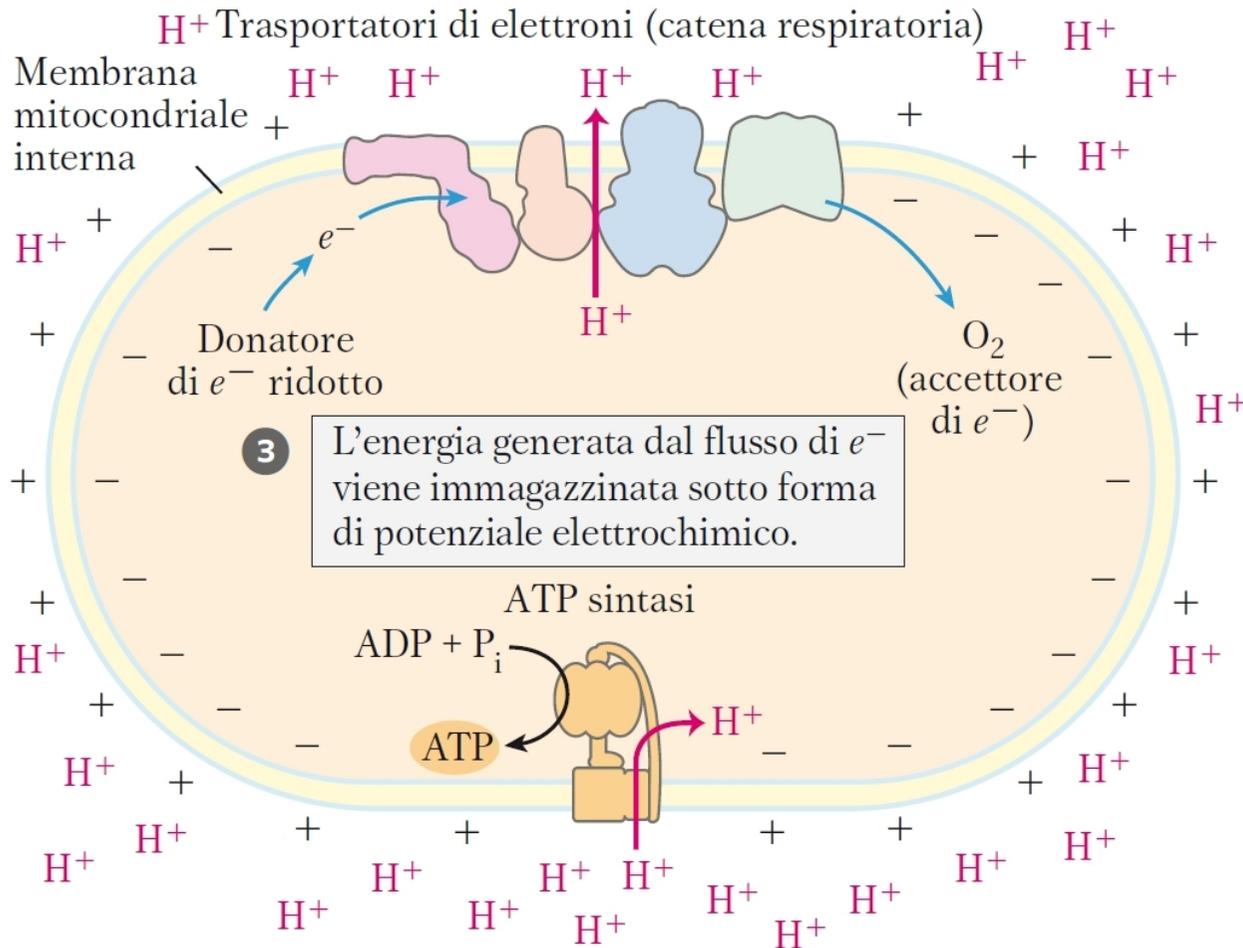


# Fosforilazione ossidativa

# Fosforilazione ossidativa: una visione d'insieme

1 Il substrato ridotto (combustibile metabolico) dona  $e^-$ .

2 I trasportatori di elettroni pompano