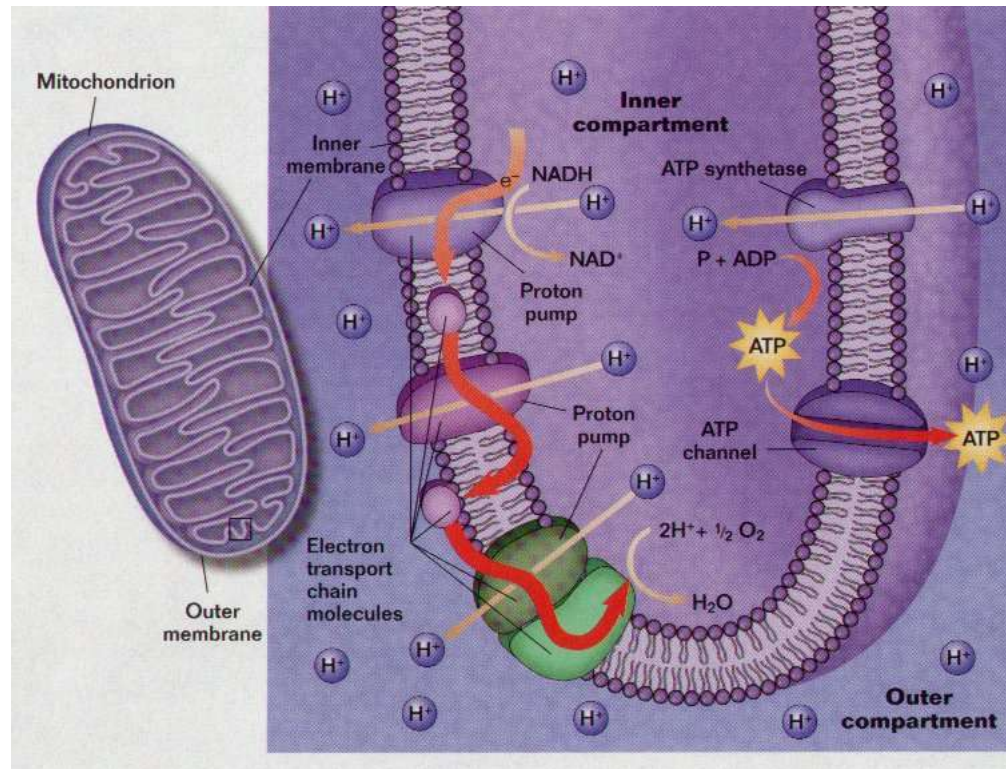
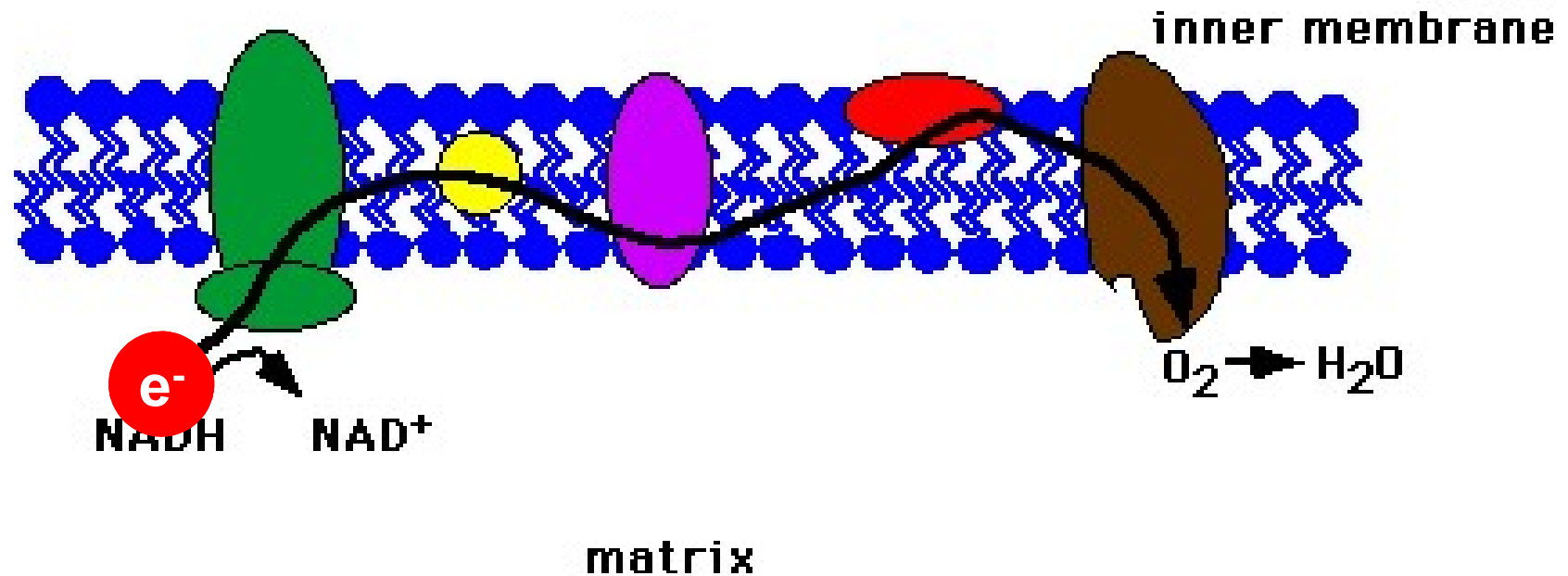


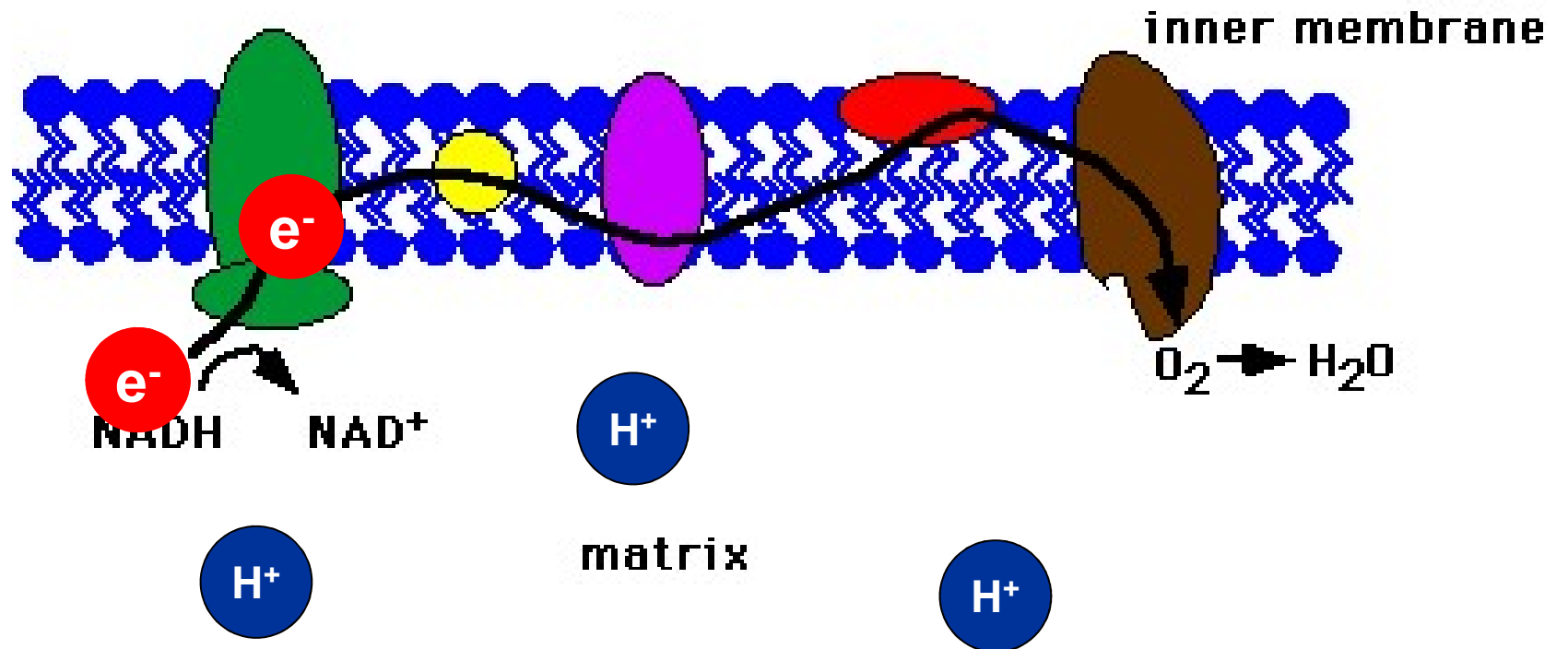
Catena di trasporto degli elettroni (catena respiratoria) e Fosforilazione ossidativa



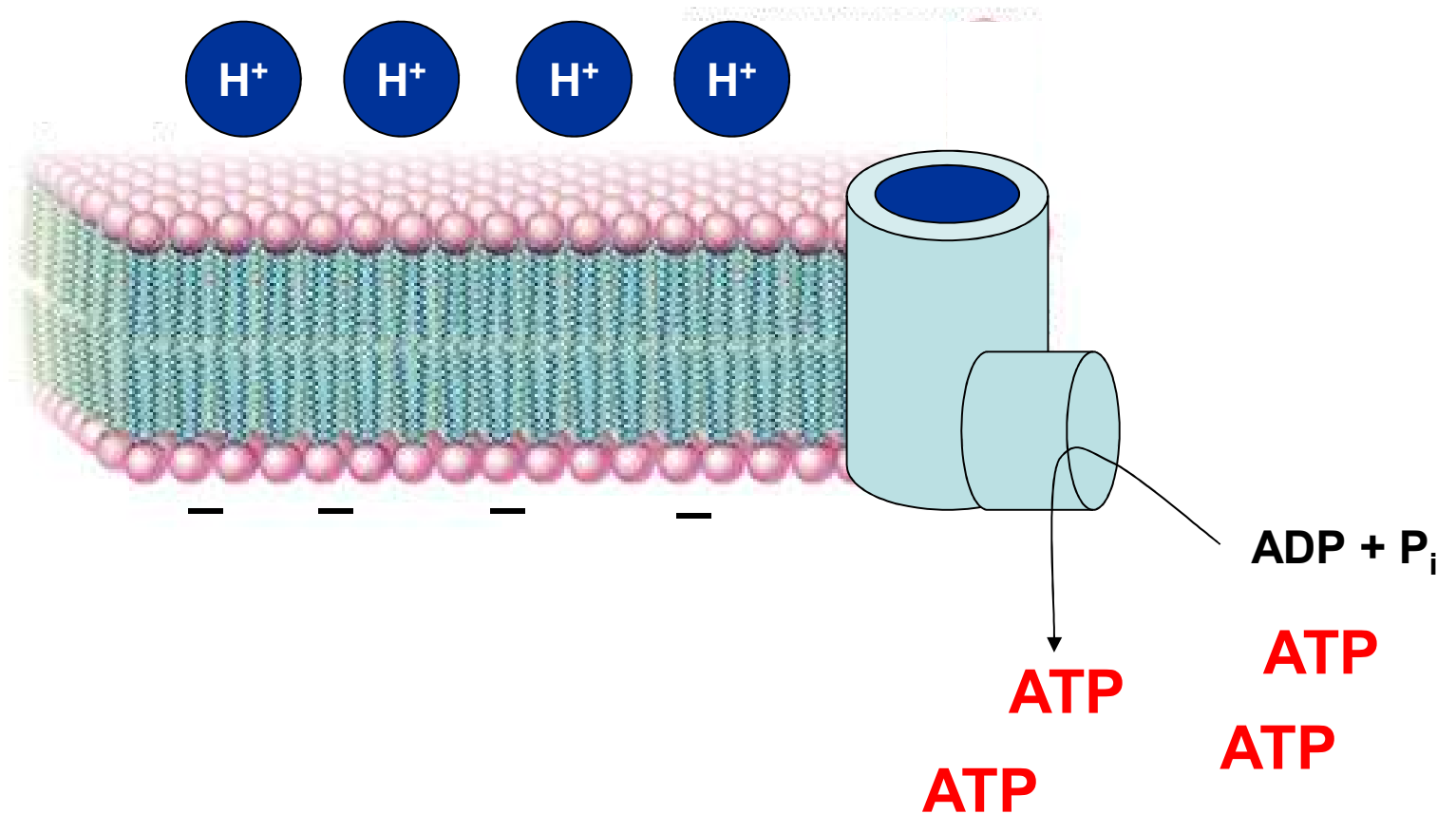
- NADH e FADH₂ (accettori universali di e⁻) formati nella glicolisi e nel ciclo di Krebs (e nell'ossidazione degli acidi grassi) trasportano **elettroni con alto potenziale di trasferimento**
- Nella catena respiratoria questi elettroni sono **trasferiti**, mediante una serie di trasportatori proteici, **all'ossigeno**, che è ridotto ad acqua



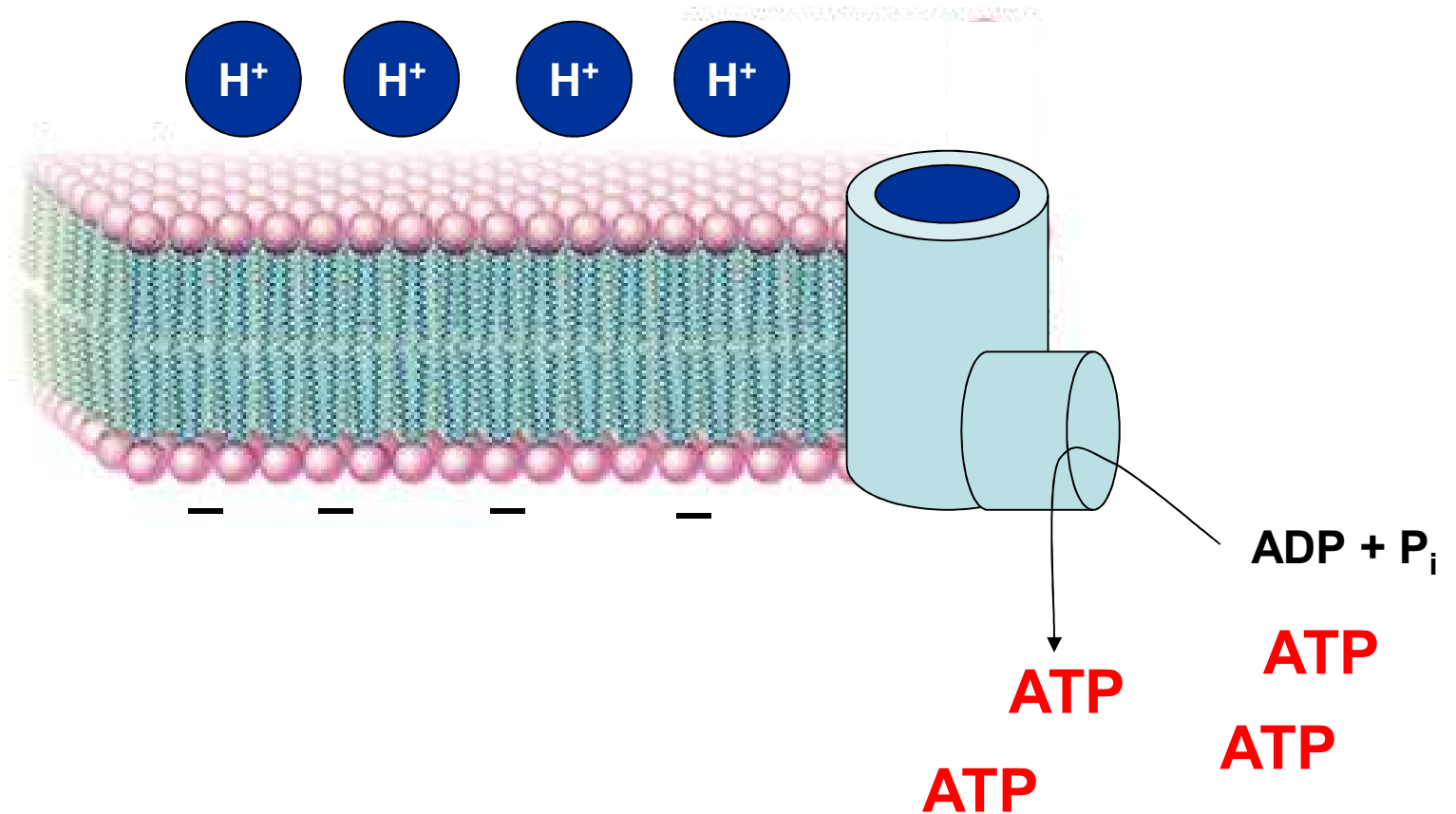
- L'energia liberata in questo processo è usata per **trasportare protoni (H⁺)** attraverso la membrana mitocondriale interna, **generando una differenza di potenziale**



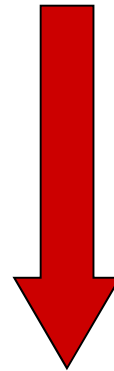
- Questo potenziale, a sua volta, è sfruttato per generare ATP da ADP e Pi (è quindi convertito in un potenziale chimico di fosforilazione)



- Questo potenziale, a sua volta, è sfruttato per generare ATP da ADP e Pi (è quindi convertito in un potenziale chimico di fosforilazione)



- il potenziale di trasferimento di elettroni è quindi trasformato in **potenziale di trasferimento di gruppi fosfato** mediante l'accoppiamento con un **potenziale di membrana**.



La membrana agisce come
SEPARATORE di CARICHE

La presenza di una MEMBRANA è **INDISPENSABILE**

Nelle cellule eucariote ➡ i MITOCONDRI

Nelle cellule procariote (batteri) ?

➡ la membrana plasmatica


Nei globuli rossi dei mammiferi ?

➡ assenza di fosforilazione ossidativa

- il **potenziale di trasferimento di elettroni** (potenziale redox) è trasformato in **potenziale di trasferimento di gruppi fosfato** mediante l'accoppiamento con un **potenziale di membrana**.

Definizione:

Il potenziale di trasferimento del fosfato γ dell'ATP è dato dall'energia libera ($\Delta G'^{\circ}$) che si ottiene dalla sua idrolisi.

Idrolisi ESOERGONICA (-30,5 kJ/mole)  **alto potenziale di trasferimento**

Come definiamo il potenziale di trasferimento degli elettroni?

