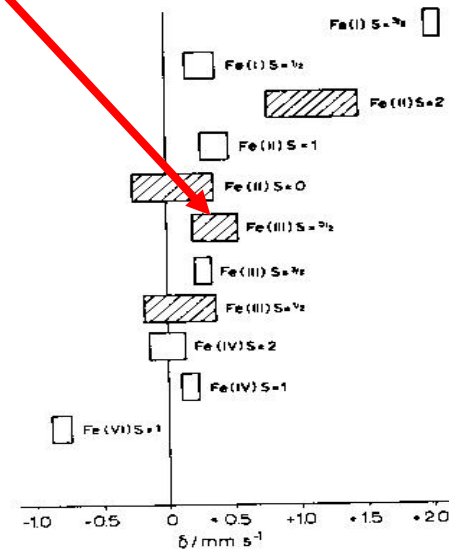
Figure 7-4  
Biochemistry, Sixth Edition  
© 2007 W.H. Freeman and Company

Oxy-Hb semble plutôt Fe(III)O<sub>2</sub><sup>-•</sup>

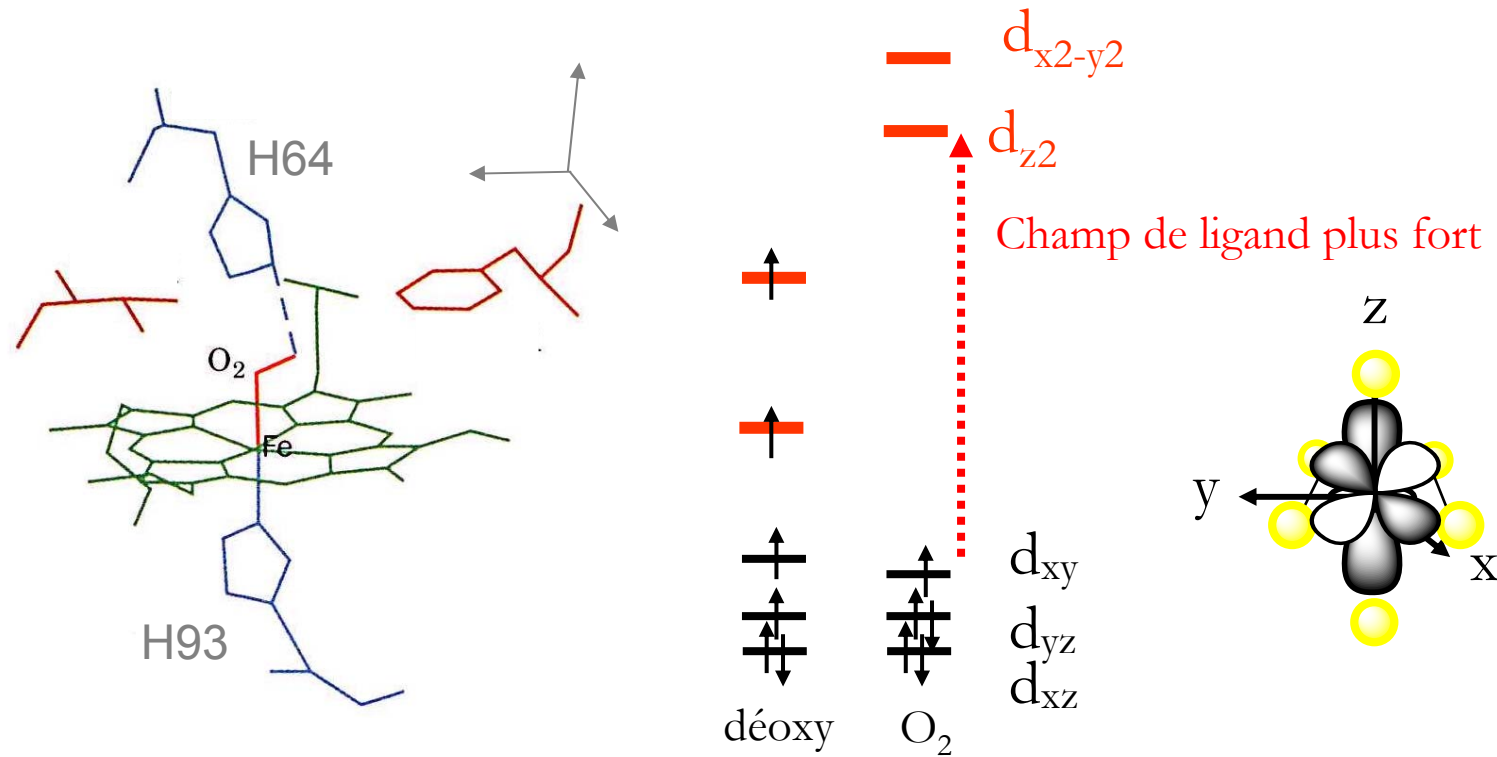
# Spectroscopie Mössbauer



- $\delta \approx 0.5 \text{ mm/s}$
- Espèce diamagnétique  
→ Fe(III) haut spin +  $\text{O}_2^{\bullet-}$



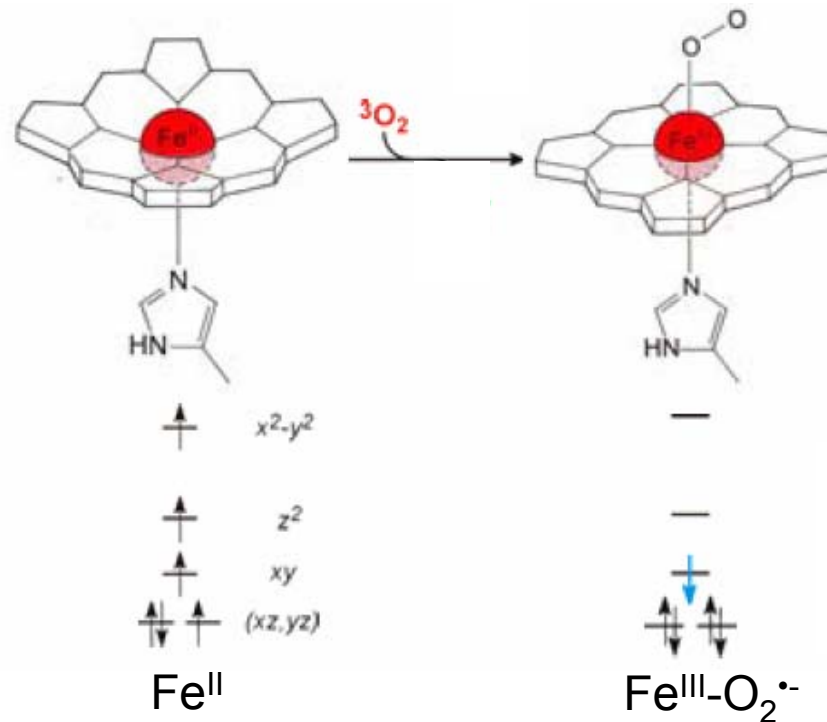
# Géométrie de l'hème en présence d'O<sub>2</sub>