all'esterno gli  $H^+$  quando gli elettroni fluiscono verso l' $O_2$ .

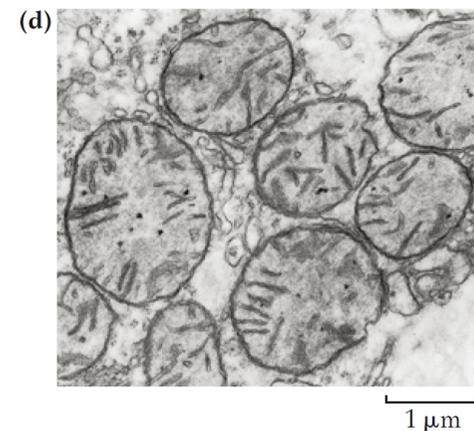
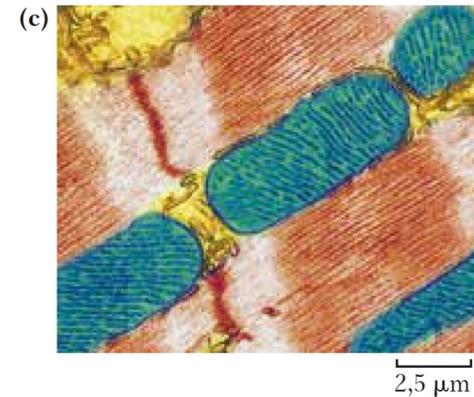
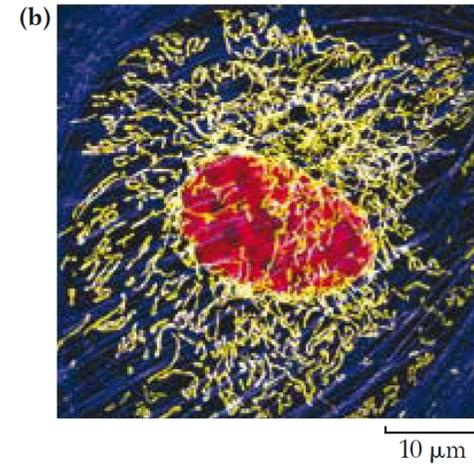
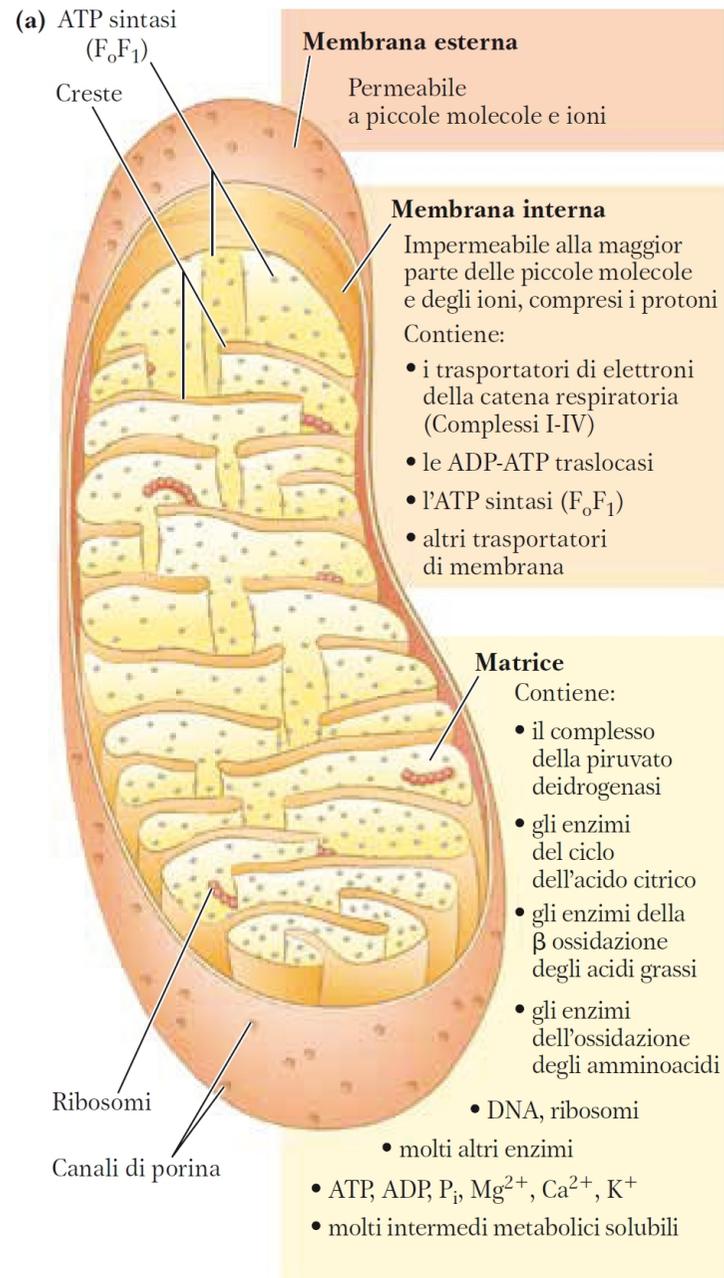