POTENZIALE di RIDUZIONE

Quantifica la tendenza di una specie chimica ad essere ridotta o ossidata

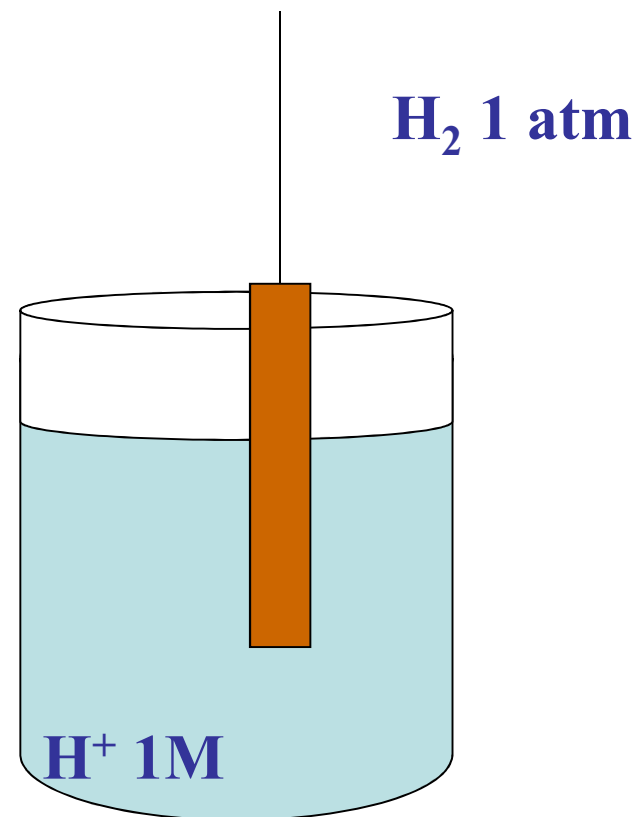
Elettrodo di riferimento:

è utilizzato per misurare la tendenza riducente o ossidante di ciascuna coppia redox nei confronti di questo elettrodo standard.

Riduzione dello ione idrogeno a idrogeno gassoso



Si attribuisce un voltaggio (E) = 0

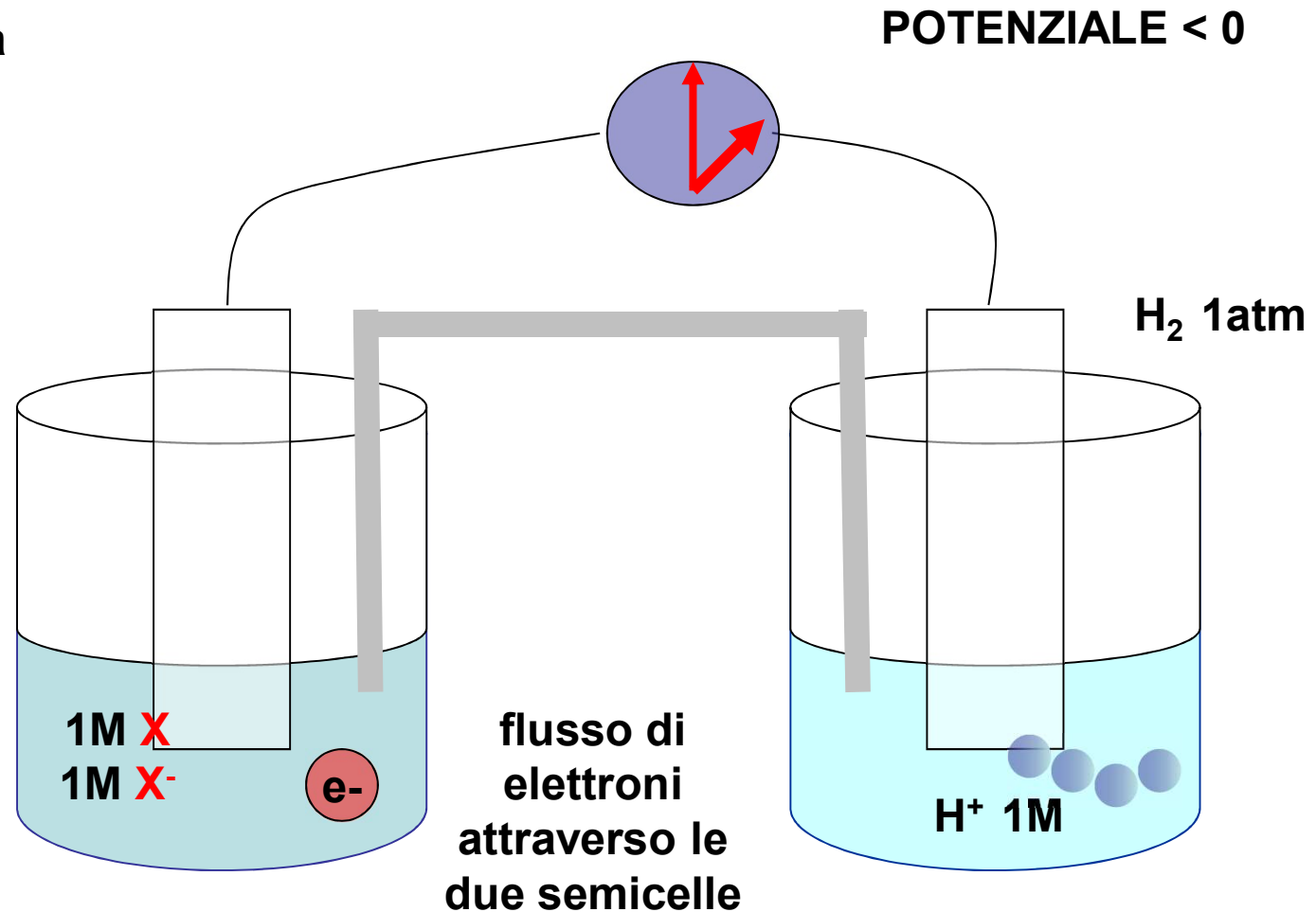


Misura del potenziale di riduzione di una specie chimica X

Coppia redox:

X = forma ossidata

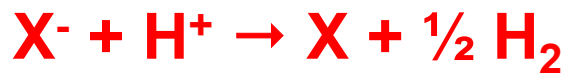
X⁻ = forma ridotta



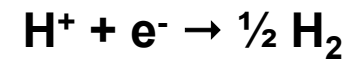
Se la specie X⁻ si ossida



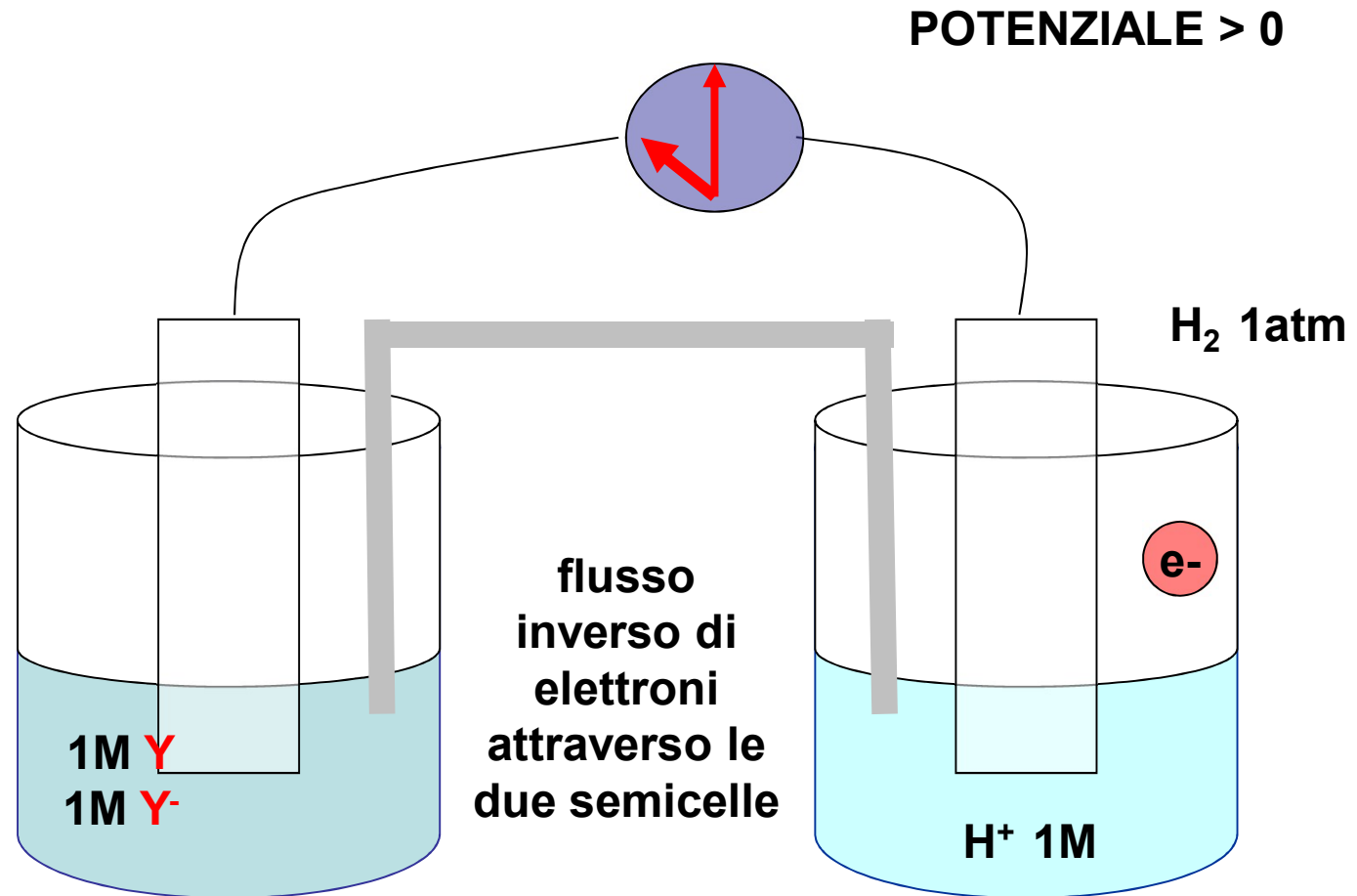
la reazione totale è



Lo ione H⁺ si riduce



Coppia redox:
Y = forma ossidata
Y⁻ = forma ridotta



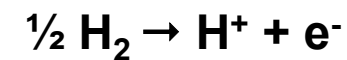
Se la specie **Y** si riduce



la reazione totale è



L' idrogeno molecolare si ossida



Fe(CN)_6^{3-} (ferricyanide) + $e^- \longrightarrow \text{Fe(CN)}_6^{4-}$	0.36
Cytochrome a_3 (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome a_3 (Fe^{2+})	0.35
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.29
Cytochrome a (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome a (Fe^{2+})	0.29
Cytochrome c (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome c (Fe^{2+})	0.29
Cytochrome c_1 (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome c_1 (Fe^{2+})	0.22
Cytochrome b (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome b (Fe^{2+})	0.07
Ubiquinone + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ubiquinol + H_2	0.04
Fumarate $^{2-}$ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ succinate $^{2-}$	0.03
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (at standard conditions, pH 0)	0.00
Crotonyl-CoA + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ butyryl-CoA	-0.01
Oxaloacetate $^{2-}$ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ malate $^{2-}$	-0.16
Pyruvate $^-$ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ lactate $^-$	-0.18
Acetaldehyde + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ethanol	-0.19
FAD + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ FADH $_2$	-0.21
Glutathione + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 reduced glutathione	-0.23
S + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ H $_2$ S	-0.24
Lipoic acid + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ dihydrolipoic acid	-0.29
NAD $^+$ + $\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ NADH	-0.32
NADP $^+$ + $\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ NADPH	-0.32
Acetylacetate + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 reduced butyrate	-0.32

Gli elettroni fluiscono da molecole con un Potenziale di Riduzione minore a molecole con Potenziale di Riduzione maggiore

table 14-7

Standard Reduction Potentials of Some Biologically Important Half-Reactions, at 25 °C and pH 7

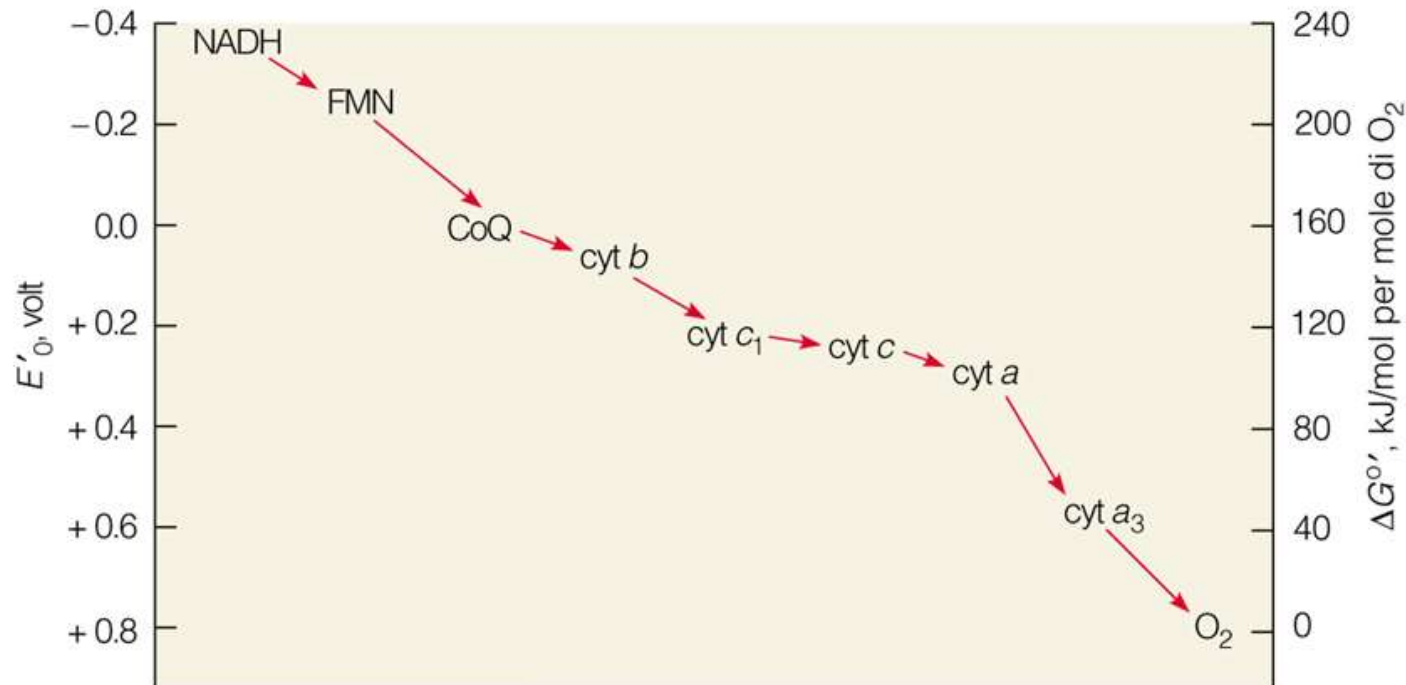
Half-reaction	E'° (V)
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816
$\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$	0.771
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0.421
Cytochrome <i>f</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>f</i> (Fe^{2+})	0.365
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (ferricyanide) + $e^- \longrightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	0.36
Cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>a</i> ₃ (Fe^{2+})	0.35
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.295
Cytochrome <i>a</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>a</i> (Fe^{2+})	0.29
Cytochrome <i>c</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>c</i> (Fe^{2+})	0.254
Cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>c</i> ₁ (Fe^{2+})	0.22
Cytochrome <i>b</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome <i>b</i> (Fe^{2+})	0.077
Ubiquinone + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ubiquinol + H_2	0.045
Fumarate ²⁻ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ succinate ²⁻	0.031
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (at standard conditions, pH 0)	0.000
Crotonyl-CoA + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ butyryl-CoA	-0.015
Oxaloacetate ²⁻ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ malate ²⁻	-0.166
Pyruvate ⁻ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ lactate ⁻	-0.185
Acetaldehyde + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ethanol	-0.197
$\text{FAD} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{FADH}_2$	-0.219*
Glutathione + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 reduced glutathione	-0.23
$\text{S} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{S}$	-0.243
Lipoic acid + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ dihydrolipoic acid	-0.29
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
Acetoacetate + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \beta$ -hydroxybutyrate	-0.346
α -Ketoglutarate + $\text{CO}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ isocitrate	-0.38
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (at pH 7)	-0.414
Ferredoxin (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ ferredoxin (Fe^{2+})	-0.432



Data mostly from Loach, P.A. (1976) In *Handbook of Biochemistry and Molecular Biology*, 3rd edn (Fasman, G.D., ed.), *Physical and Chemical Data*, Vol. 1, pp. 122-130, CRC Press, Boca Raton, FL.

*This is the value for free FAD; FAD bound to a specific flavoprotein (for example succinate dehydrogenase) has a different E'° .

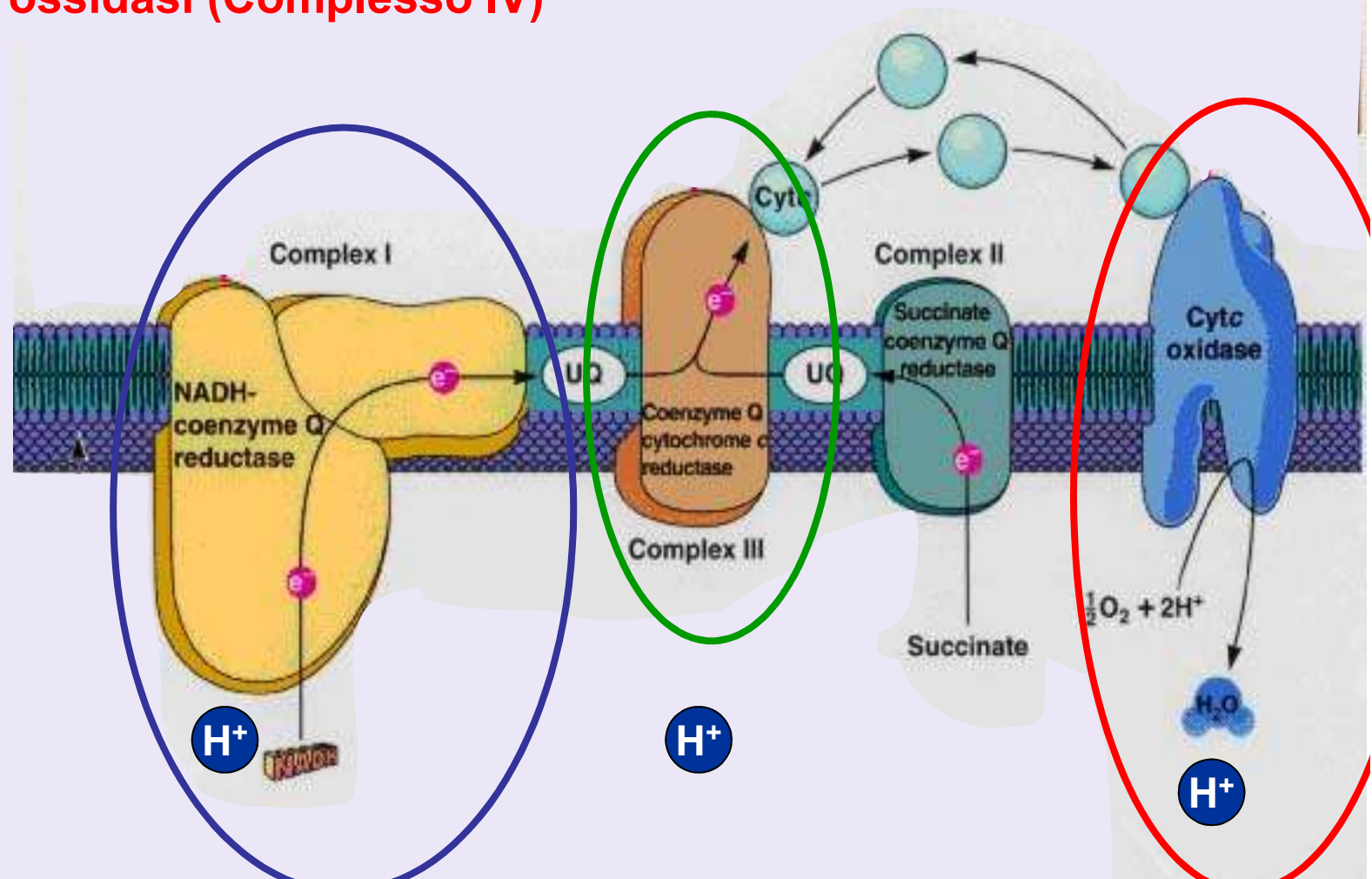
L'architettura degli elementi della catena respiratoria è tale che gli elettroni ceduti da NADH e FADH₂ leghino via via molecole con un potenziale di riduzione più elevato



L'ultimo elemento della catena è l'ossigeno molecolare che ha il potenziale di riduzione maggiore (maggiore tendenza ad acquistare elettroni).