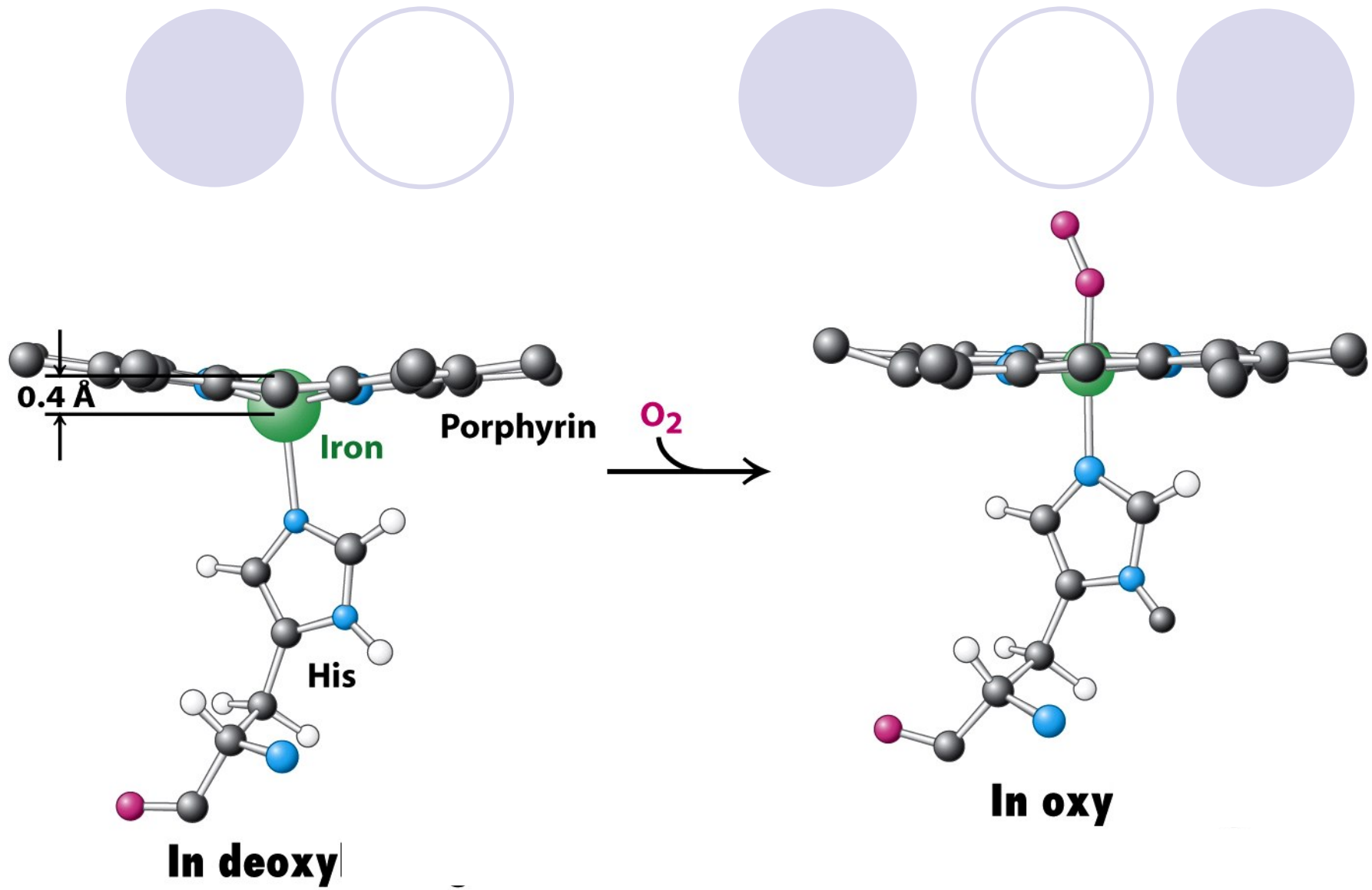
- Distances
  - H93-Fe: 2.1-2.3
  - N<sub>hème</sub>-Fe: 2.0
  - O(O<sub>2</sub>)-Fe: 1.8
- Fer dans le plan de l'hème

# Changements induits autour du métal

- Le métal hors du plan de l'hème dans la forme déoxy passe dans le plan en présence d'O<sub>2</sub>

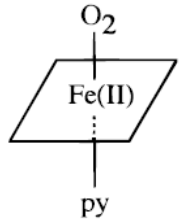
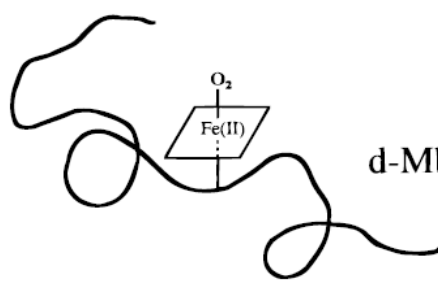
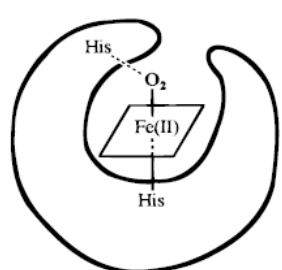




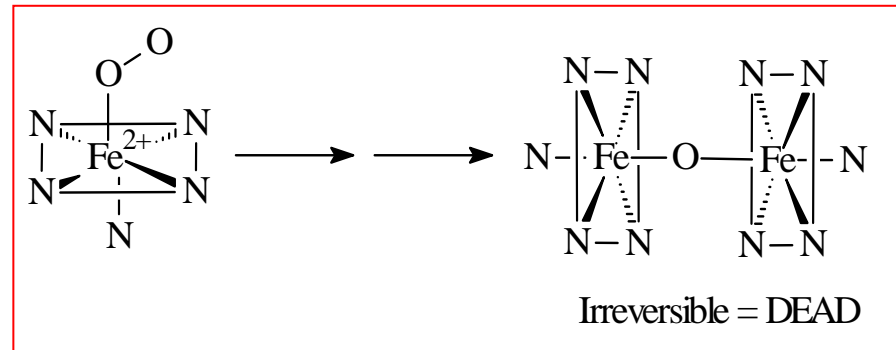
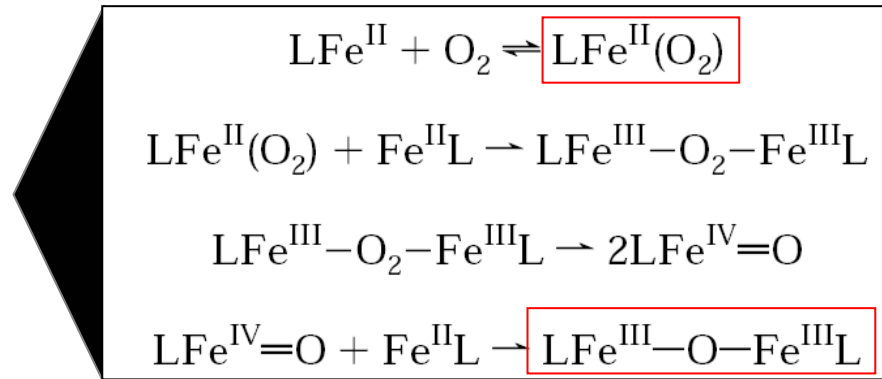


**Figure 7-2**  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W. H. Freeman and Company

# d) Réactivité des hèmes (autoxydation)

		<i>Autoxydation</i>	
		$k$ (sec <sup>-1</sup> )	$t_{1/2}$
 <p>oxyheme</p>	> 1	< 1 sec	
 <p>d-MbO<sub>2</sub></p>	10 <sup>-3</sup>	15 min	
 <p>MbO<sub>2</sub></p>	10 <sup>-6</sup>	8 days	

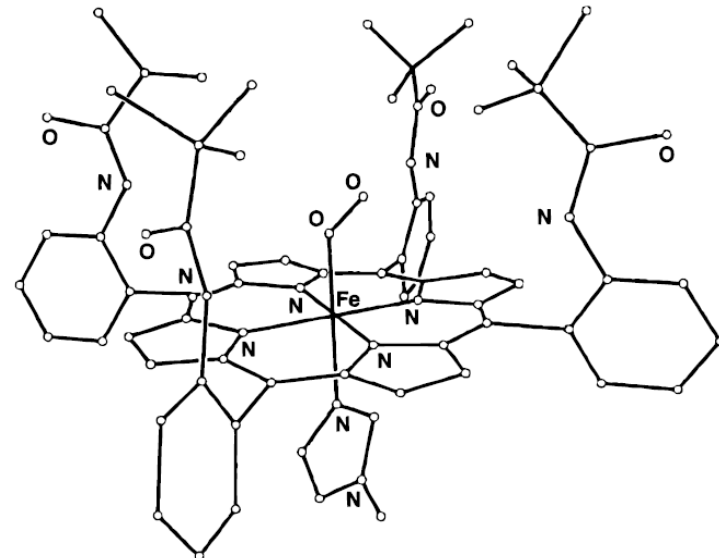
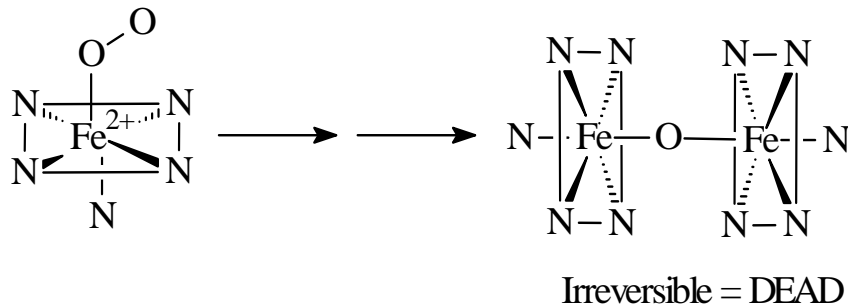
pH 8.5, 25 °C



●  $E^\circ(\text{Fe}^{\text{II}}\text{-Mb} / \text{Fe}^{\text{III}}\text{-Mb}) = +0.05 \text{ V} \text{ !!!!}$

# Effet de la fixation de O<sub>2</sub>: Oxydation ?

- Hèmes isolés en solution: Fixation réversible d'O<sub>2</sub> avec formation de complexes di-Fe(III) avec O<sup>2-</sup> pontant.
- Hème encombrés isolés en solution: Fixation réversible d'O<sub>2</sub>
- Les chaînes polypeptidiques de Mb créent un environnement hydrophobe et encombré: Fixation réversible d'O<sub>2</sub>



# Dégradation oxydative physiologique de l'hémoglobine (structure assez similaire à Mb Cf suite)

- En conditions physiologiques 3% de Hb-Fe<sup>2+</sup> / jour s'oxyde en Hb-Fe<sup>3+</sup> (forme metHb).
- Le cytochrome b5 réductase sert à réduire metHb en Hb.