4 L'ATP sintasi utilizza il potenziale elettrochimico per sintetizzare ATP.

## Punti chiave:

- 1) Trasporto di elettroni;
- 2) Riduzione  $O_2$
- 3) Gradiente protonico
- 4) Potenziale elettrochimico
- 5) ATP sintasi

# I mitocondri: la centrale energetica della cellula



Punto di partenza: NADH e FADH<sub>2</sub> o FMNH<sub>2</sub>



Gli elettroni vengono “stoccati” su



(Nicotinammide adenin dinucleotide)



(Flavin adenin dinucleotide e Flavin mononucleotide)

Questi trasportatori di elettroni li cederanno alla catena di trasporto degli elettroni localizzata sulla membrana interna mitocondriale.

Da notare che non vi è libero passaggio di questi due trasportatori di elettroni tra citoplasma e matrice mitocondriale => strategie alternative => riduzione di molecole nel citoplasma, trasporto in mitocondrio e ossidazione

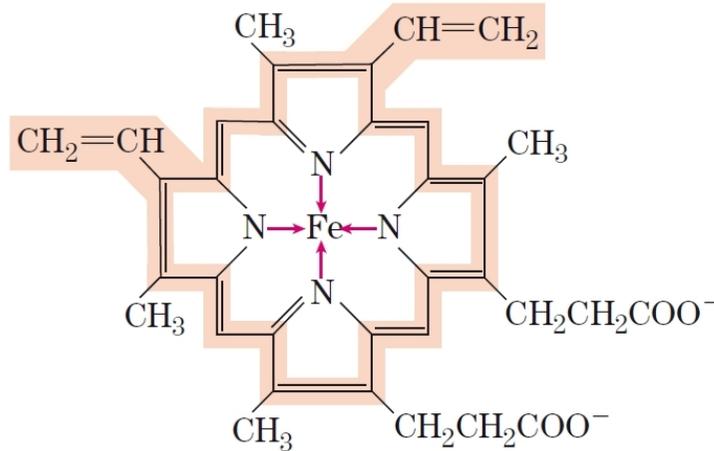
FAD e FMN sono legati saldamente alle loro deidrogenasi e il loro potenziale di ossidoriduzione dipende da questo stesso legame.



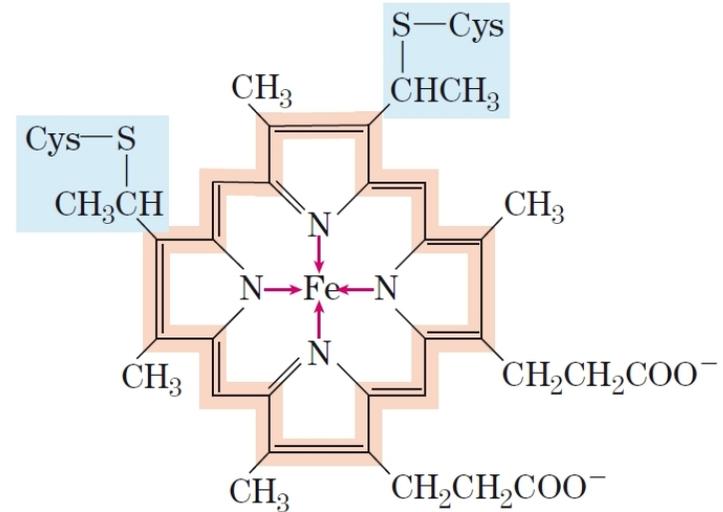
# Trasportatori di elettroni nella catena respiratoria (II)