La catena respiratoria è costituita da 3 grandi complessi proteici

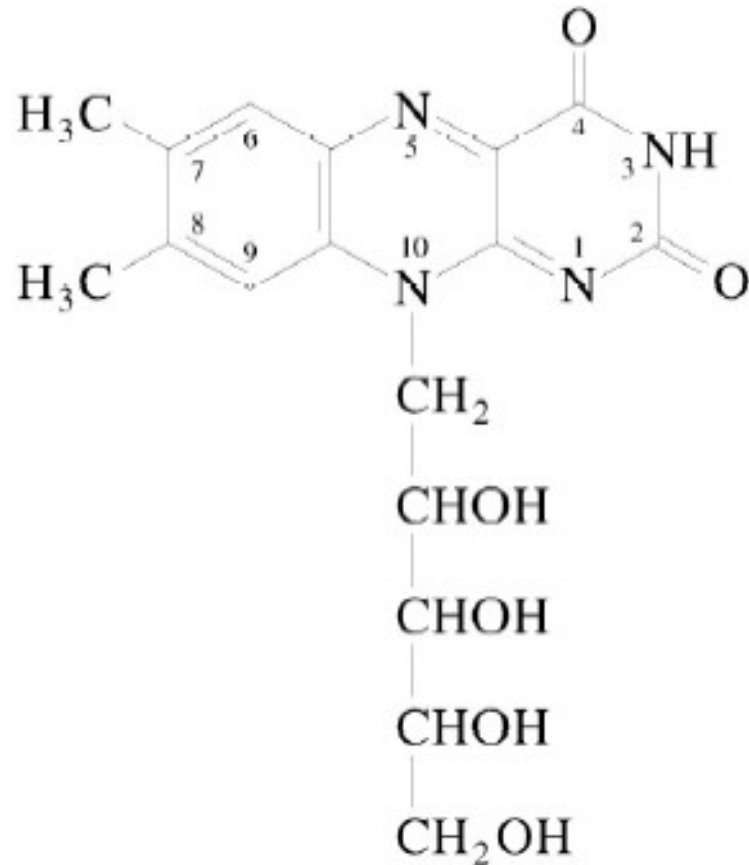
- NADH-Q reduttasi (Complesso I)
- citocromo reduttasi (Complesso III)
- citocromo ossidasi (Complesso IV)



A ciascuno di questi complessi è associata un'attività di traslocazione di protoni

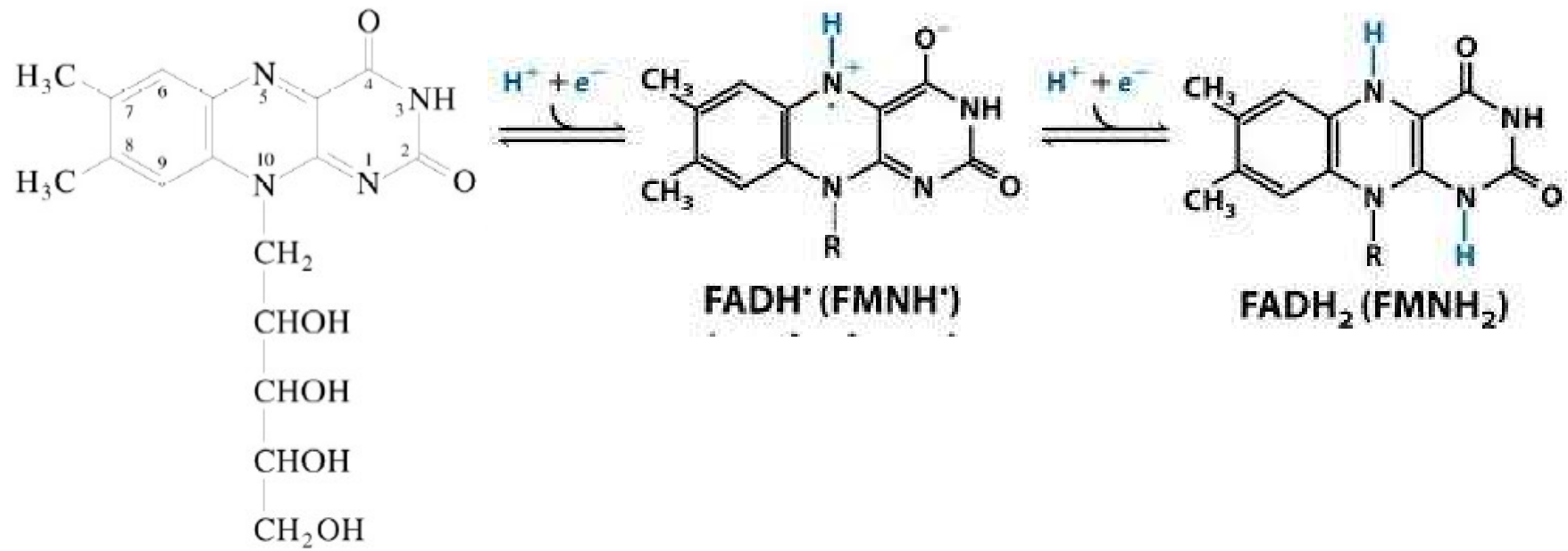
Vitamina B₂: riboflavina

Precursore di due coenzimi (FMN e FAD)



ISOALLOSSAZINA

RIBITOLO



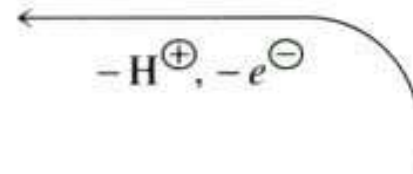


Flavoquinone
(FMN or FAD)

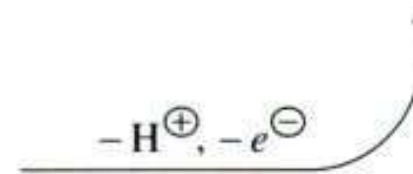
$2 e^-$
 $+ 2H^+$



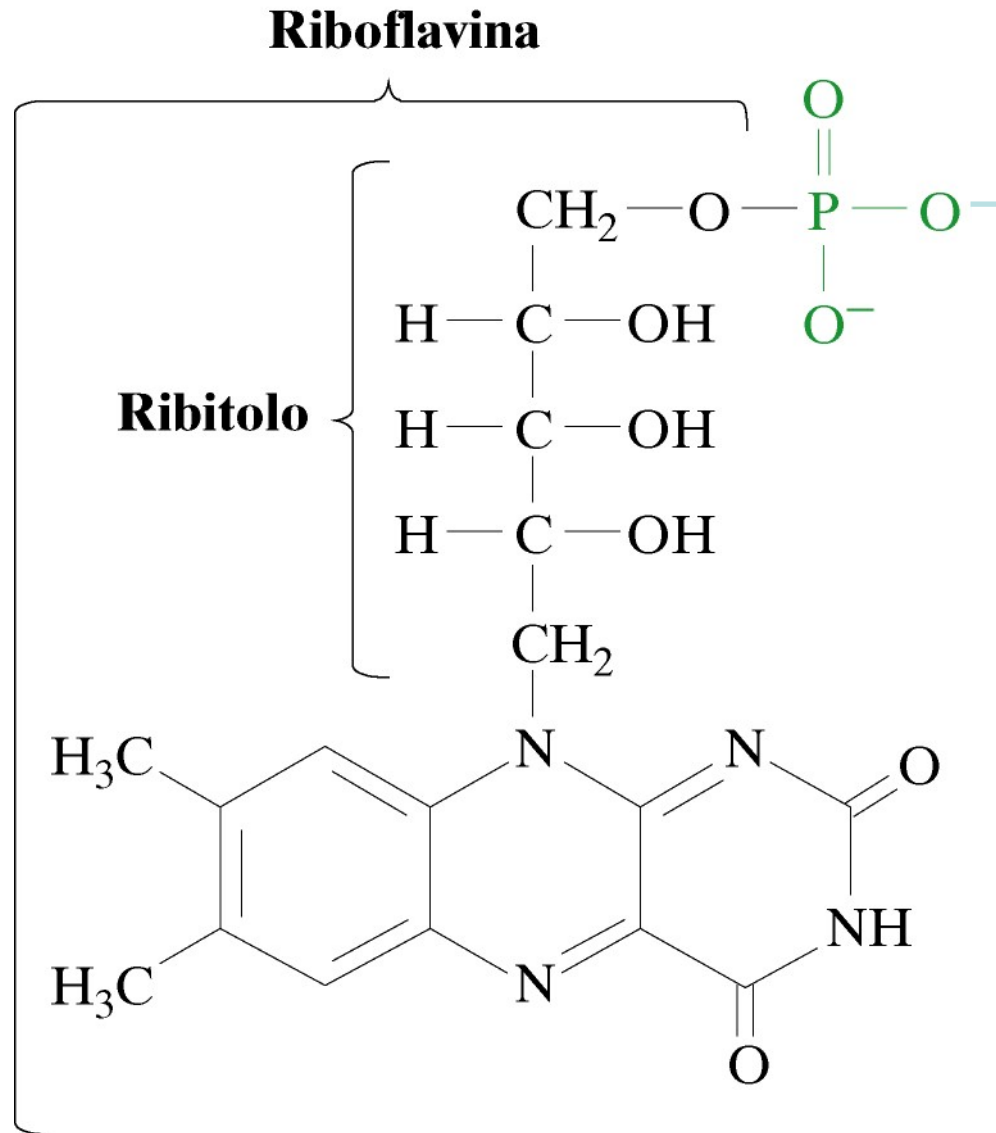
Flavohydroquinone
(FMNH₂ or FADH₂)



Flavosemiquinone
(FMNH• or FADH•)



COENZIMA 1 : Flavin Mono Nucleotide (FMN)



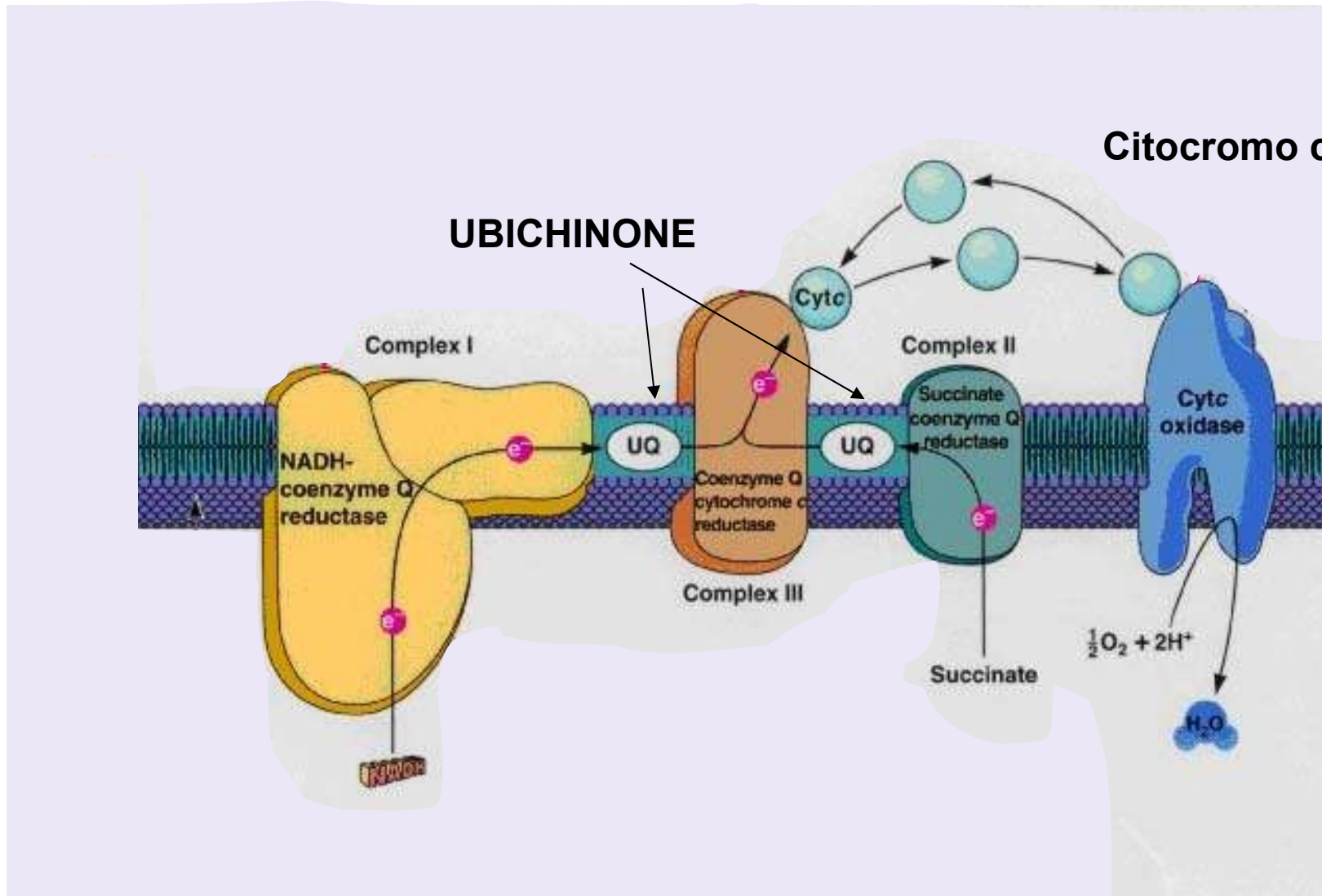
Nei complessi le reazioni redox sono garantite dai trasportatori fissi per e⁻:
Gruppi prostetici e ioni che sono parte INTEGRANTE dei complessi proteici

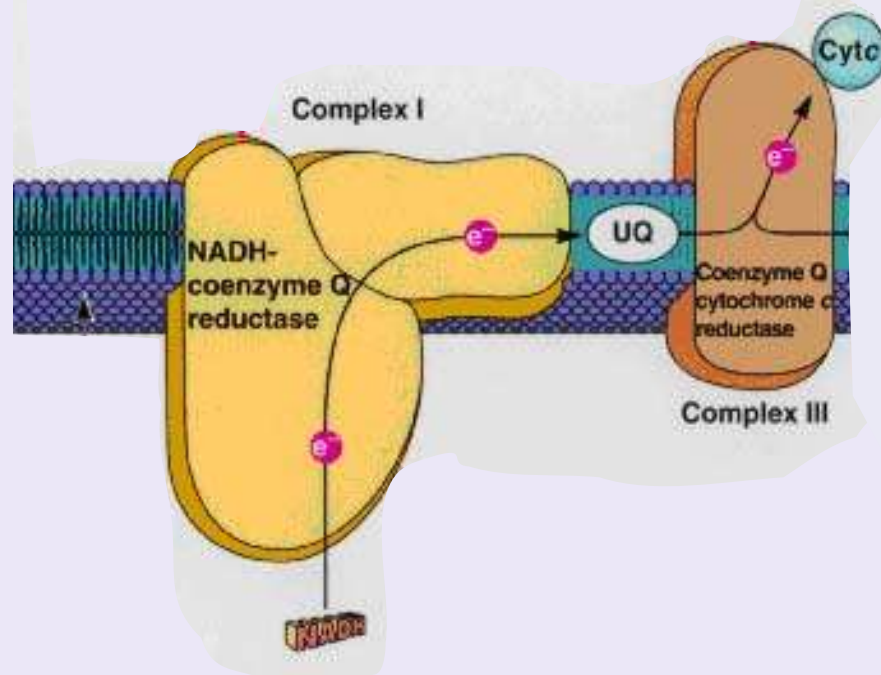
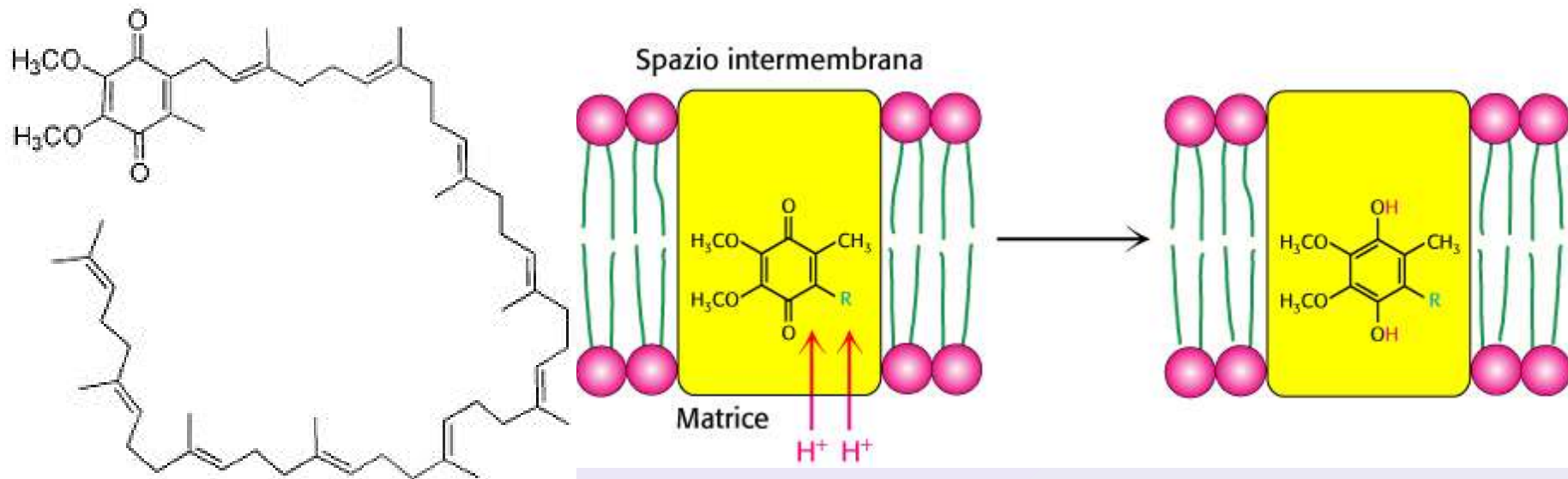
- (a) FMN in flavoproteine - trasferimento di 1 o 2 e⁻.
- (b) Fe in gruppi Fe-S di proteine ferro/zolfo - trasferimento di 1 e⁻, (Fe²⁺ / Fe³⁺)
- (c) Fe nell'Eme di proteine citocromiche - trasferimento di 1 e⁻. (Fe²⁺ / Fe³⁺)
- (d) Cu in proteine che legano il rame - trasferimento di 1 e⁻ (Cu⁺ / Cu²⁺)

La mancanza di energia caratteristica delle anemie (carenza di Ferro) è dovuta a una minor presenza di citocromi e proteine ferro/zolfo, trasportatori fissi per e⁻.