## e) Fixation de CO (poison qui déplace O<sub>2</sub>)

- Hème isolé:

Affinité pour CO 25 000 fois supérieure à celle de O<sub>2</sub>

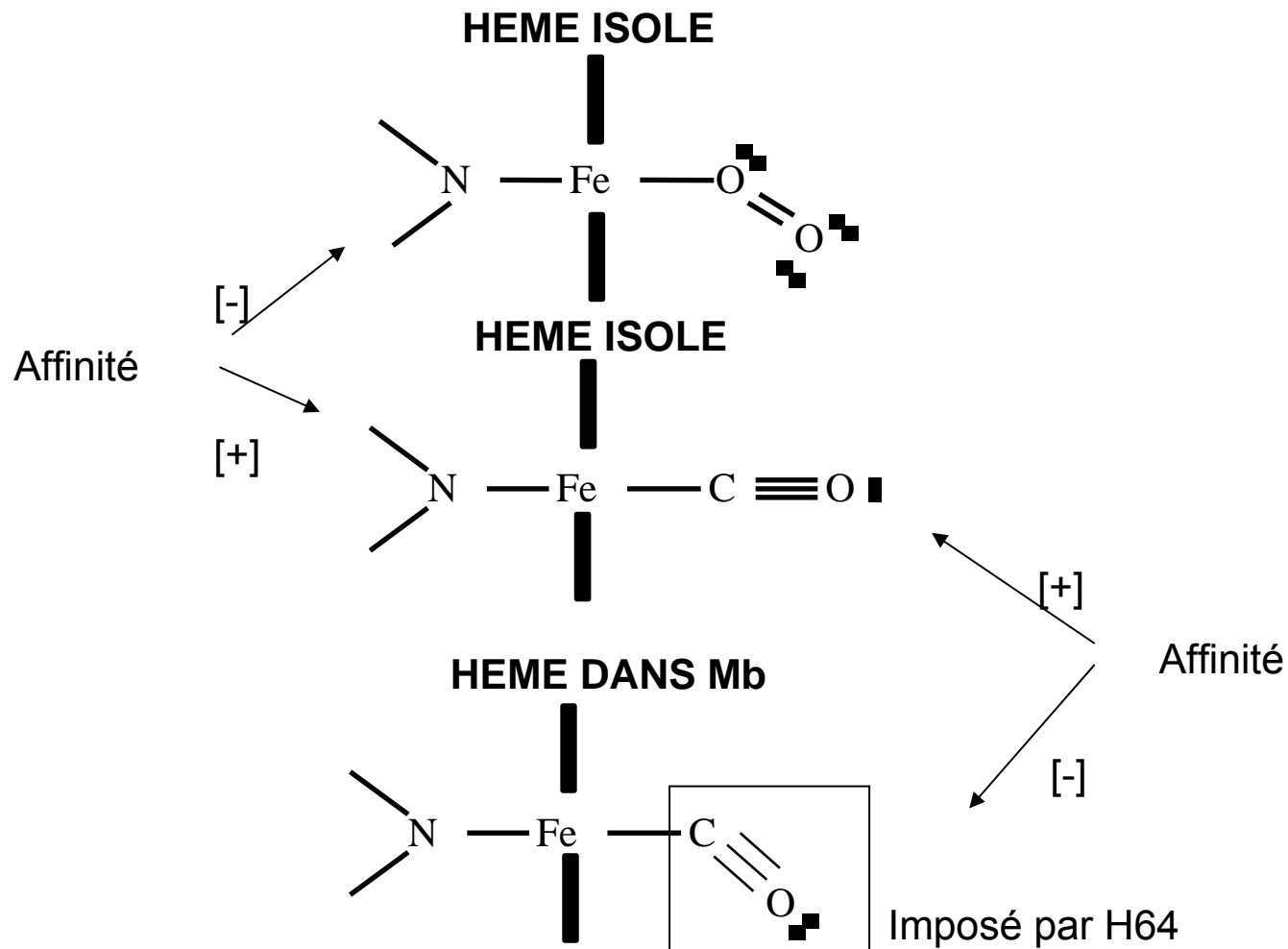
- Myoglobine (et hémoglobine):

- CO produit naturellement dans le corps occupe 1% Hb

- Hb sans His distale, CO > 99% Hb

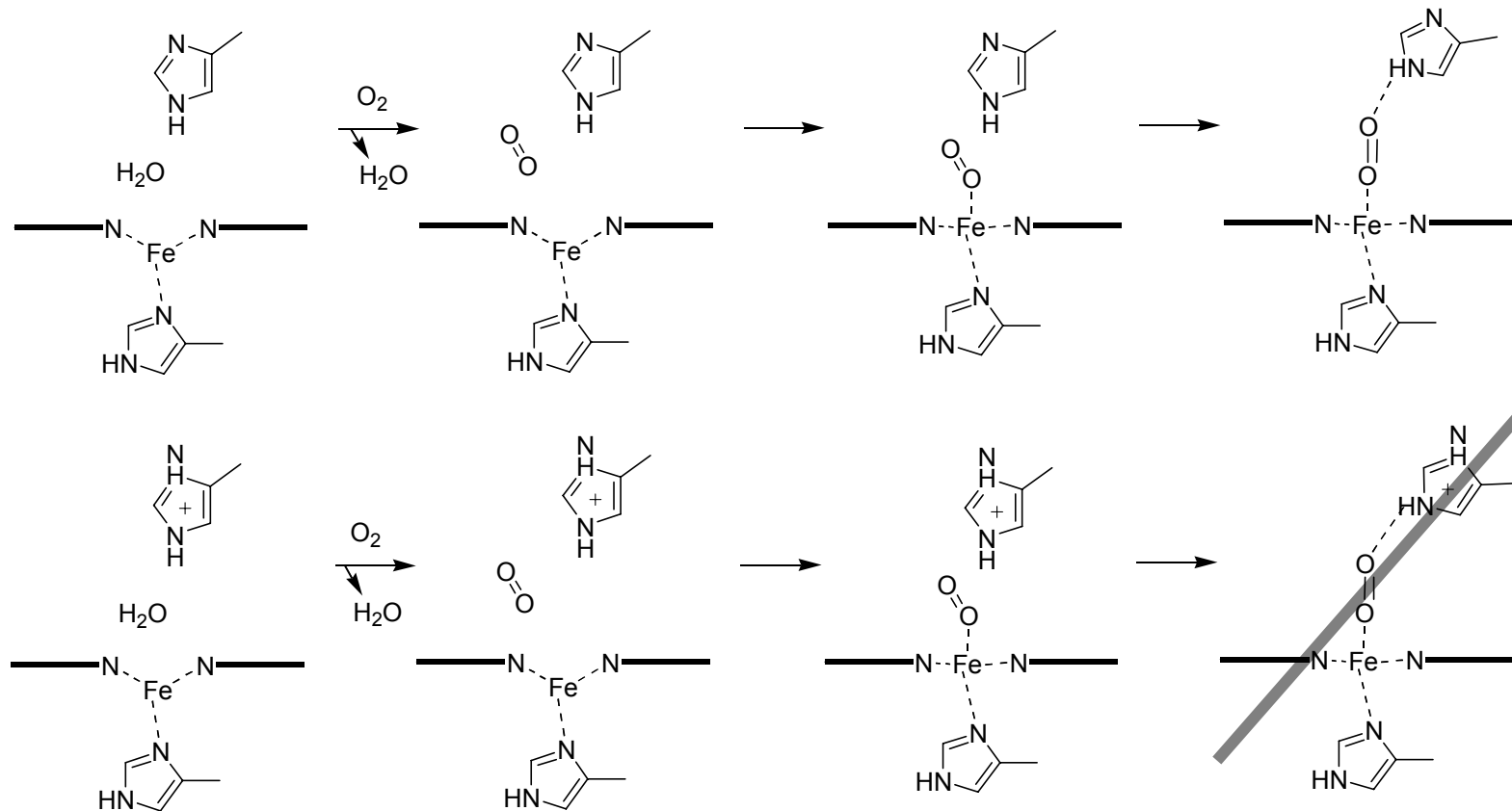
- Affinité pour CO dans Hb seulement 200 fois supérieure à celle de O<sub>2</sub>