## Citocromi (gruppo prostetico eme)

(a)

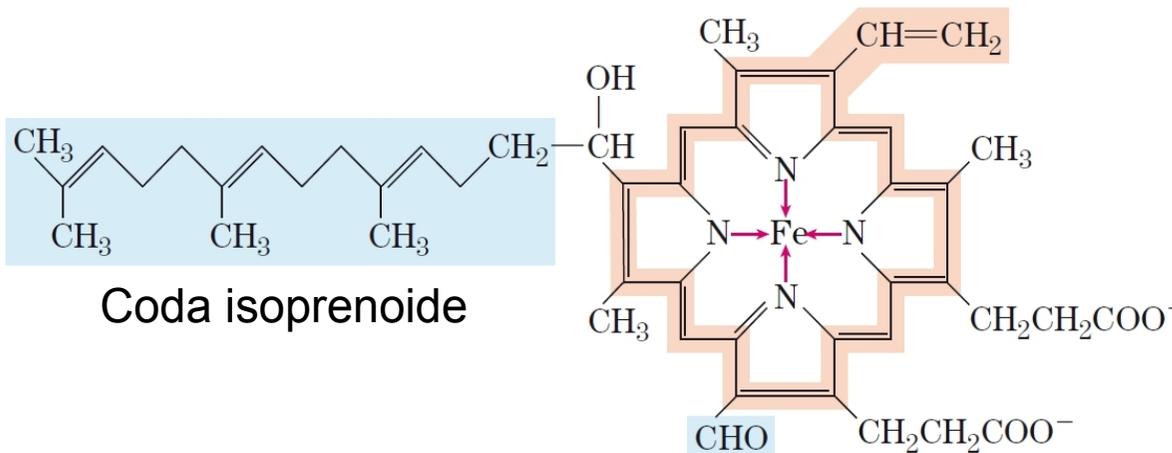


Ferro protoporfirina IX  
(nei citocromi di tipo *b*)



Eme *c*  
(nei citocromi di tipo *c*)

...ed anche nella mioglobina e emoglobina



Eme *a*  
(nei citocromi di tipo *a*)

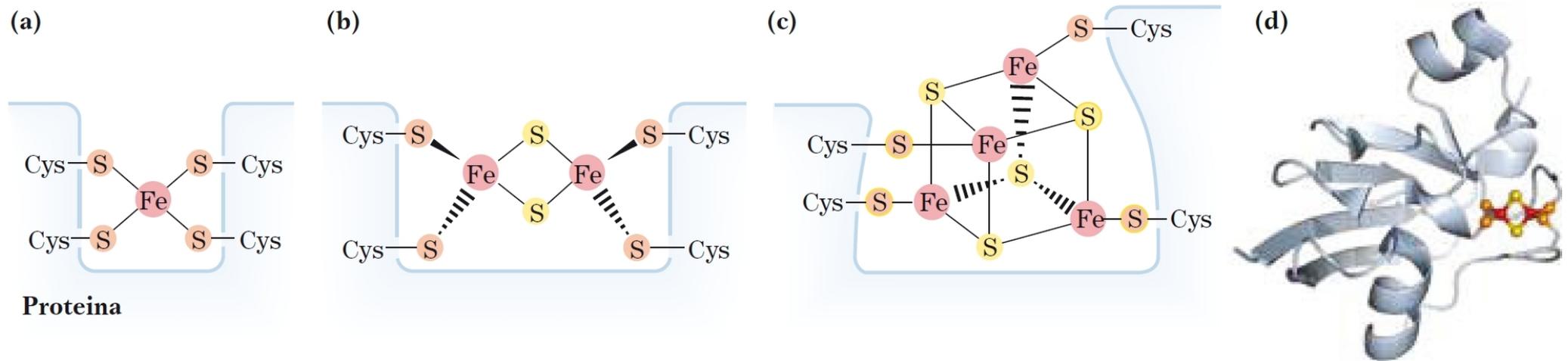
**Gruppi eme** differentemente sostituiti, legati covalentemente o meno alla porzione proteica. Proteine integrali di membrana (tranne il citocromo *c* che è legato tramite interazioni elettrostatiche alla porzione esterna della membrana mitocondriale interna e che è una proteina solubile.