Diminuita capacità di ossidare i nutrienti

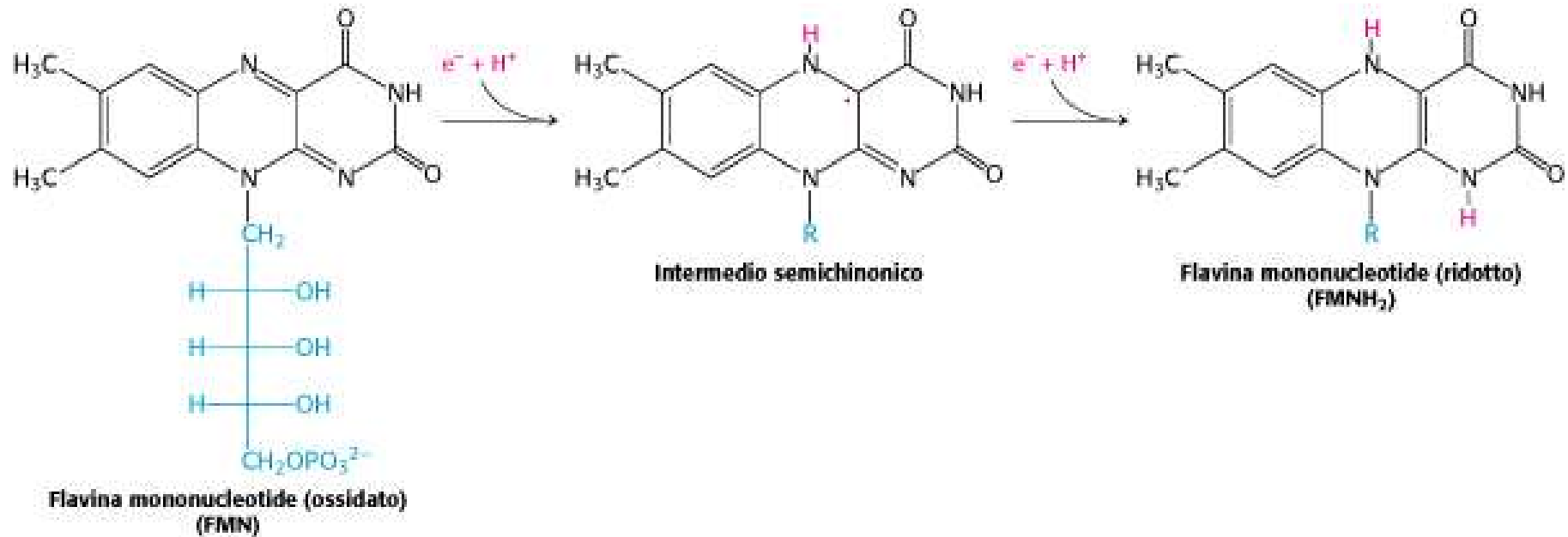
- I Complessi sono collegati da due tipi di trasportatori liberi per elettroni:
- il coenzima Q (ubichinone), è liposolubile e si muove nello strato lipidico della membrana,
 - il citocromo c, è una proteina solubile che si muove nello spazio intermembrana.





1. Flavin Mono Nucleotide (FMN)

I trasferimento: NADH passa gli elettroni a FMN



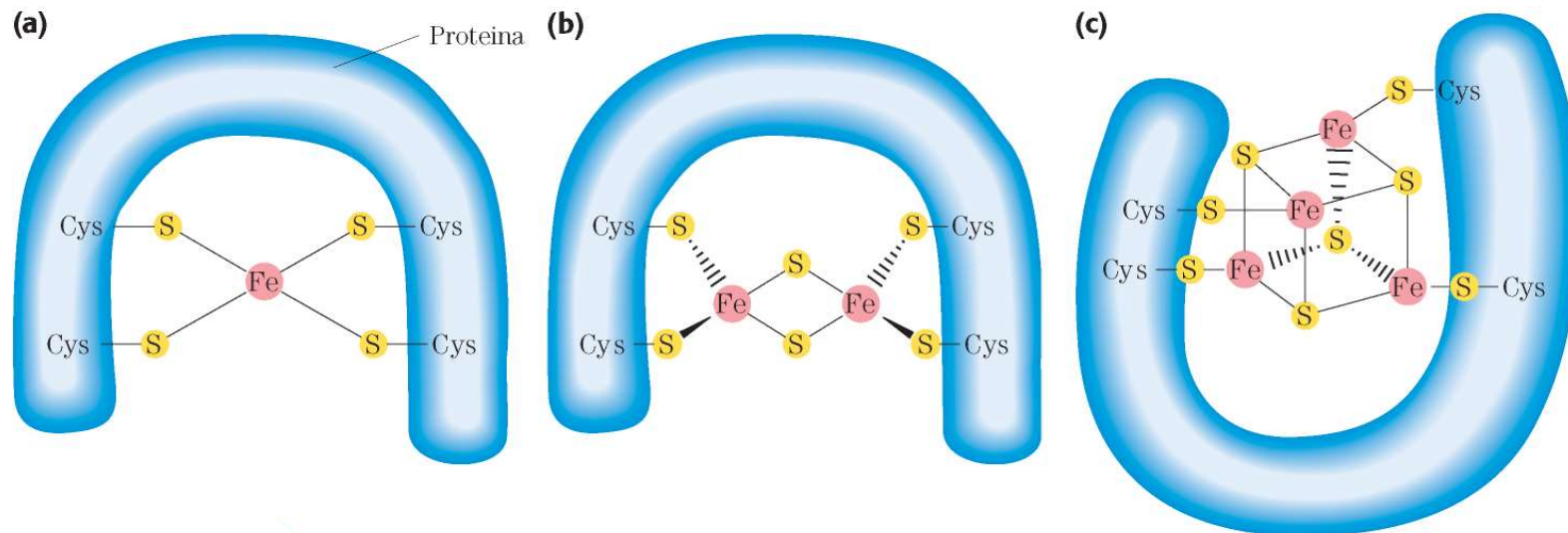
Nei complessi le reazioni redox sono garantite dai trasportatori fissi per e-:
Gruppi prostetici e ioni che sono parte INTEGRANTE dei complessi proteici

- (a) FMN in flavoproteine - trasferimento di 1 o 2 e-.
- (b) Fe in gruppi Fe-S di proteine ferro/zolfo - trasferimento di 1 e-, (Fe^{2+} / Fe^{3+})
- (c) Fe nell'Eme di proteine citocromiche - trasferimento di 1 e-. (Fe^{2+} / Fe^{3+})
- (d) Cu in proteine che legano il rame - trasferimento di 1 e- (Cu^+ / Cu^{2+})

Proteine Ferro/Zolfo

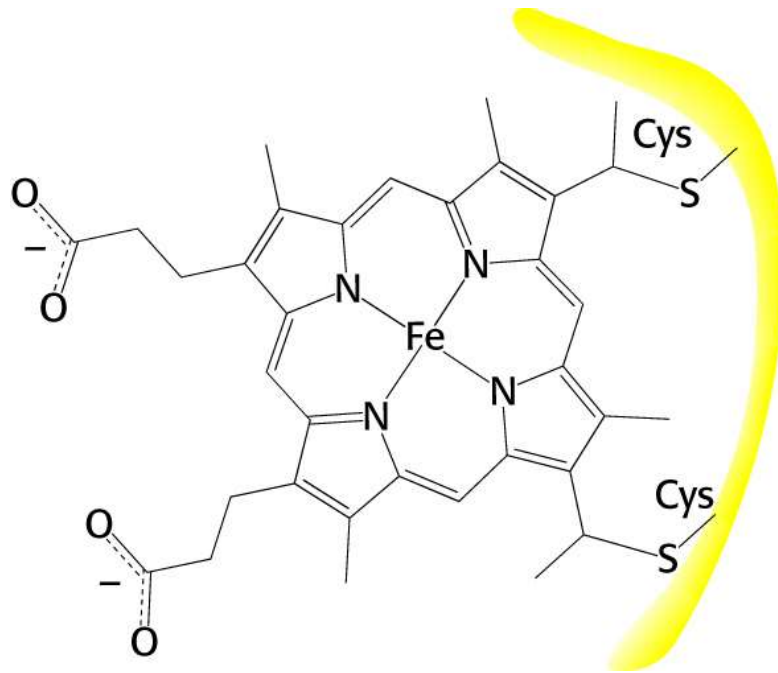
Il Ferro è coordinato dallo Zolfo di cisteine che si trovano vicine nella struttura terziaria

dipendentemente dall'arrivo di e-
il ferro oscilla tra Fe^{3+} e Fe^{2+}



I citocromi

sono proteine che contengono una ferro-porfirina

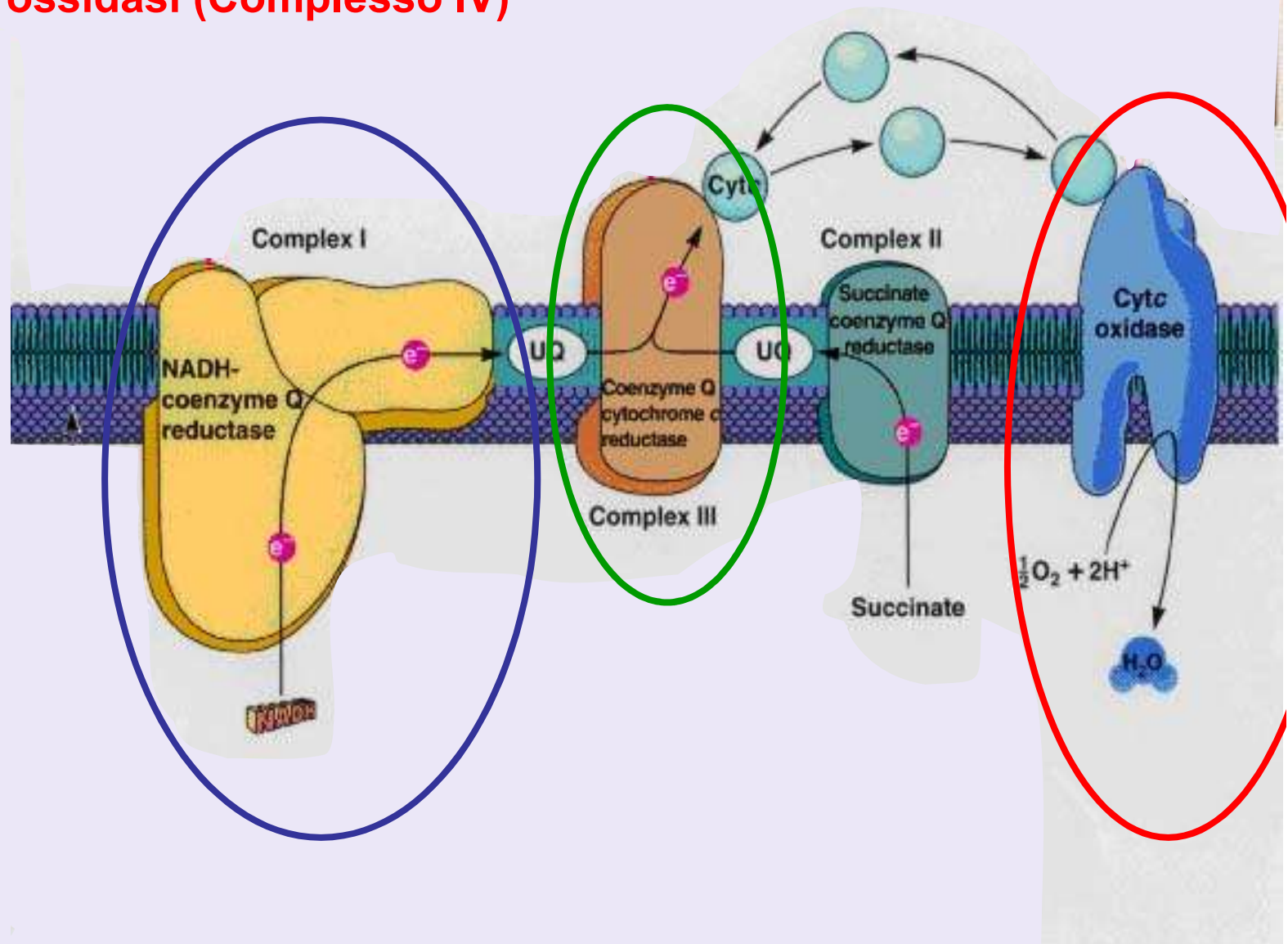


Accetta elettroni da molecole a
potenziale di riduzione minore
☞ riducendosi a Fe 2+

Cede elettroni a molecole con
potenziale di riduzione maggiore
☞ ossidandosi a Fe 3+

La catena respiratoria è costituita da 3 grandi complessi proteici

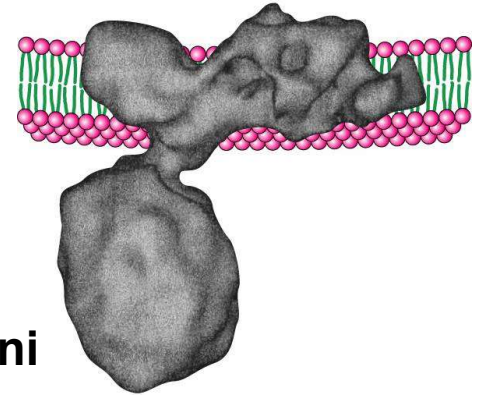
- NADH-Q reduttasi (Complesso I)
- citocromo reduttasi (Complesso III)
- citocromo ossidasi (Complesso IV)