- Explication: CO préfère une coordination linéaire, O<sub>2</sub> préfère une coordination coudée



# Effet du pH sur la stabilité de l'adduit avec O<sub>2</sub>

- Protonation d'H distale: Déstabilisation de l'adduit avec O<sub>2</sub>



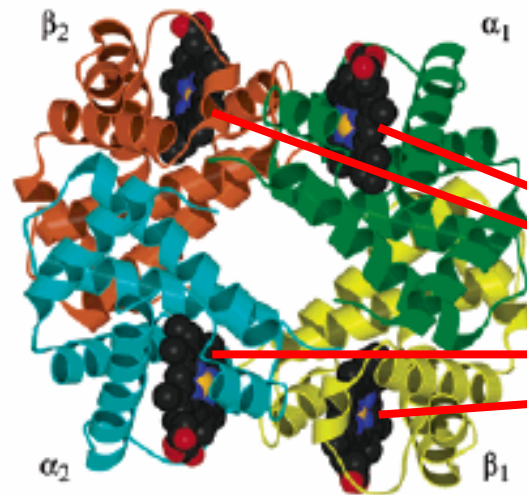
# V. Hémoglobine



- A cause de sa couleur rouge, l'hémoglobine a été un pigment très étudié depuis l'antiquité.
- **Première protéine cristallisée (1849).**
- **Première protéine à avoir sa masse moléculaire déterminée.**
- **Première protéine associée à un rôle physiologique.**
- **Première protéine dont la structure RX a été résolue.**

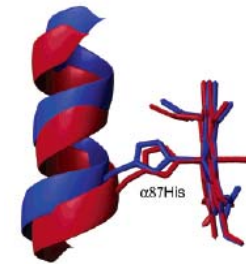


# V.1 Structure



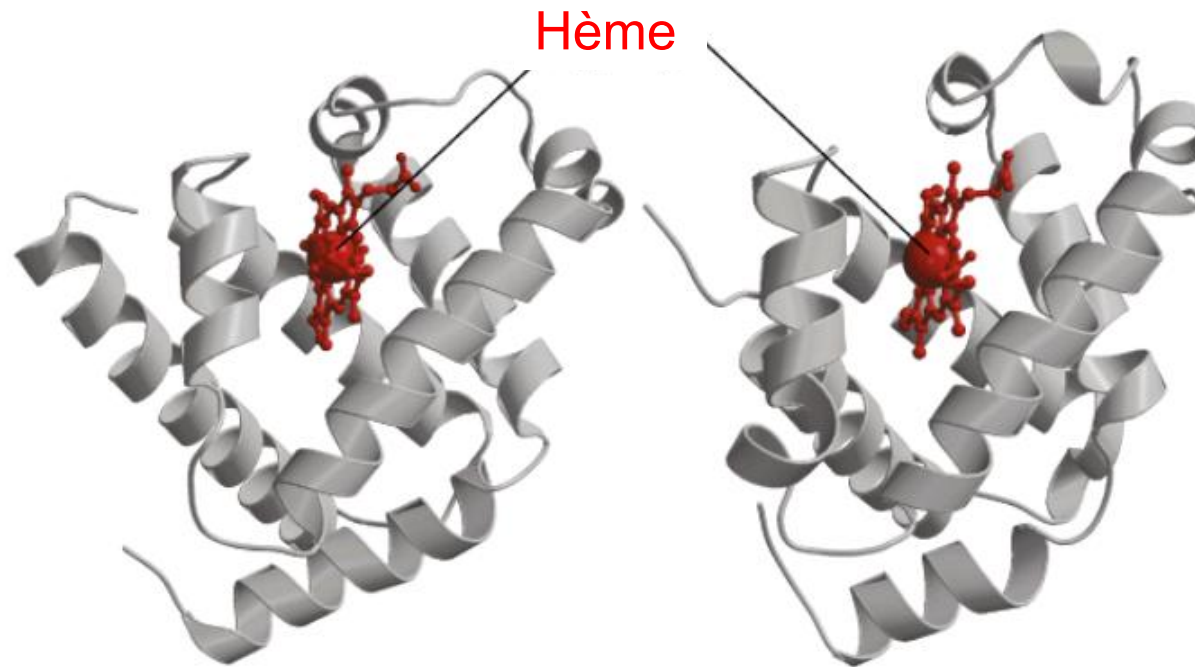
Hème:

Bleu = déoxyHb, rouge = CO-Hb



- Structure type  $\alpha_2\beta_2$
- 4 sous unités  $\approx$  4 myoglobines soit 4 hèmes qui fixent une mole de  $O_2$  chacun
- 1 Sous-unité = Plusieurs hélices qui entourent et fixent un hème

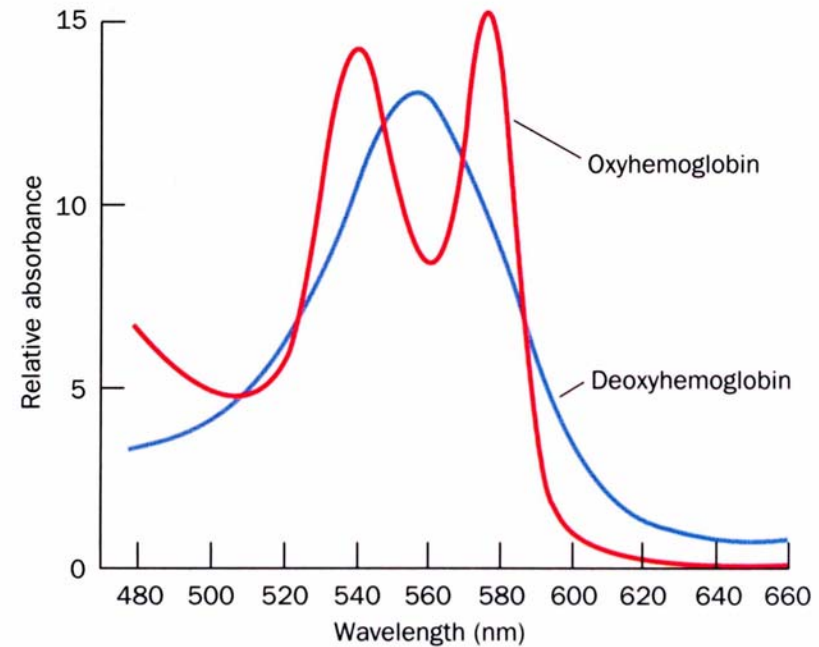
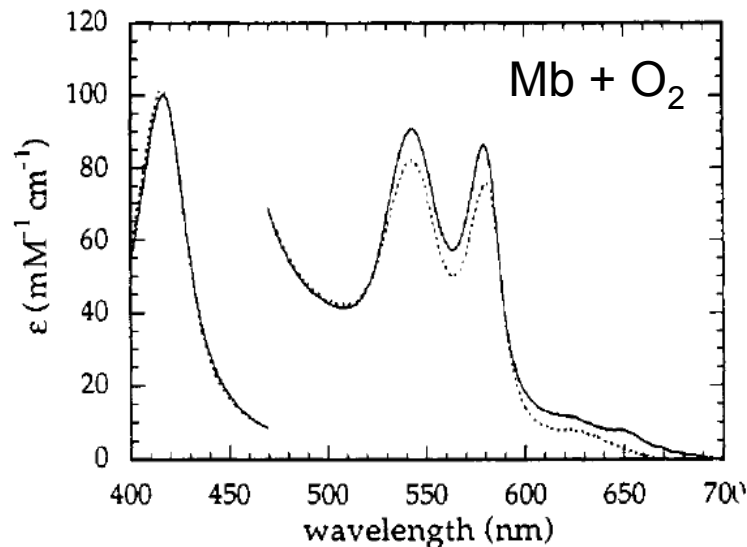
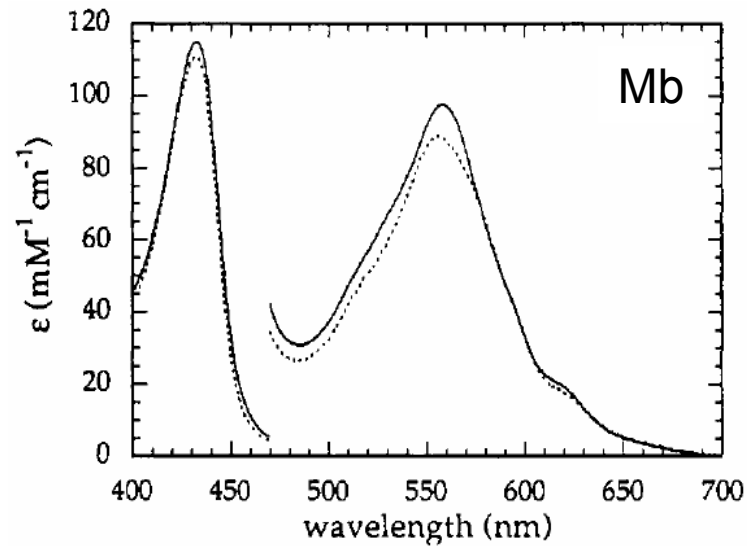
# Analogie structurale Mb – sous-unité de Hb



Myoglobine

Sous unité  $\beta$  de l'Hémoglobine

# Mode de fixation de O<sub>2</sub> similaire à Mb: non détaillé



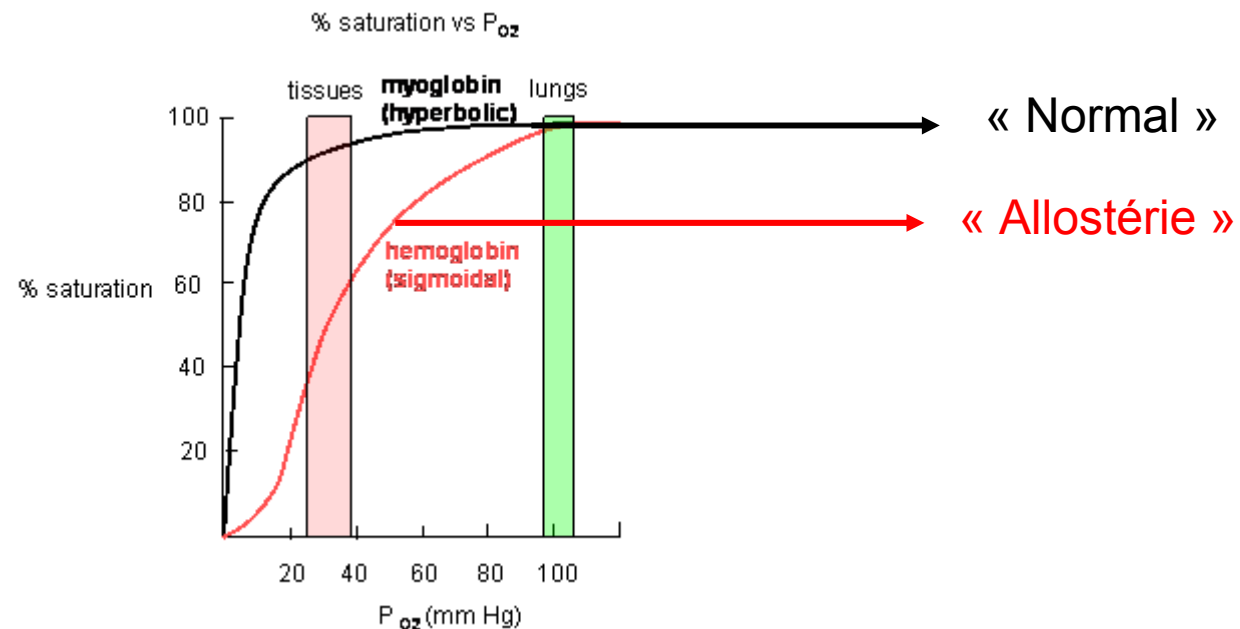
## V.2 Affinité comparée pour O<sub>2</sub>

- % saturation en fonction de pO<sub>2</sub> :

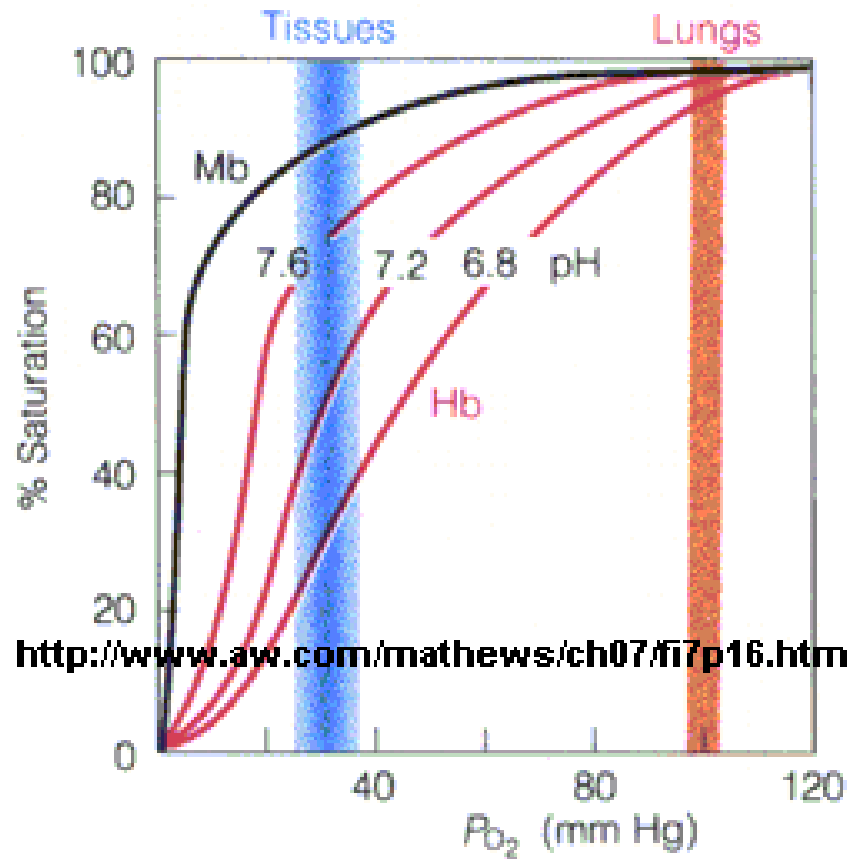
- Hyperbole pour Mb

- Sigmoide pour Hb

→ Effet **coopératif** de la fixation de O<sub>2</sub> sur Hb  
(fixation du premier facilite fixation du second)