NADH Q riduttasi: Complesso I

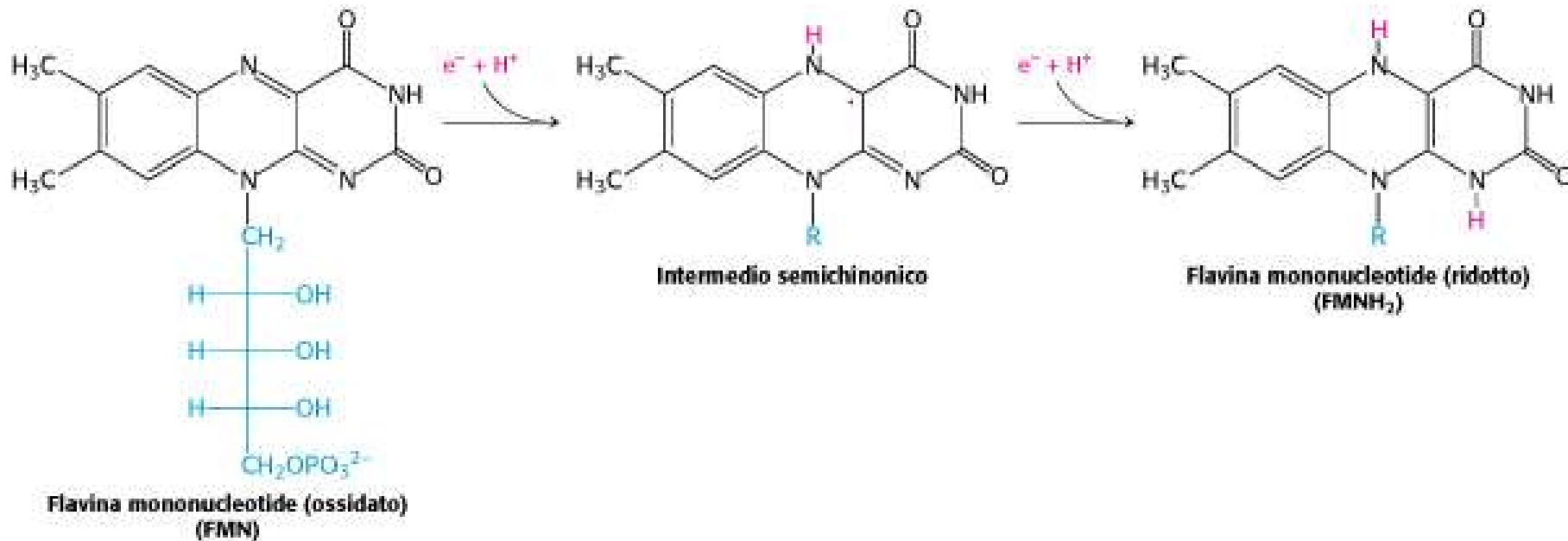
34 subunità proteiche

Diversi gruppi prostetici che partecipano al trasporto di elettroni



1. Flavin Mono Nucleotide (FMN)

I trasferimento: NADH passa gli elettroni a FMN

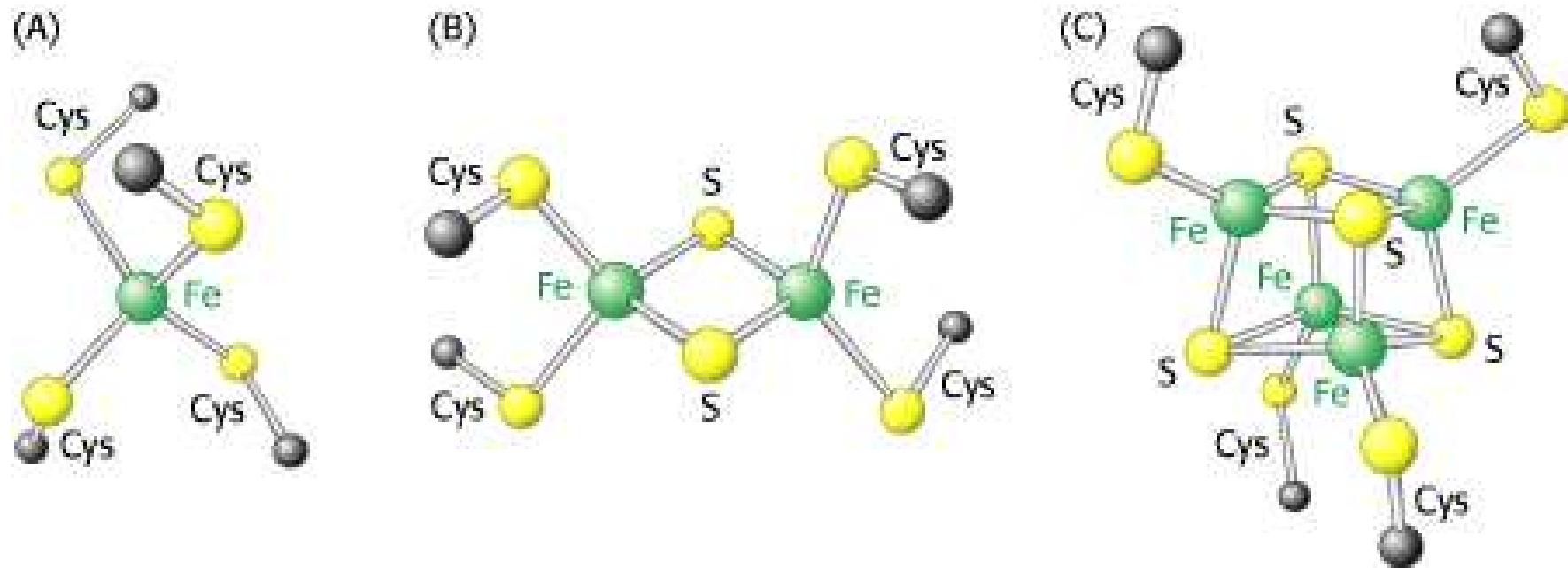


NADH Q riduttasi: Complesso I

34 subunità proteiche

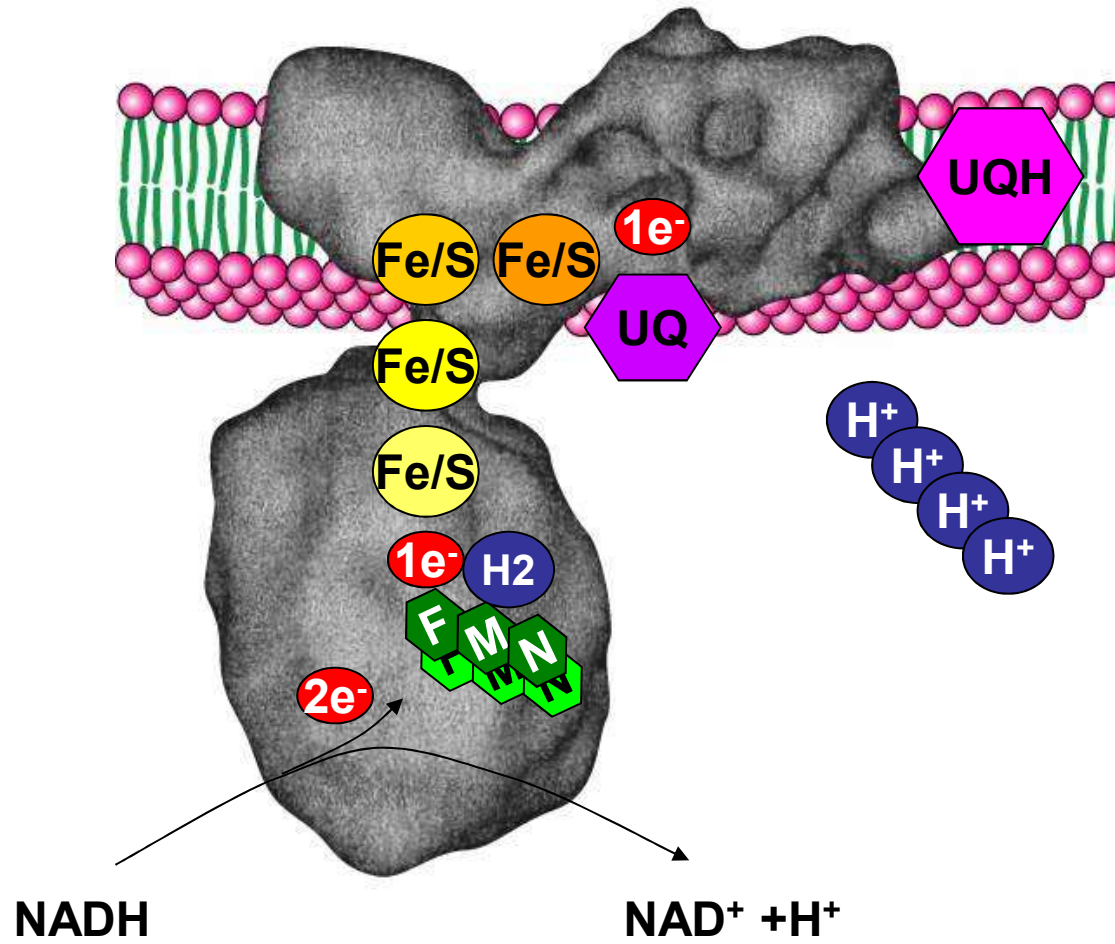
Diversi gruppi prostetici che partecipano al trasporto di elettroni

2. Centri Ferro/Zolfo (Fe/S)

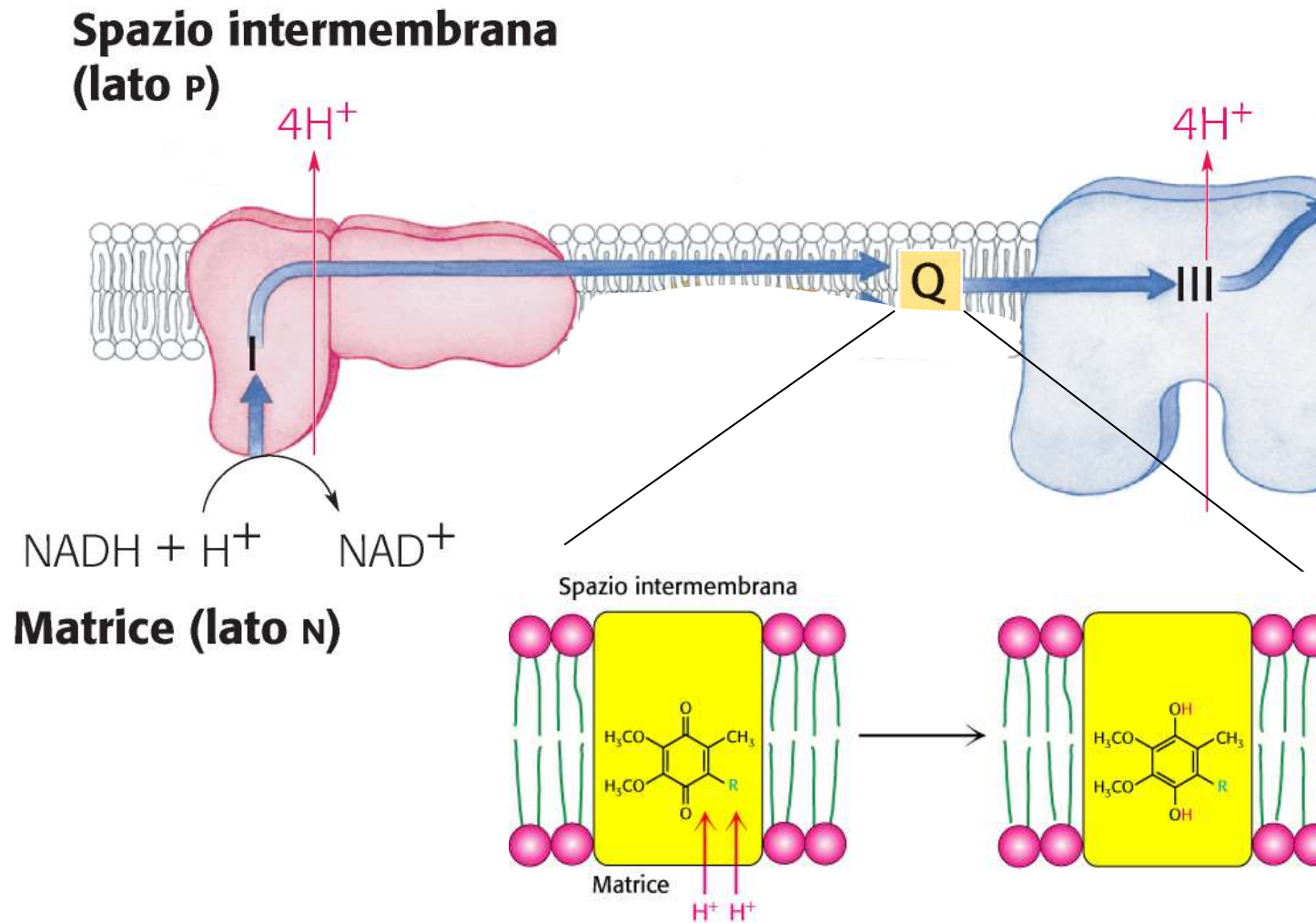


**Il trasferimento: FMN passa gli elettroni ai gruppi Fe/S
(Fe³⁺ passa a Fe²⁺)**

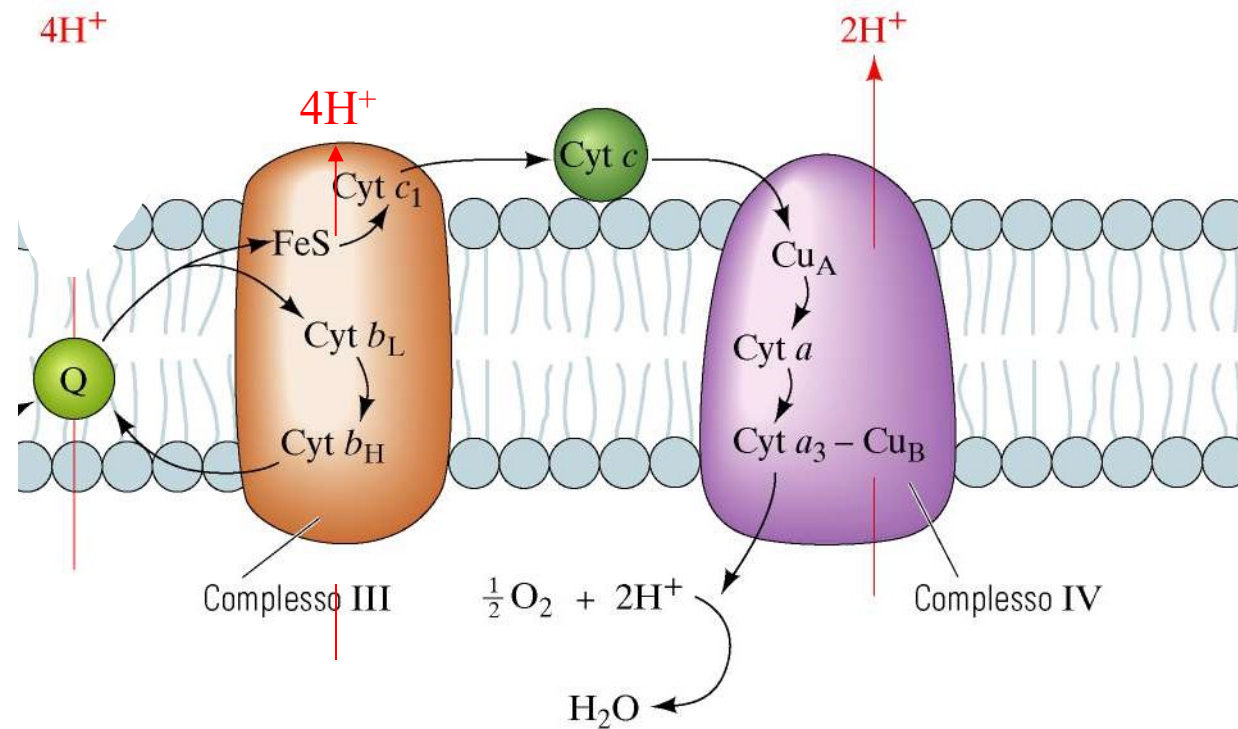
COMPLESSO I: NADH Q riduttasi



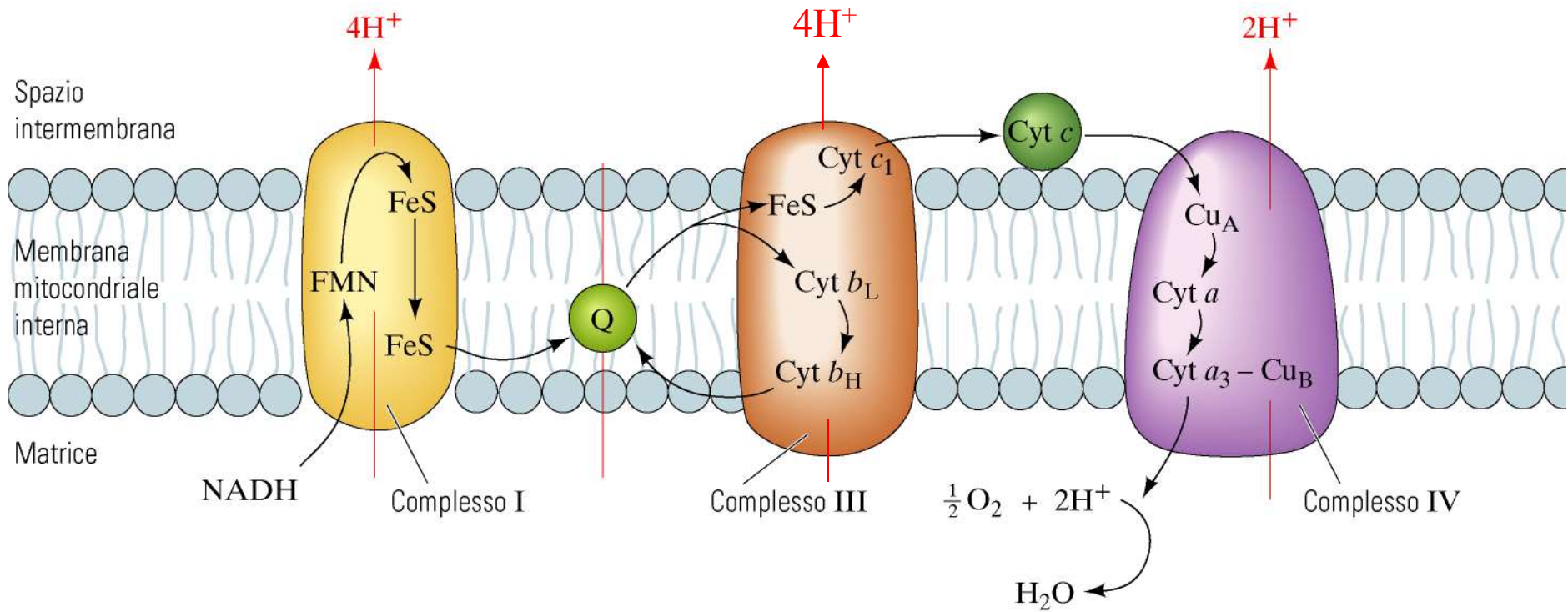
Il Coenzima Q trasferisce gli elettroni al Complesso III



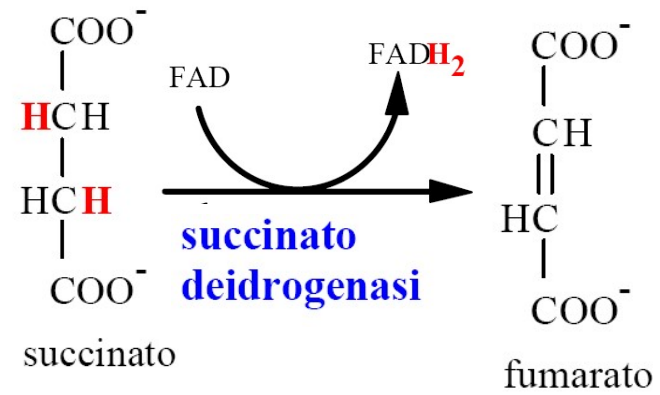
Il Complesso III catalizza l'ossidazione del Coenzima Q ridotto
Gli elettroni catturati fluiscono, attraverso centri Fe/S e citocromi, al Citocromo c
Vengono traslocati 4 protoni attraverso la membrana
Il Cyt c si muove nello spazio intermembrana fino al Complesso IV
Il Complesso IV catalizza il trasferimento degli elettroni all'O₂
Vengono traslocati 2 protoni attraverso la membrana



Per ogni molecola di NADH che viene ossidata, vengono traslocati 10 protoni



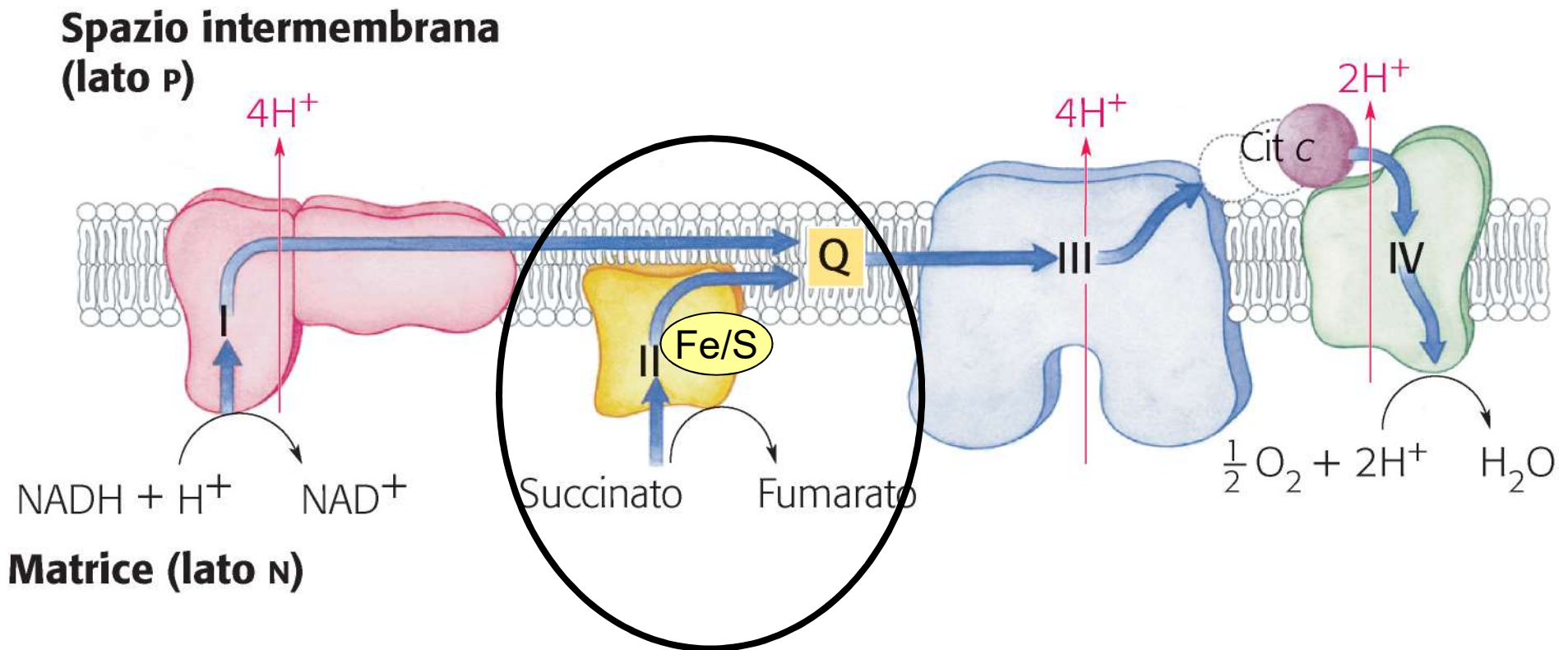
Come viene ossidato il FADH₂?



La succinato deidrogenasi è un enzima localizzato sulla membrana mitocondriale interna.

Forma il Complesso II della catena di trasporto degli elettroni

In questo Complesso gli elettroni vengono trasferiti dal FADH₂ al CoQ

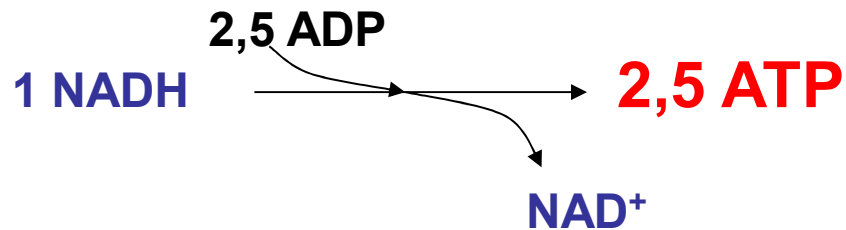


L'ingresso degli elettroni del FADH₂ avviene a valle del Complesso I
Il loro trasferimento all'O₂ comporta la traslocazione di 6 protoni anziché 10 (NADH)

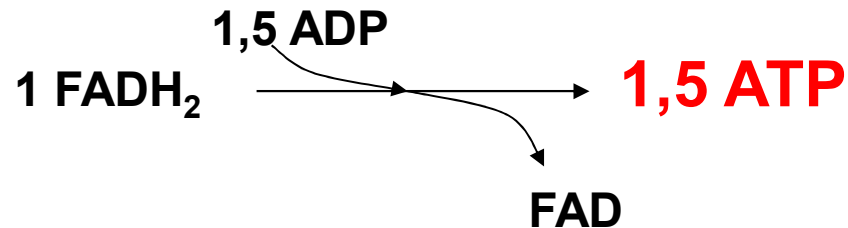
Gli elettroni immagazzinati nei coenzimi NADH e FADH₂ fluiscono attraverso la CATENA DI TRASPORTO degli ELETTRONI.

L'accettore finale degli elettroni è O₂, che viene ridotto ad H₂O

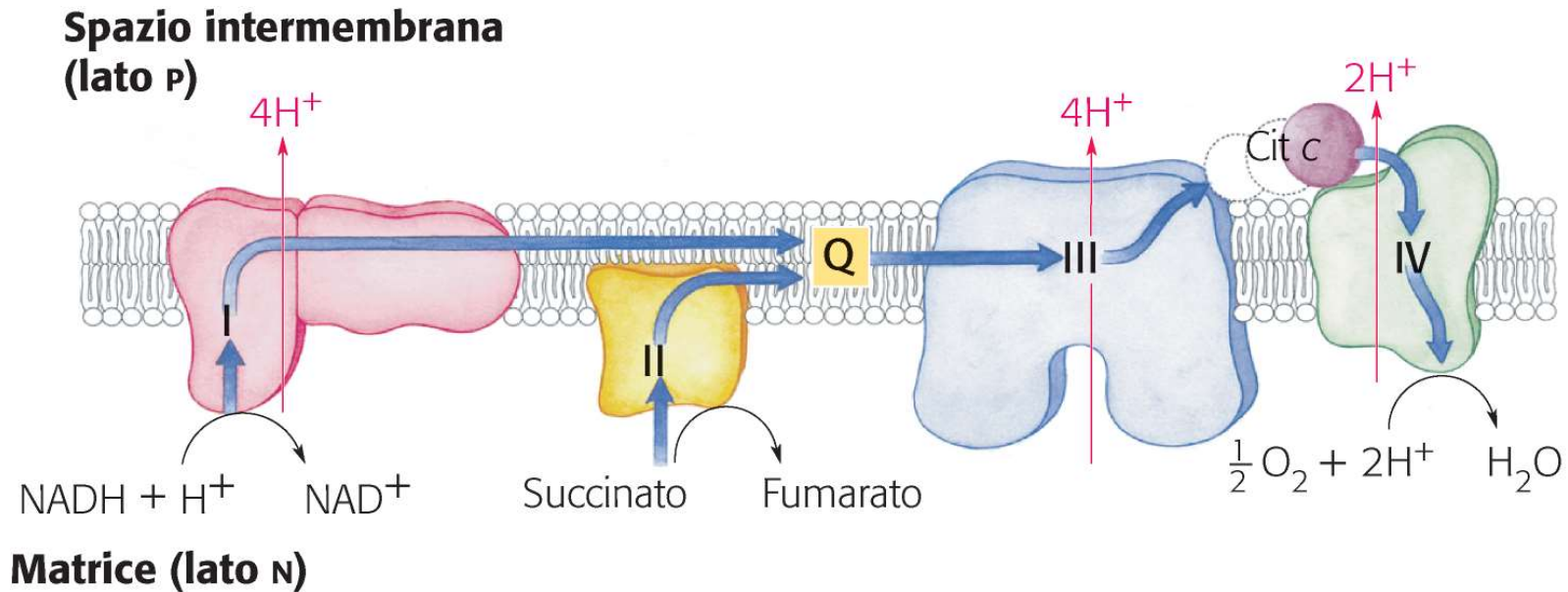
- L'energia viene rilasciata lungo la catena per formare ATP



Perché questa differenza?



**L'ingresso degli elettroni del NADH avviene nel Complesso I
Il loro trasferimento all'O₂ comporta la traslocazione di 10 protoni)**



**L'ingresso degli elettroni del FADH₂ avviene a valle del Complesso I
Il loro trasferimento all'O₂ comporta la traslocazione di 6 protoni.**

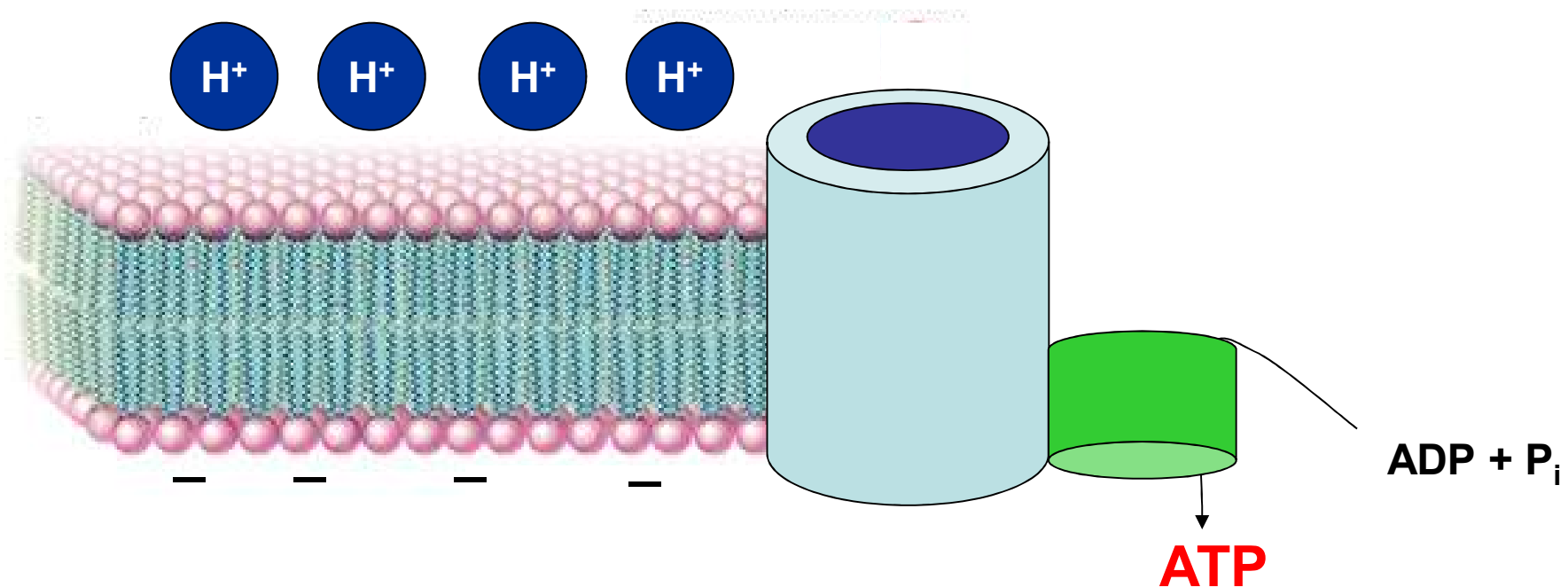
Il gradiente protonico risultante dall'ossidazione del NADH sarà maggiore.

☞ La quantità di ATP che viene sintetizzata è proporzionale al gradiente protonico

Il funzionamento della catena di trasporto determina un accumulano protoni nello spazio intermembrana.

Crea una concentrazione diversa di protoni tra le due membrane, responsabile di una differenza di potenziale tra le due membrane (-0,18 V, negativo verso l'interno)

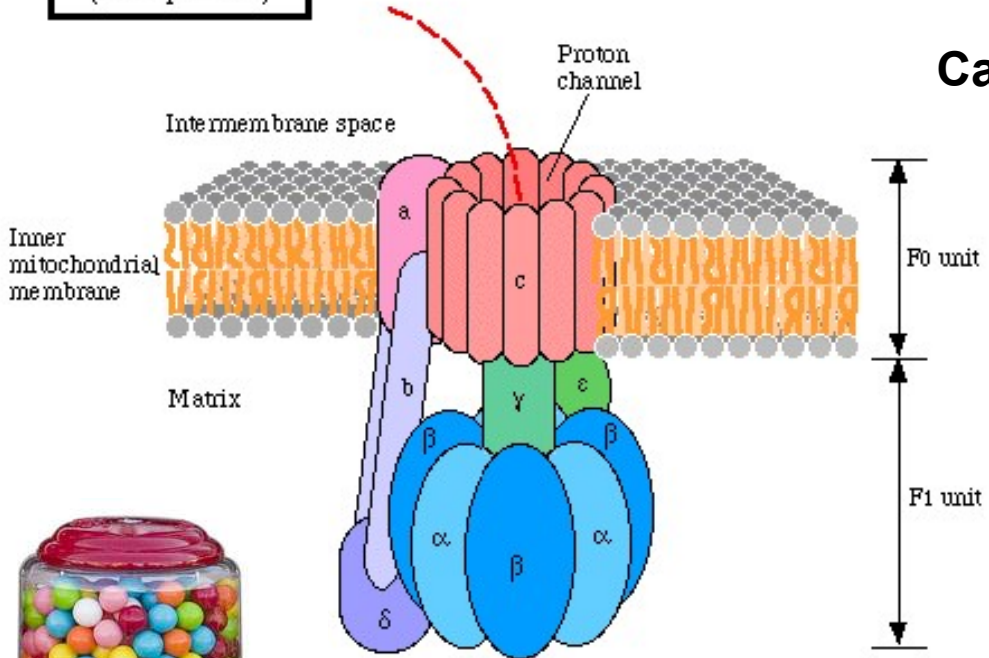
Il flusso di protoni lungo il canale fornisce l'energia per la sintesi di ATP.



H⁺ transporting
ATP-synthase
(Complex V)

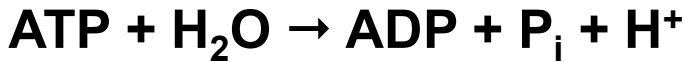
ATP sintasi o ATPasi

Catalizza la reazione in entrambi i sensi

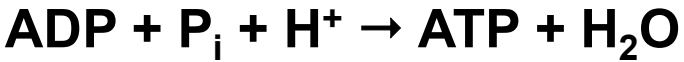


Forniti dalla reazione
esoergonica (spontanea)
di diffusione dei protoni
attraverso il canale

Idrolisi



Sintesi



$$\Delta G'^{\circ} = 30,5 \text{ kJ/mol}$$

Due strategie per la sintesi di ATP

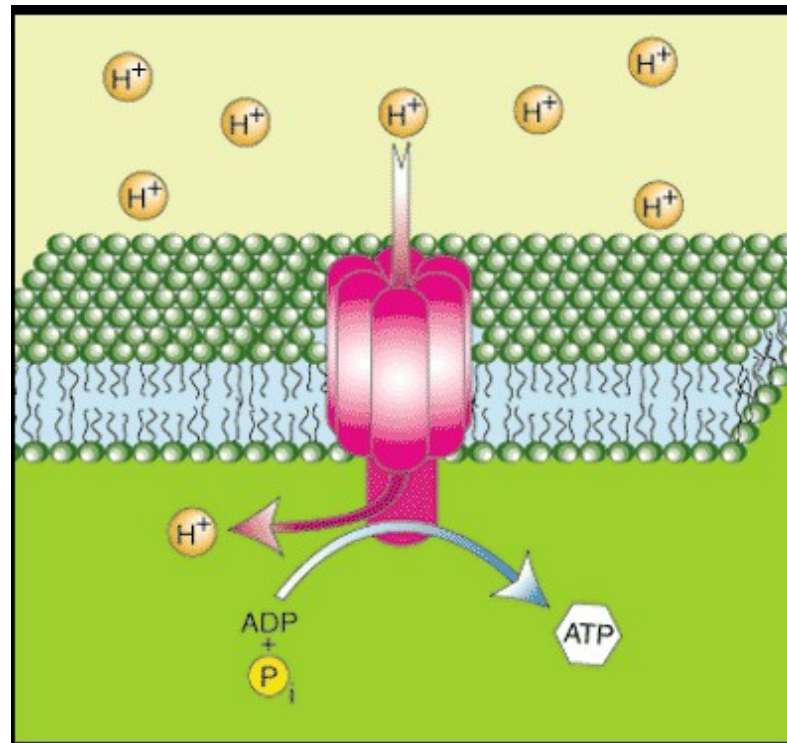
A. Fosforilazione a livello del substrato

La sintesi di ATP è resa possibile dalla presenza di altri metaboliti con elevato potenziale di trasferimento del gruppo fosforico (1,3 BPG, PEP, succinil-CoA)

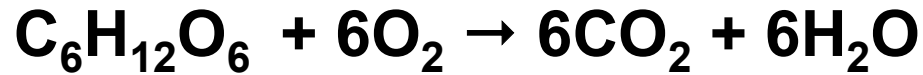


B. Fosforilazione ossidativa

La sintesi di ATP è resa possibile dalla presenza di di un gradiente protonico che genera una differenza di potenziale attraverso la membrana mitocondriale interna.



OSSIDAZIONE DEL GLUCOSIO



$$\Delta G^{\circ} = -681 \text{ kcal/mole} \quad (-2850 \text{ kJ/mole})$$

Per molecola di glucosio si ottengono 32 molecole di ATP

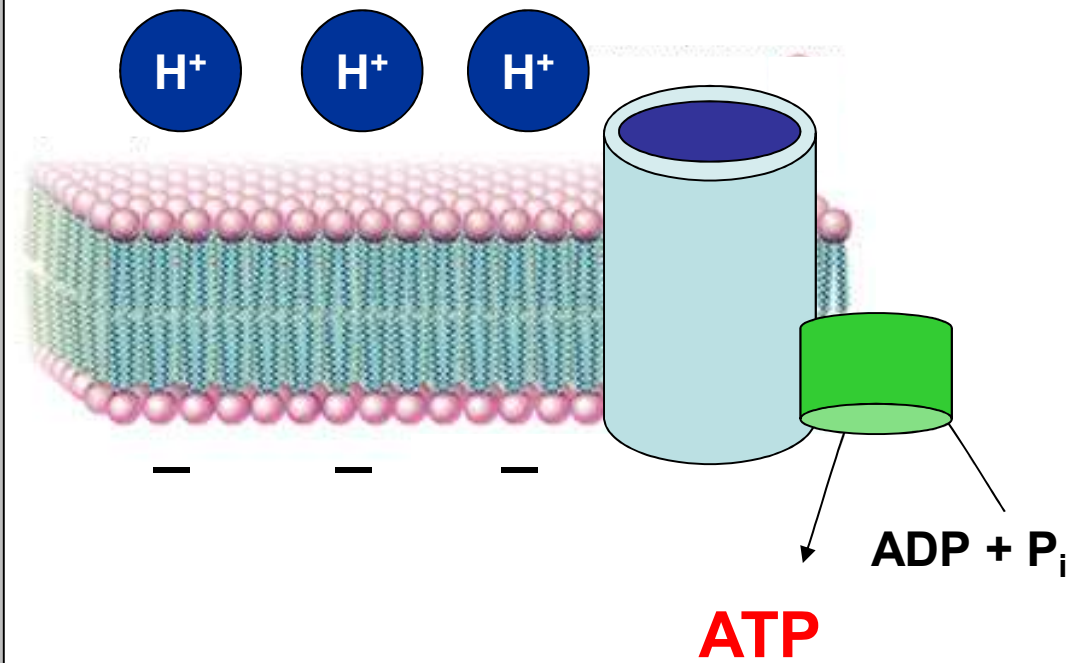
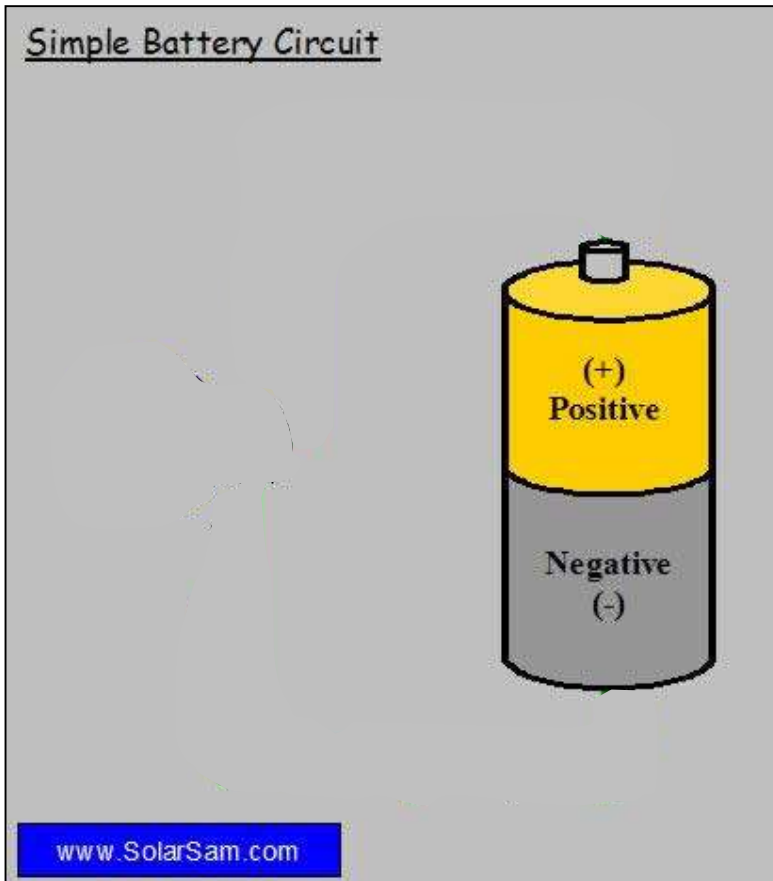
$$\Delta G^{\circ} = 32 (7,29 \text{ kcal/mole}) = 233,28 \text{ kcal/mole}$$

$$\begin{aligned} \text{Resa energetica} &= (\text{kcal ricavate} / \text{kcal investite}) \times 100 \\ &= (233,28/681) \times 100 = 34\% \end{aligned}$$