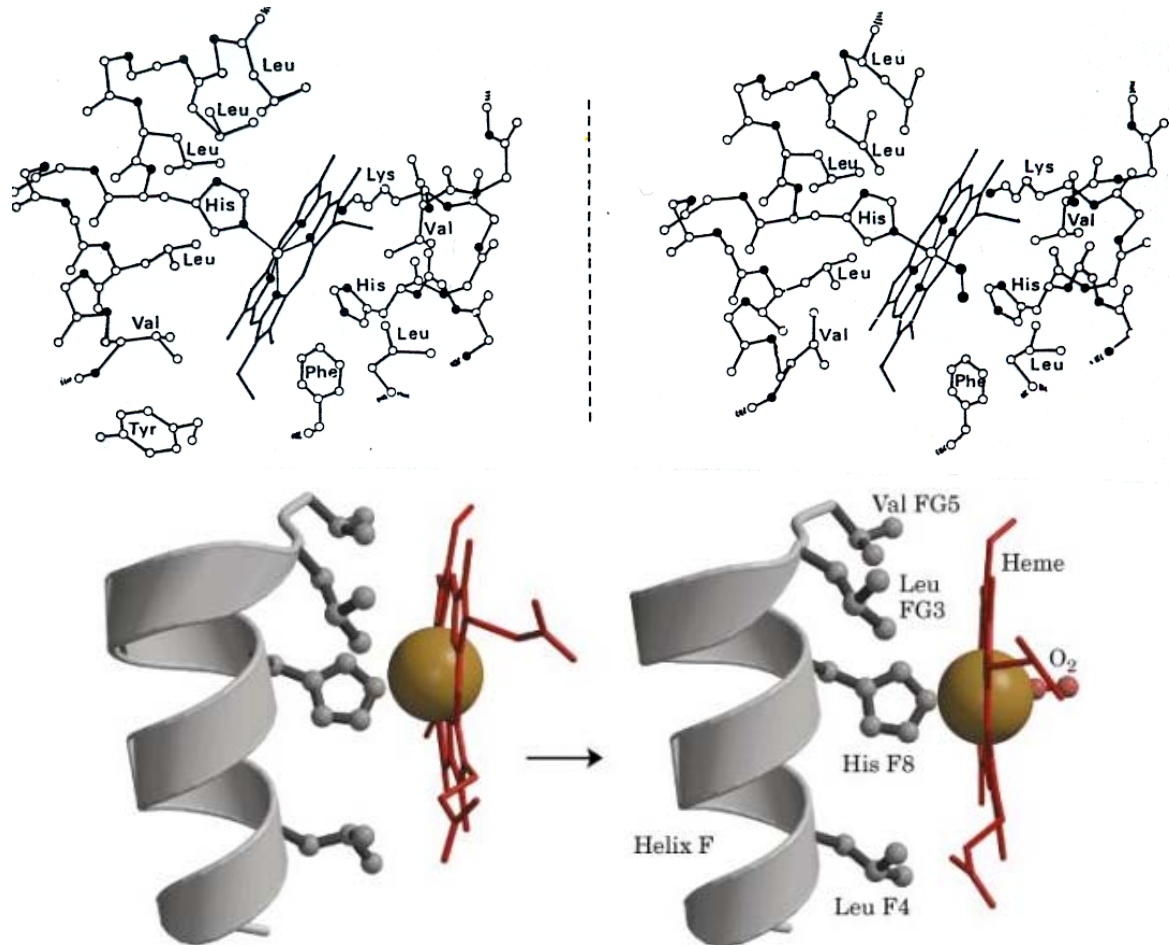


Comme pour Mb, l'affinité de Hb pour  $O_2$  varie avec le pH: Effet **Bohr**

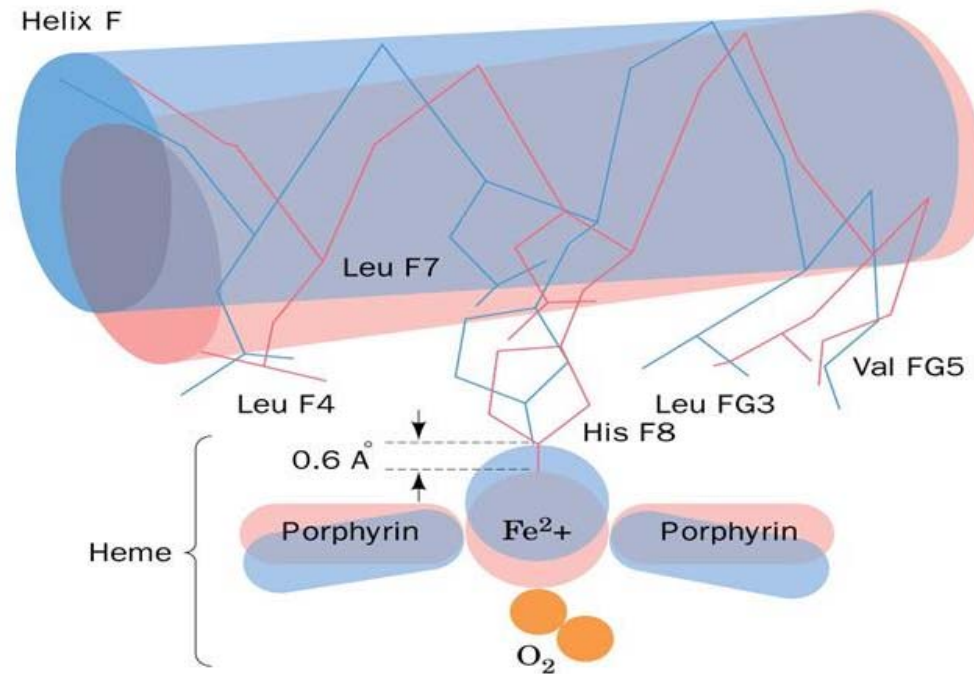


## V.3 Allostérie

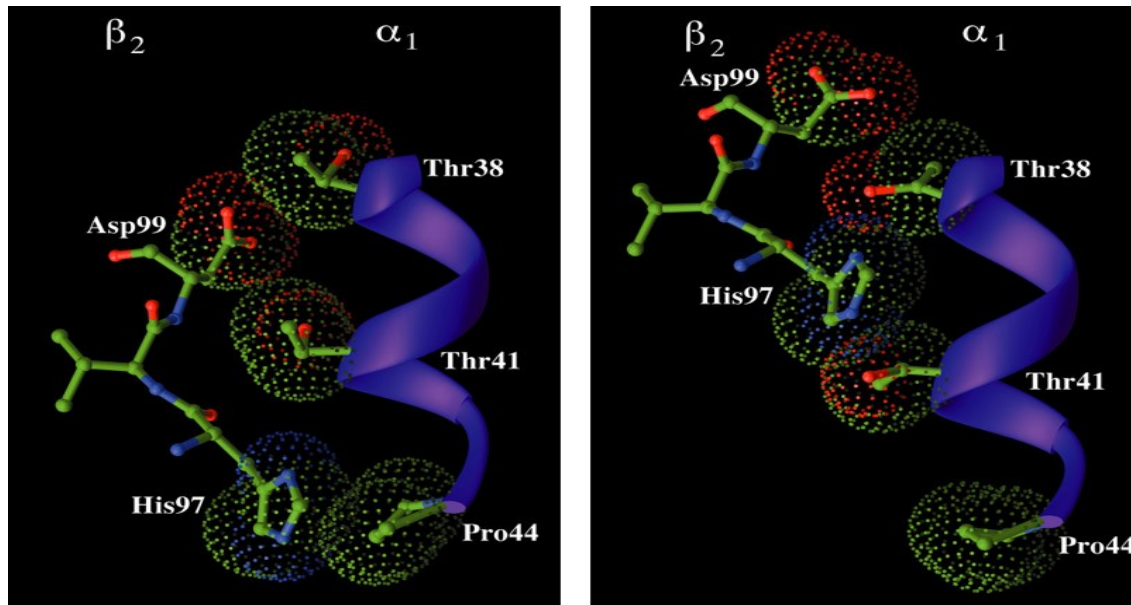
Etape 1: Mouvement du Fe dans le plan de l'hème lors de la fixation de O<sub>2</sub> (Cf Mb)



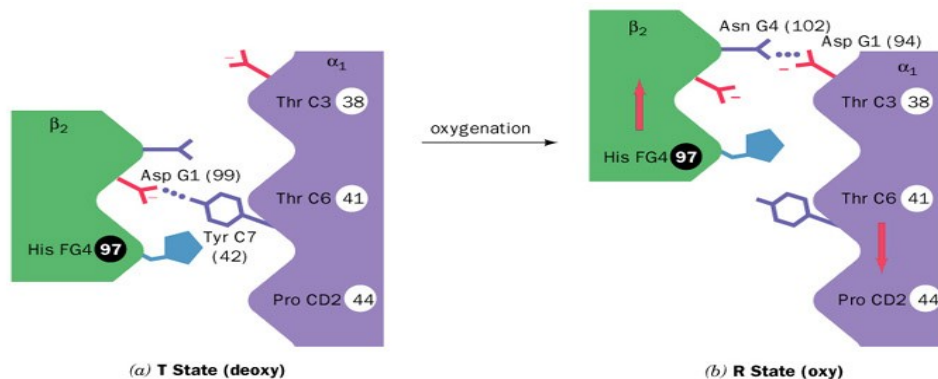
Etape 2: Mouvement du Fe tire l'His proximale qui induit un mouvement de l'hélice F