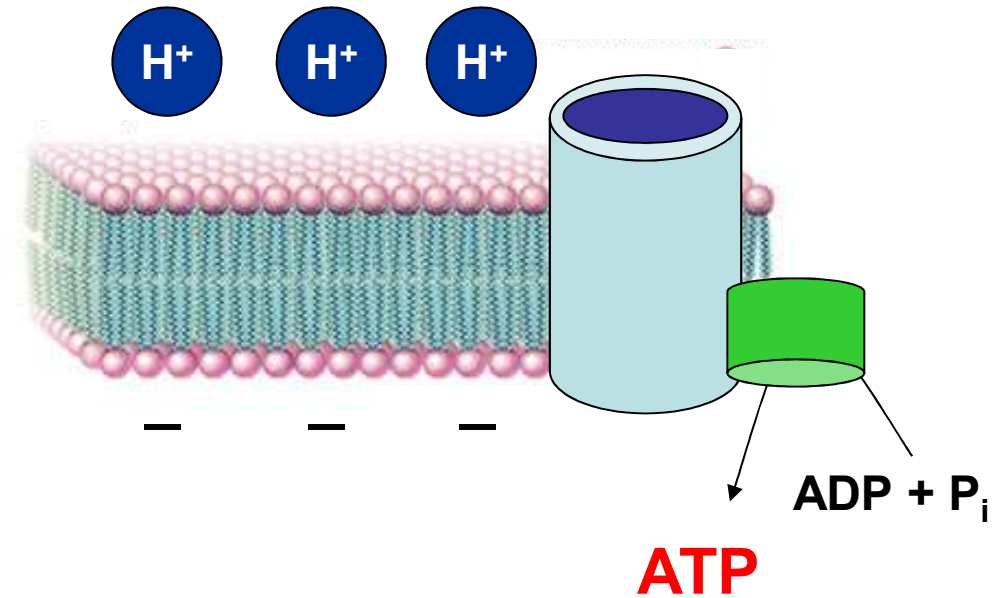
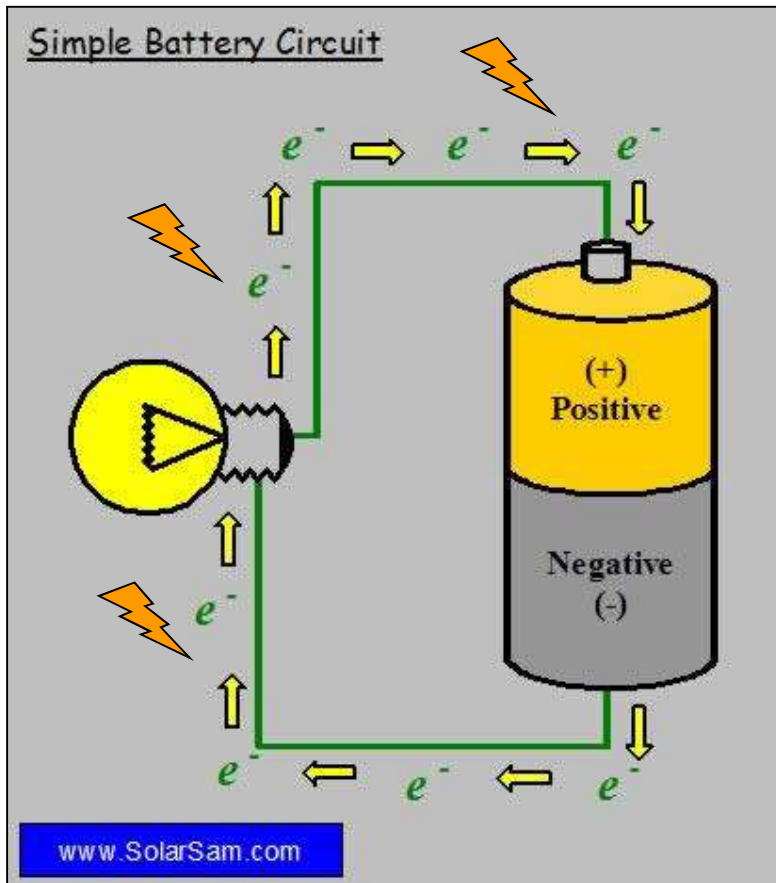
Si riesce a convertire circa il 34% dell'energia potenziale contenuta nei legami covalenti del glucosio

E il rimanente 66% ?

La catena di trasporto degli elettroni crea una BATTERIA



Parte dell'energia è dissipata in calore

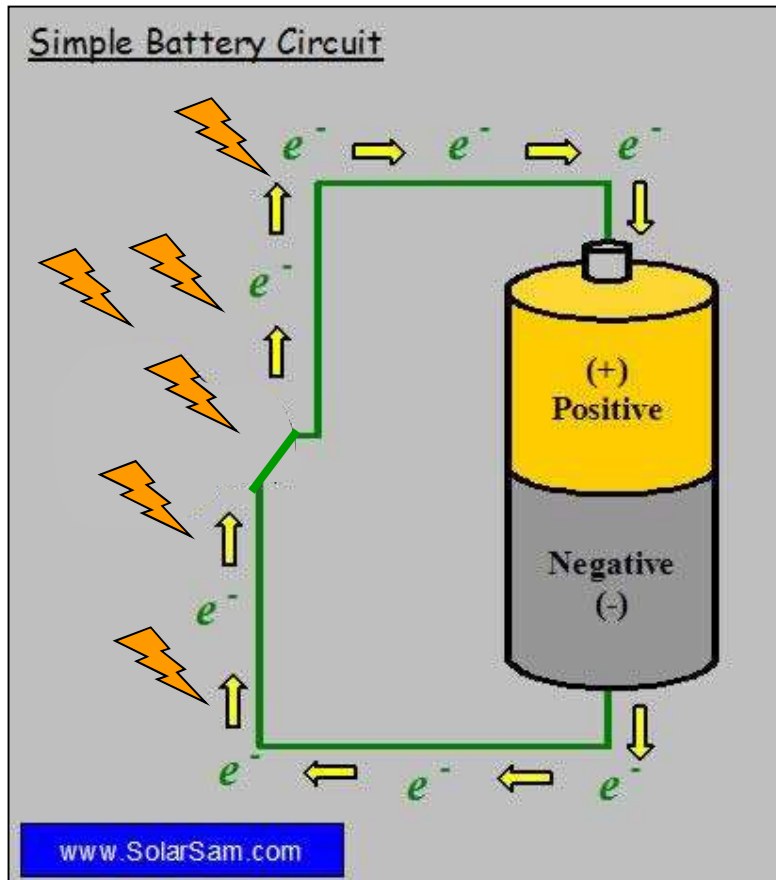


Anche la corrente di protoni genera calore.

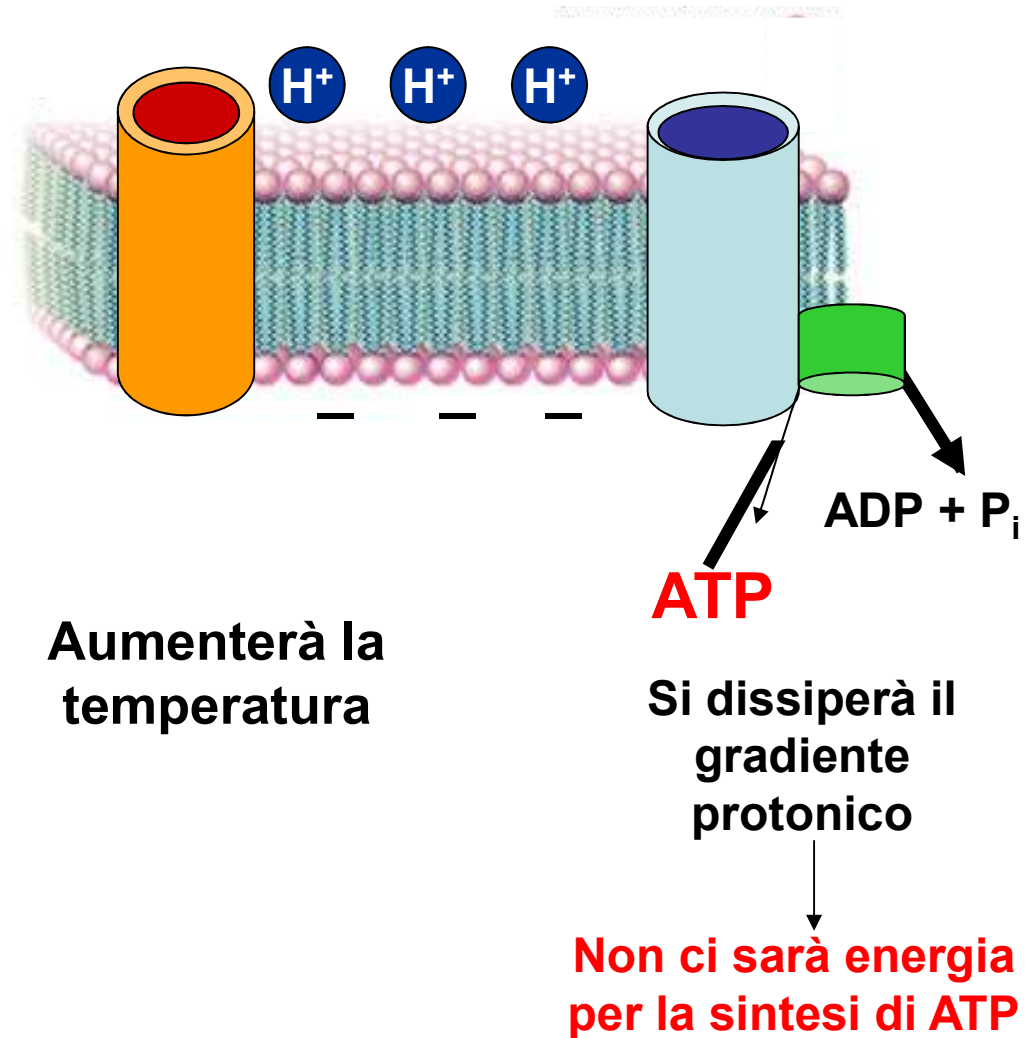
Il 66% dell'energia potenziale delle molecole nutrienti è ceduto come energia termica.

Mantiene la temperatura corporea a 37°C

La semplice chiusura del circuito genera calore



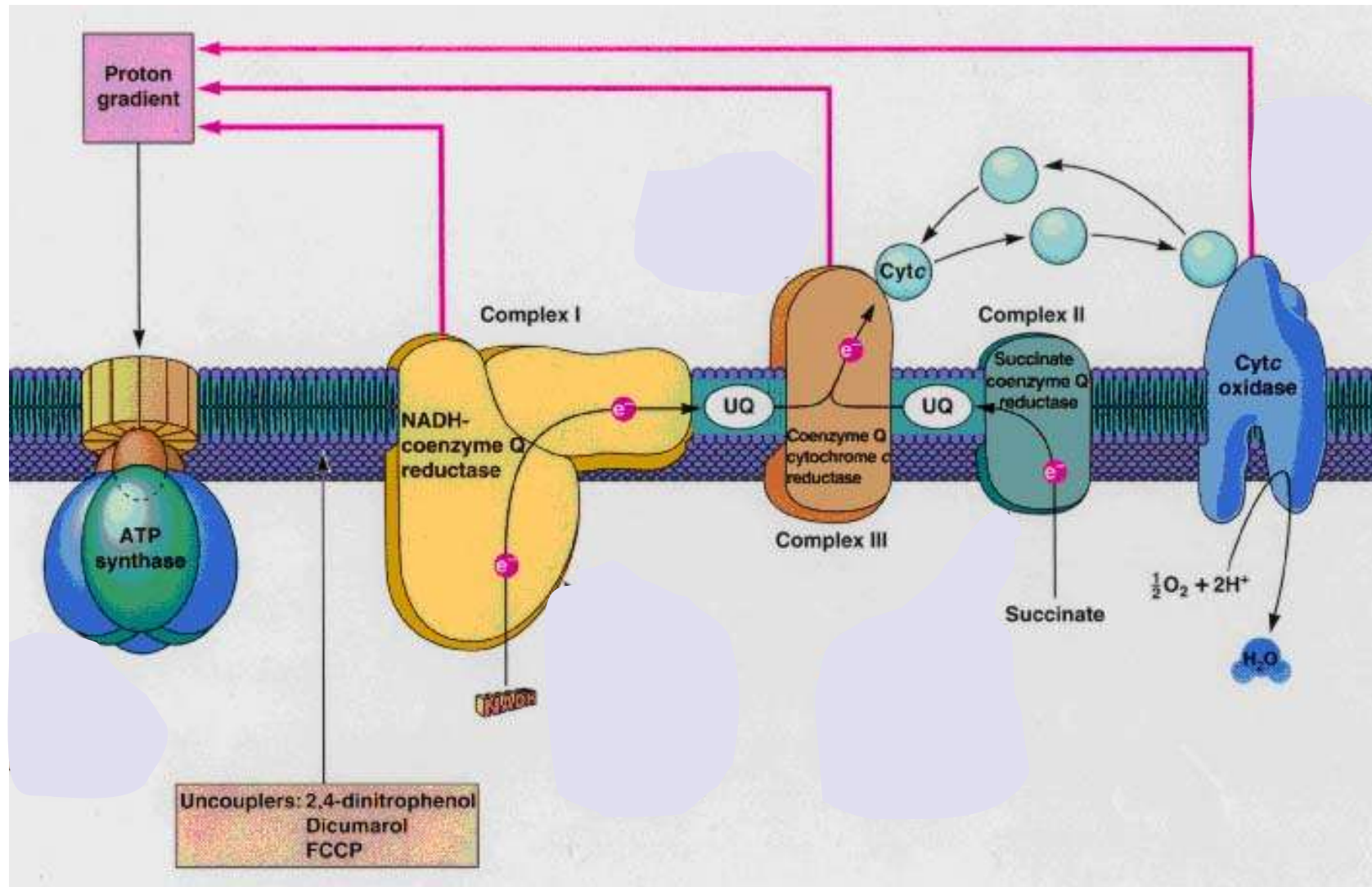
Che cosa succede se si crea un corto circuito?



La catena di trasporto sarà **DISACCOPPIATA** dalla sintesi di ATP

VELENI MITOCONDRIALI

Molecole che inibiscono la fosforilazione ossidativa



Inibitori della catena di trasporto degli elettroni

Non permettono la riduzione dell'O₂



Riducono il consumo di ossigeno

Non permettono l'ossidazione di NADH e/o FADH₂



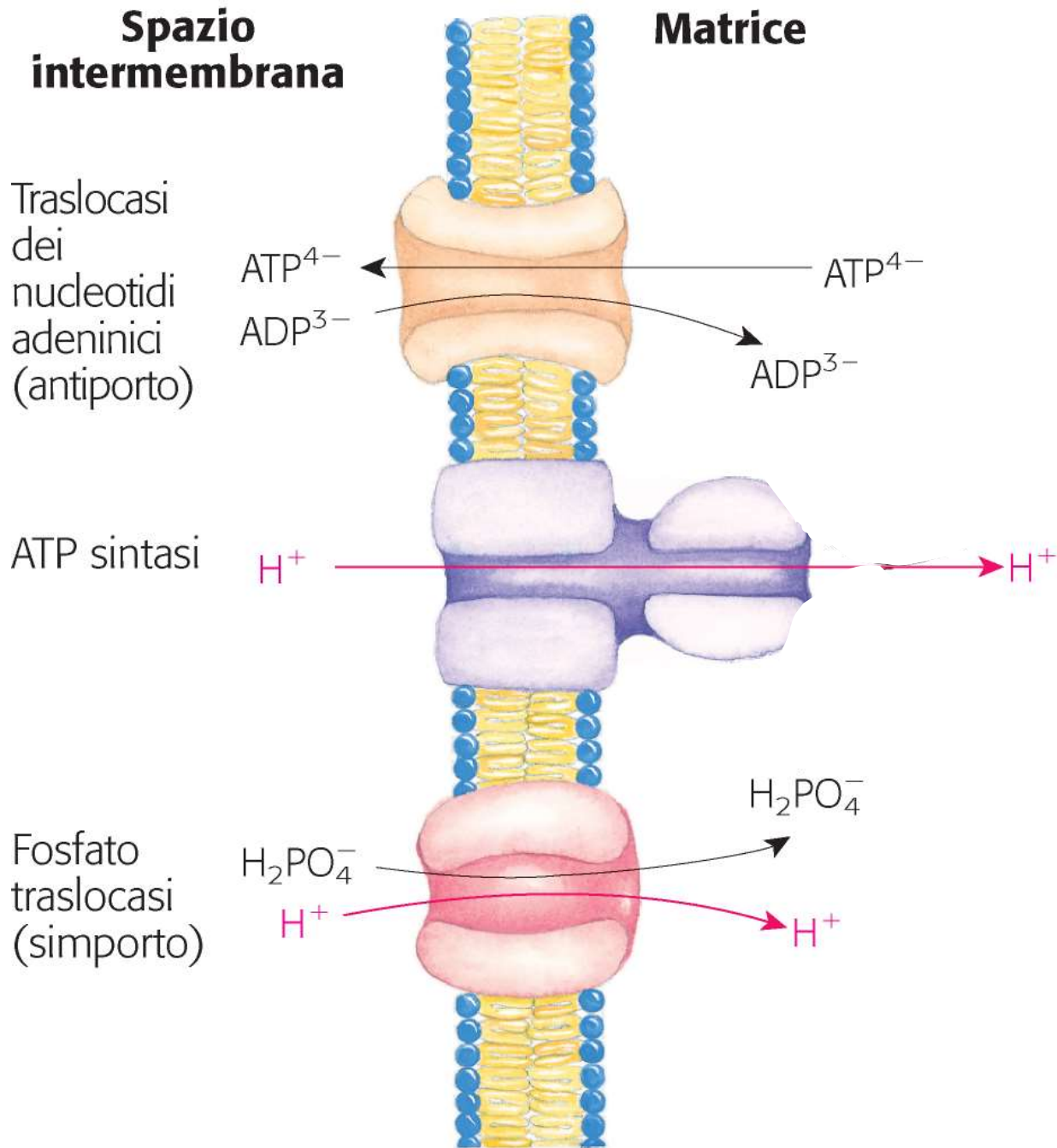
Arresto dei cicli catabolici per mancanza di ACCETTORI MOBILI di e⁻

L'ATP prodotto nella matrice mitocondriale deve uscire per essere usato nel citosol come fonte di energia.