# Etape 3: Réarrangement dans les liaisons hydrogènes et pont salins entre hélices

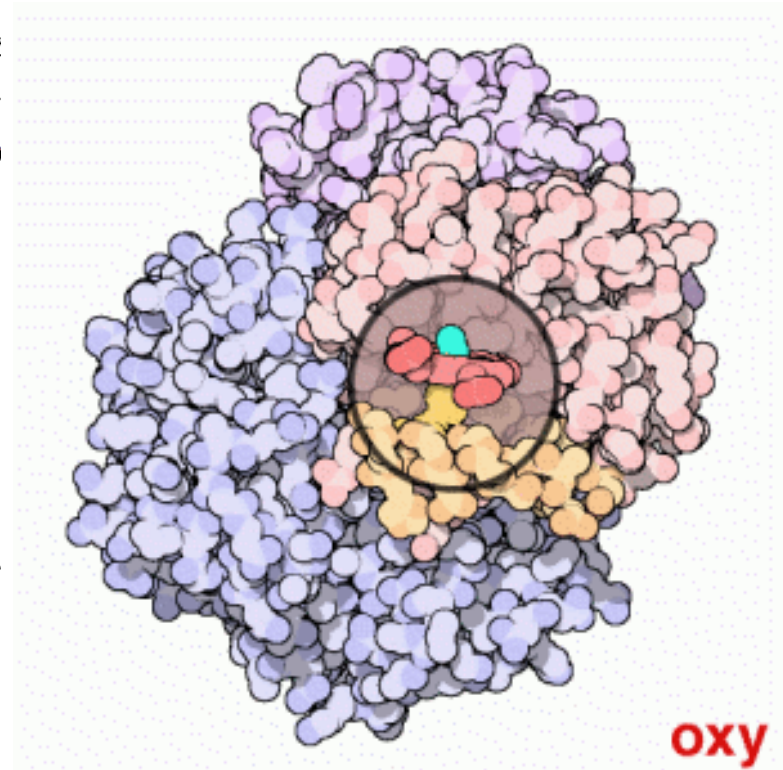
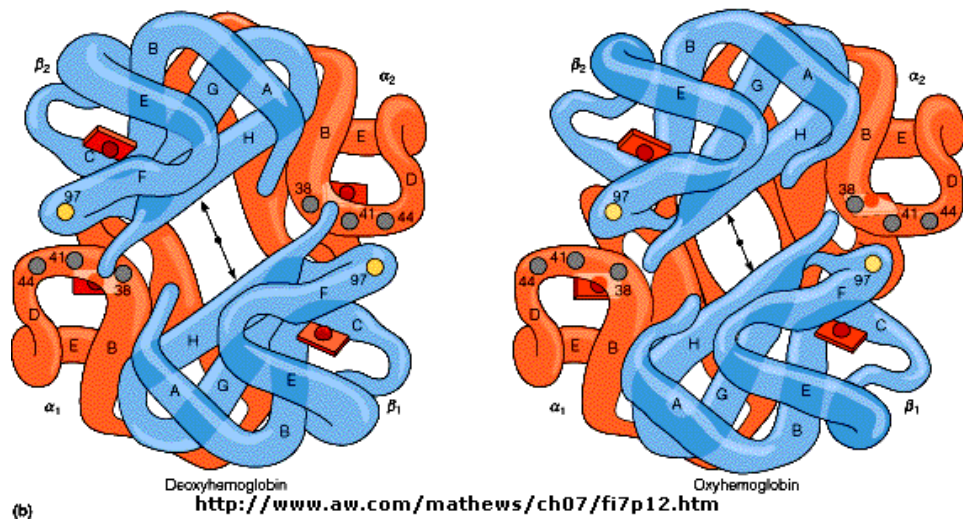
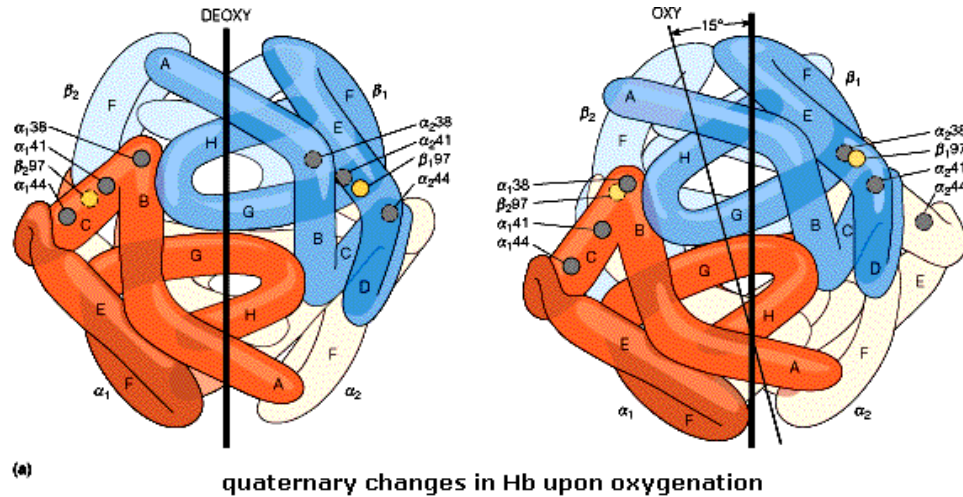


- Forme déoxy stabilisée par 8 ponts salins (6 des ponts sont entre sous unités différentes)
- Les ponts salins se cassent lors de la transition vers la forme oxy.





# Etape 4: Réarrangement important de la structure quaternaire



Etape 5: Affinité pour la molécule de  $O_2$  suivante va augmenter  $\rightarrow$  Effet coopératif de la fixation de  $O_2$

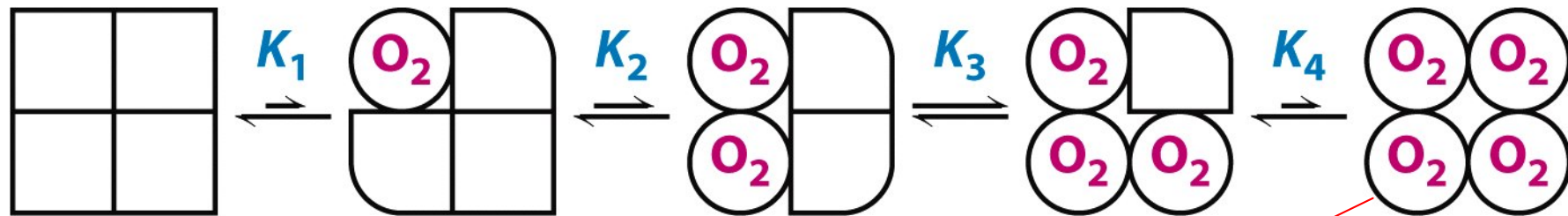
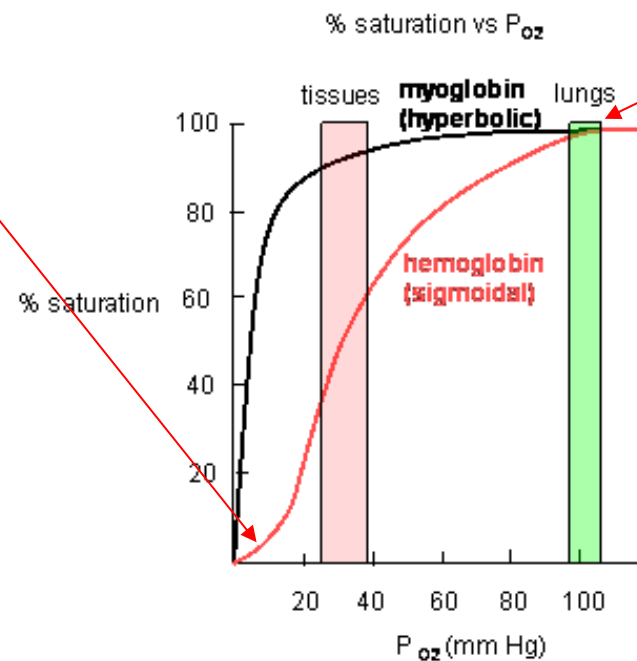
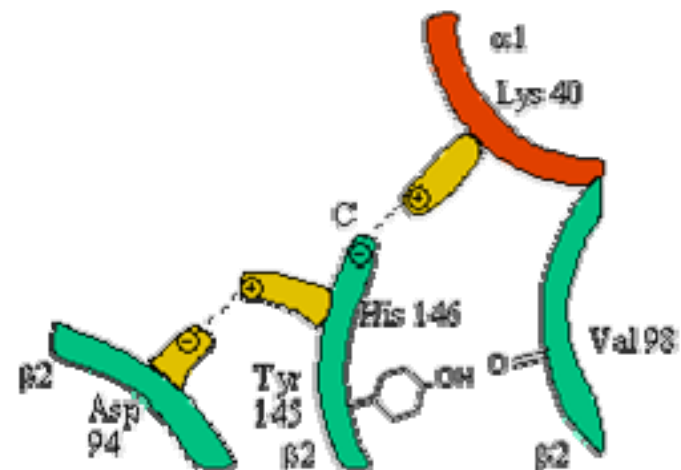
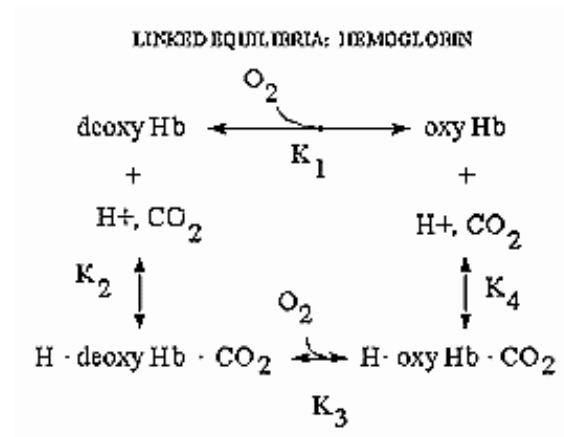