L'ADP e il Pi provenienti dall'idrolisi dell'ATP nel citosol devono entrare nella matrice mitocondriale per essere convertito in ATP.

La membrana mitocondriale interna è impermeabile alle molecole cariche ➡ è necessario un sistema per il trasporto l'ADP e ATP.

Una traslocasi (trasportatore ADP/ATP) è un antiporter che catalizza lo scambio di ADP per ATP attraverso la membrana mitocondriale interna.

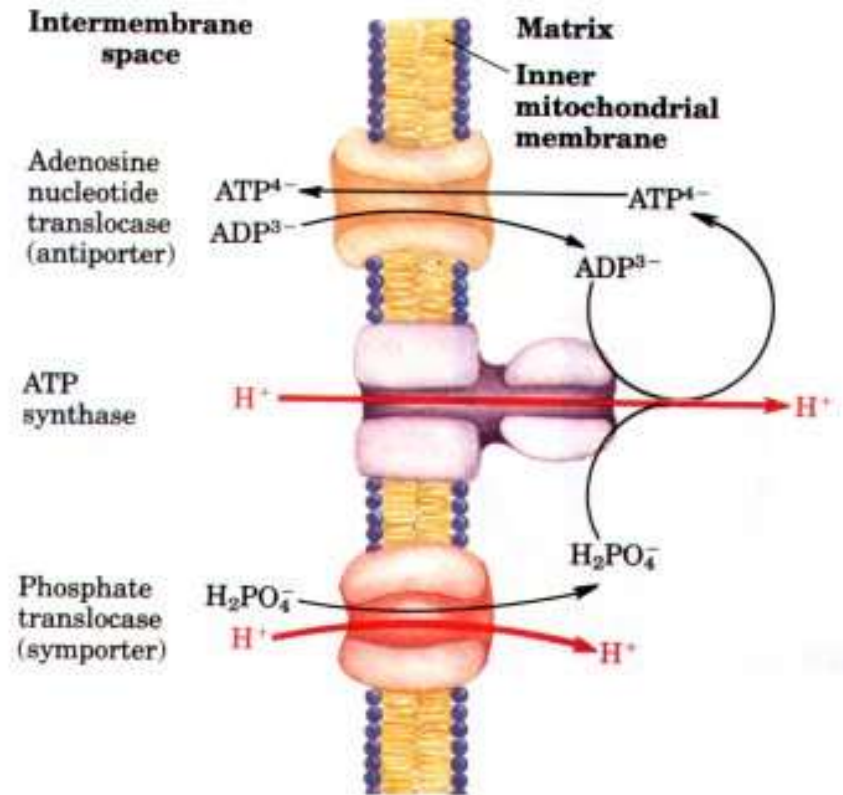


Al pH cellulare l'ATP ha quattro cariche negative (ATP^{4-}), l'ADP ne ha tre (ADP^{3-}).

Lo scambio $\text{ADP}^{3-}/\text{ATP}^{4-}$ usa in parte il potenziale di membrana (una carica per molecola di ATP).

L'ingresso del fosfato dissipa parte del gradiente chimico di H^+

Il consumo di O_2 dipende dalla disponibilità di $ADP + P_i$



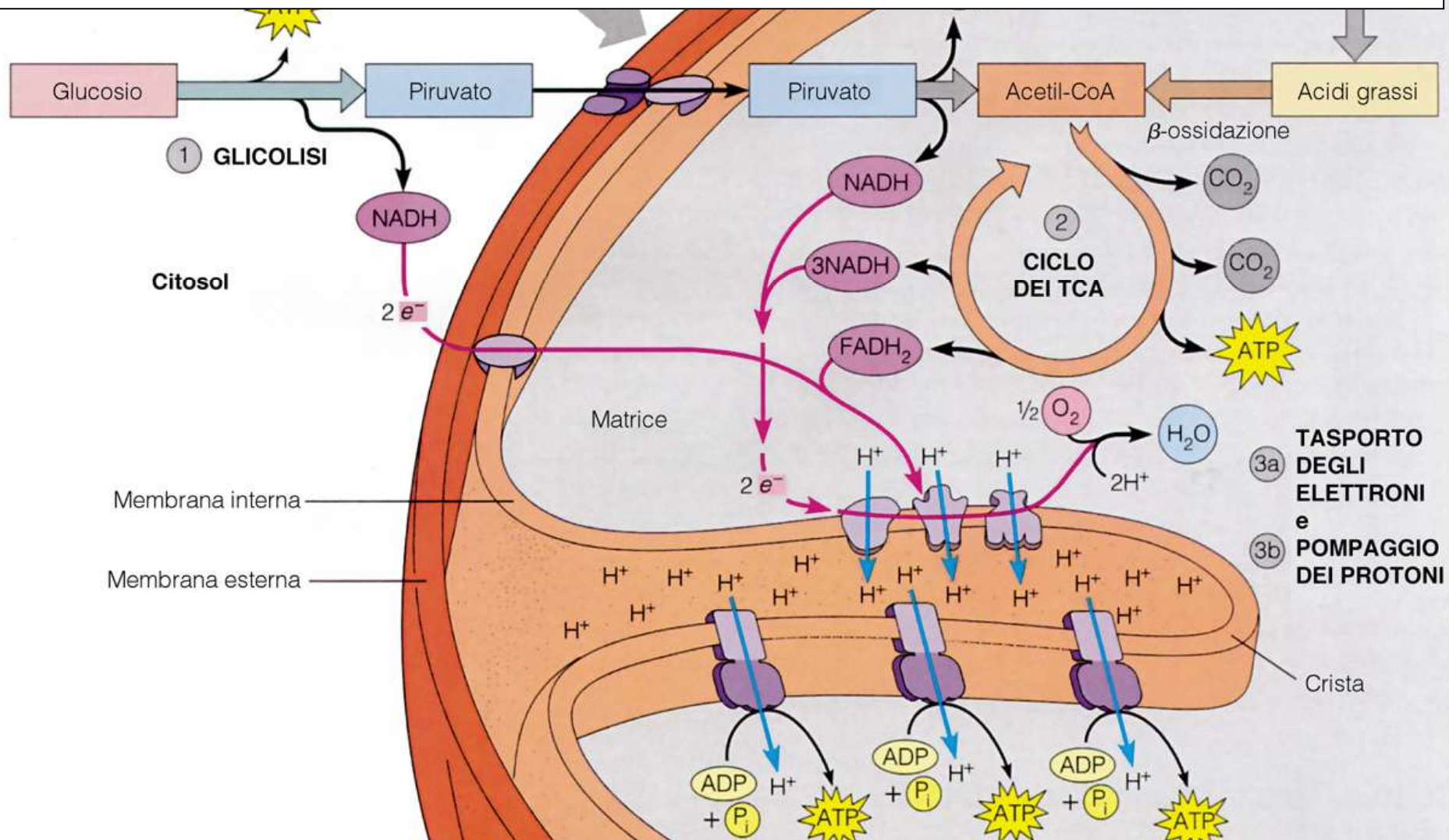
Trasporti FONDAMENTALI per

- fornire di ATP il resto della cellula (biosintesi)
- fornire di ADP e P_i il mitocondrio (per la sintesi di nuovo ATP)

CONTROLLO RESPIRATORIO

Dalla glicolisi:
2 ATP
2 NADH (= 5 ATP)

Come fa il NADH citosolico ad essere riossidato dalla catena di trasporto?



Dalla glicolisi:
2 ATP
2 NADH (= 5 ATP)

Come fa il NADH citosolico ad essere riossidato dalla catena di trasporto?

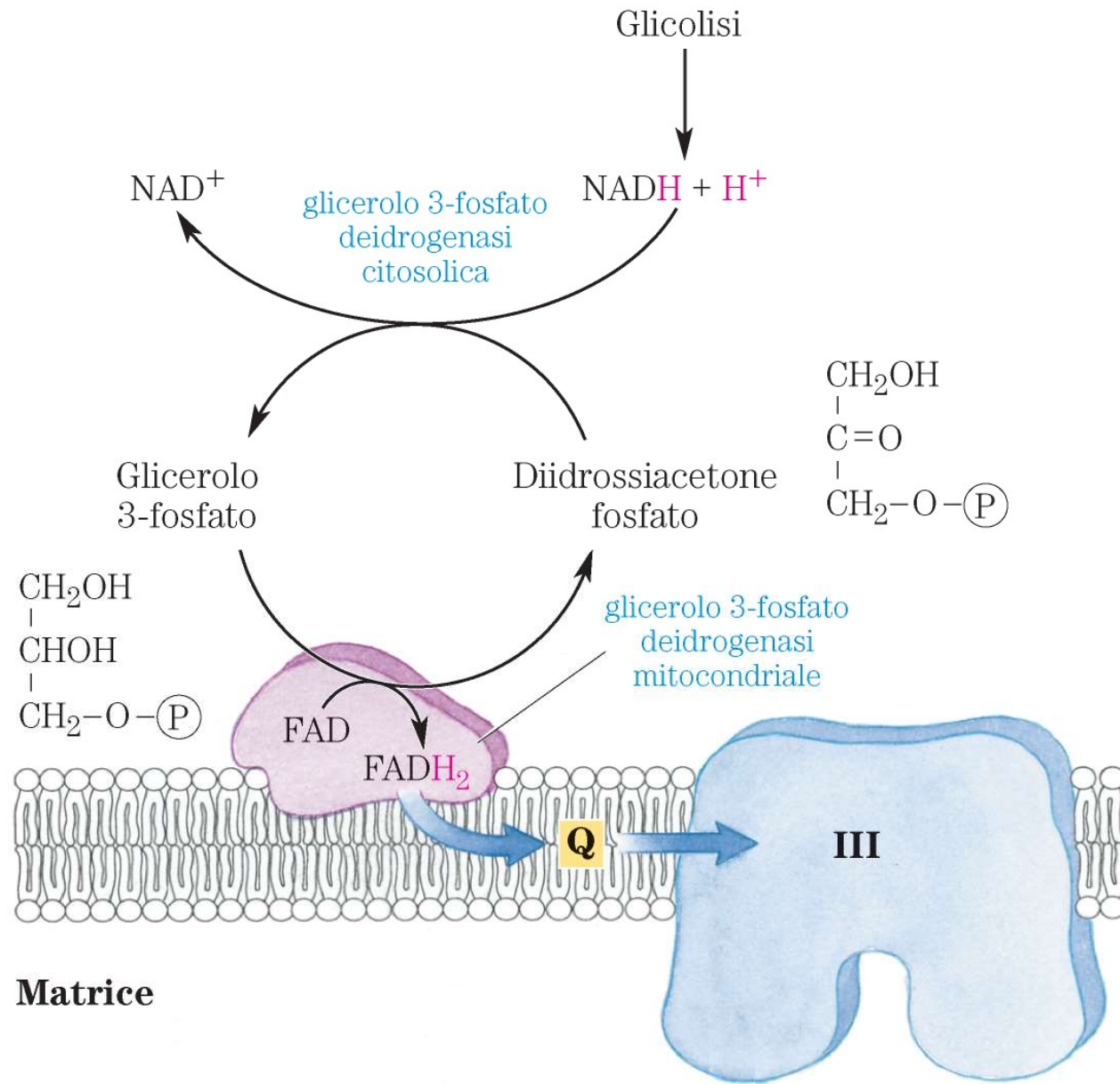
SISTEMI NAVETTA (“SHUTTLE”)

Gli elettroni vengono trasferiti ad un trasportatore che può attraversare la membrana

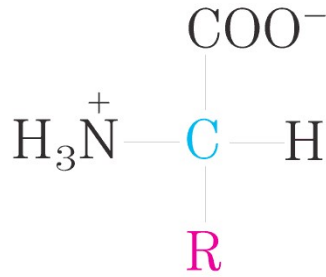
2 sistemi :

☞ Navetta del glicerolo fosfato (Muscolo e Cervello) → meno efficiente

☞ Navetta del malato-aspartato (tutti i tessuti)→ più efficiente



REAZIONE DI TRANSAMINAZIONE



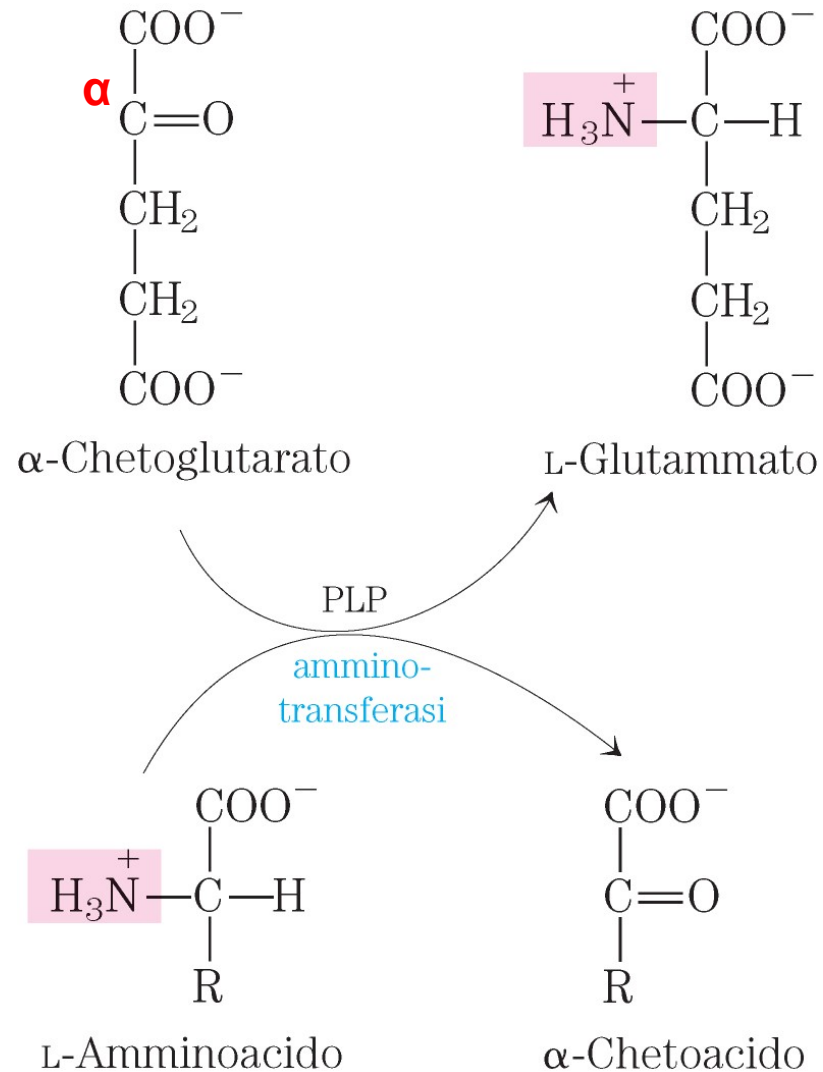
Il gruppo aminico degli aminoacidi viene trasferito al carbonio α dell' α -chetoglutarato

I prodotti sono

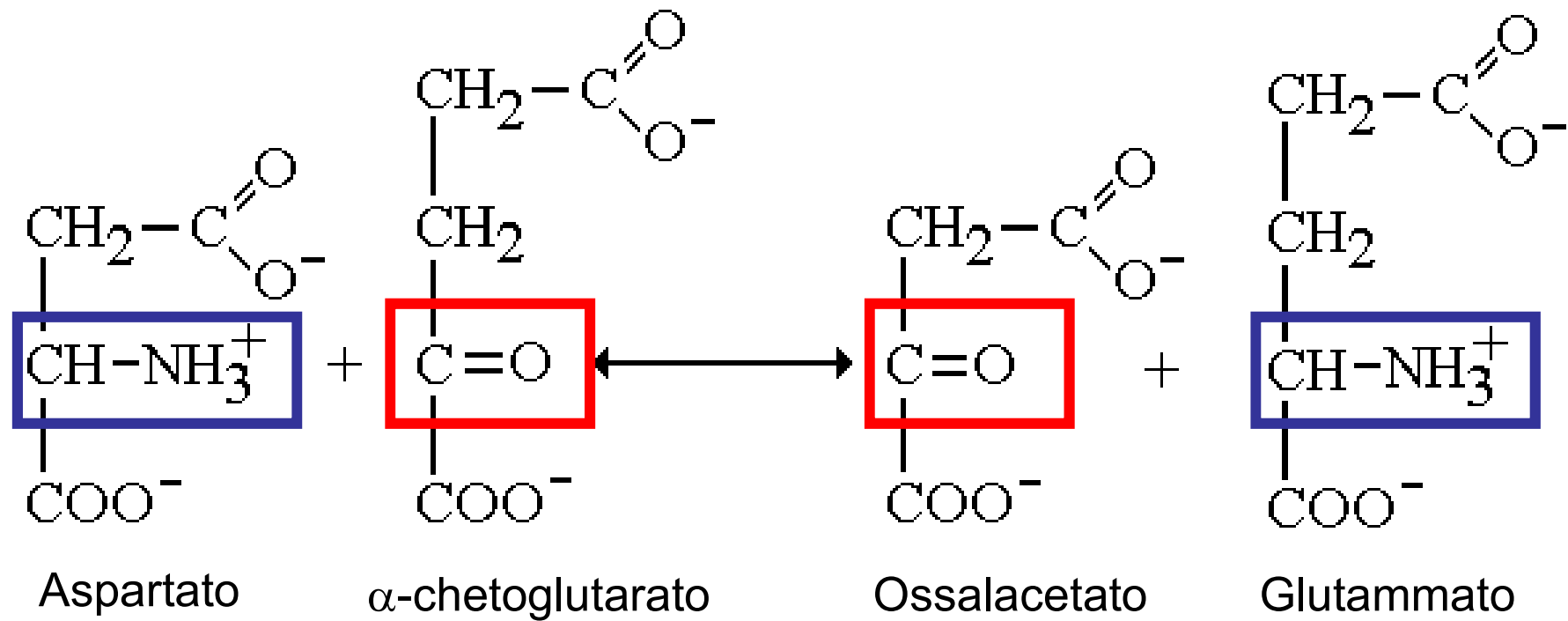
a) Glutammato

b) l' α -cheto acido del rispettivo aminoacido.

Reazione catalizzata dalle Amminotransferasi (Transaminasi)



TRANSAMINAZIONE



Il sistema navetta del malato-aspartato