Figure 7-13  
*Biochemistry, Sixth Edition*  
© 2007 W.H. Freeman and Company



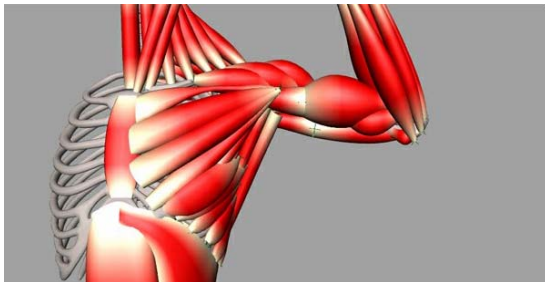
# V.4 Affinité réduite de O<sub>2</sub>

- Par fixation covalente de CO<sub>2</sub> sur l'azote N terminal (formation d'un carbamate NHCO<sub>2</sub><sup>-</sup>)
- Par diminution du pH: Protonation d'His 146 qui forme un pont salin avec Asp 94: changement conformationnel



# Raisons physiologiques

- Grandes concentrations de  $\text{CO}_2$  lors de la glycolyse (cycle de Krebs, muscles).
- Lorsque  $\text{CO}_2$  augmente,  $\text{H}^+$  augmente aussi ( $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$ ).
- OxyHb: libère  $\text{O}_2$  dans les muscles lors d'un effort pour la glycolyse (fortes  $[\text{CO}_2]$  et  $[\text{H}^+]$ ).
- DeoxyHb: fixe  $\text{CO}_2$  et les  $\text{H}^+$  dans les tissus (musculaires).



Sang  $\rightarrow$   $\text{O}_2$   $\rightarrow$  Glycolyse  $\rightarrow$   $\text{CO}_2$   $\rightarrow$   $\text{H}^+$  +  $\text{HCO}_3^-$

# Rôles physiologiques différents

- Affinité de O<sub>2</sub> pour:

Hb <> Mb > Cyt ← Utilisent O<sub>2</sub> pour la respiration oxydative

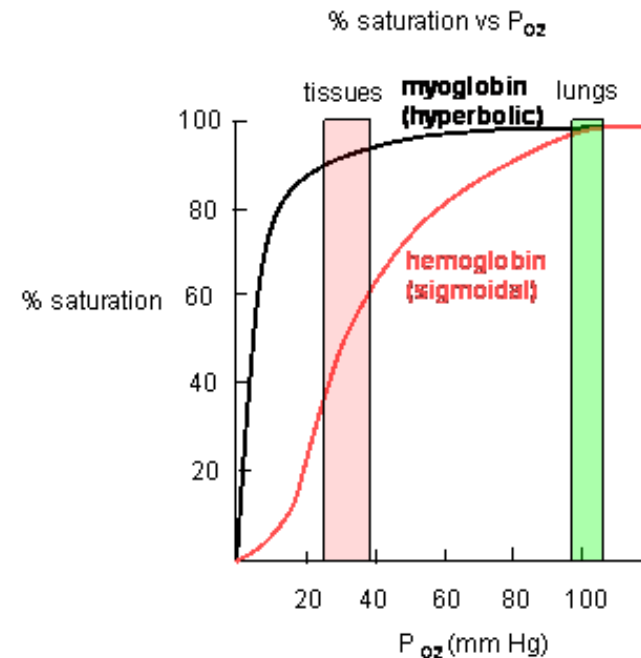
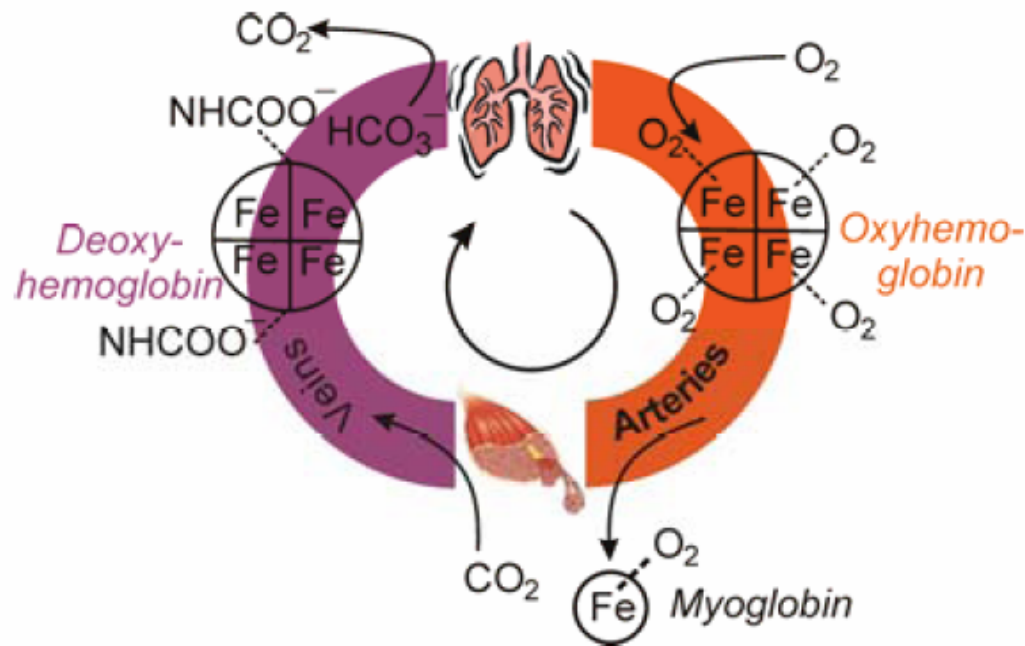
↑  
 ↑  
 Stocke O<sub>2</sub> dans les muscles et le rend disponible  
 immédiatement lors de sollicitations musculaires

Transporte O<sub>2</sub> dans le sang et l'amène aux muscles

	$P_{1/2}^{O_2}$ (Torr)	$P_{1/2}^{CO}$ (Torr)	$M$ ( $P_{1/2}^{O_2}/P_{1/2}^{CO}$ )	
Proteins				
Affinité Hb < Mb →	{ Hb (T-State) a <sup>a</sup> Hb (T-State) b <sup>a</sup>	{ 40 140	{ 0.3 0.3	{ 135 460 } Faible [O <sub>2</sub> ], muscle
Affinité Hb > Mb →	Hb (R-State) <sup>a</sup> Mb <sup>a</sup> Ascaris <sup>b</sup>	0.22 0.37-1 0.002	1.4 × 10 <sup>-3</sup> 0.014-0.025 0.1	150 ← Forte [O <sub>2</sub> ], poumon 20-40 0.02

$M = P_{1/2}^{O_2}/P_{1/2}^{CO}$ , where  $P_{1/2}$  is the partial pressure of O<sub>2</sub> or CO at half-saturation.

# Tandem Hémoglobine-myoglobine



- **Hémoglobine:** transporte  $\text{O}_2$  dans le sang et ajuste son affinité par effet allostérique. Forte affinité quand  $\text{O}_2$  en excès (fixe  $\text{O}_2$  dans le poumon), affinité plus faible en présence de  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}^+$  (libère  $\text{O}_2$  aux muscles).

- **Myoglobine:** Pas d'effet allostérique. Stocke  $\text{O}_2$  dans les muscles pour permettre de fortes augmentations de métabolisme très rapides (à une vitesse supérieure à celle permise par le transport d'oxygène par voie sanguine)

## V.5 Comparaison Hb - Mb



- Structures tri-dimensionnelles des chaînes  $\alpha$  et  $\beta$  similaires à la Mb malgré que seuls 24 des 141 résidus soient identiques.
- Structure tri-dimensionnelle commune à tous les vertébrés pour les transporteurs de  $O_2$ .
- Tous les changements « internes » sont conservatifs (e.g. un amino-acide polaire en un autre polaire).
- Les 2 His du site actif sont conservées

# Aspect « évolution »



- Mb: Transporteur de O<sub>2</sub> initial
- Oligomérisation → Hb
- Acquisition de propriétés allostériques  
(fixation d'un O<sub>2</sub> facilite la fixation du 2<sup>eme</sup>  
...etc)
- Meilleure efficacité pour le transport de O<sub>2</sub>