# Trasportatori di elettroni nella catena respiratoria (III)

## Proteine FERRO-ZOLFO

Ferro coordinato sia da atomi di zolfo inorganico che da zolfo presente nelle cisteine.

Il potenziale di riduzione degli atomi di ferro dipende dalla proteina.

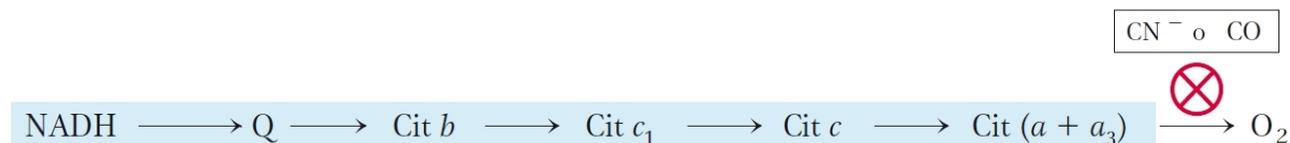
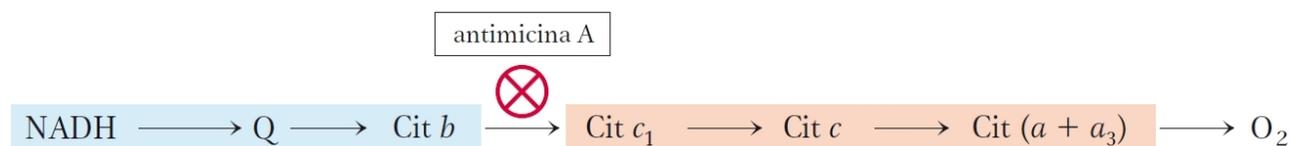
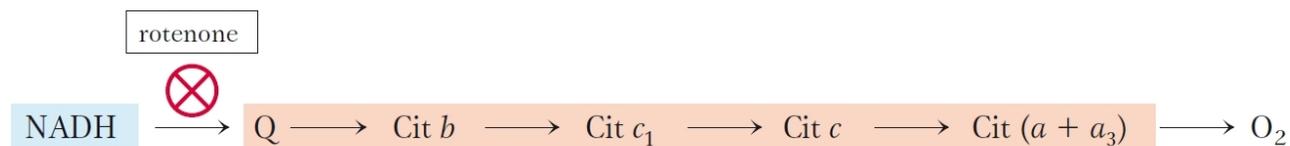


Il ferro (Fe) nei citocromi e nelle proteine ferro-zolfo può trovarsi nella forma  $\text{Fe}^{2+}$  o  $\text{Fe}^{3+}$

# Trasportatori di elettroni nella catena respiratoria

## Determinazione del percorso

- 1) Trasportatori in ordine crescente di potenziale di riduzione
- 2) Sistema del blocco e rilascio: si elimina l'ossigeno, tutti diventano ridotti (accumulo), poi si rilascia il sistema immettendo di nuovo ossigeno e si determina l'ordine temporale di ossidazione. Chi si ossida per primo è più vicino alla fine della catena di trasporto.
- 3) Metodo dell'utilizzo di inibitori. Inibendo un specifico passaggio si determina chi è ossidato (a valle - arancio) e chi è ridotto (a monte - azzurro). L'inibizione a livelli diversi permette di stabilire l'ordine.



## Standard Reduction Potentials of Respiratory Chain and Related Electron Carriers

Redox reaction (half-reaction)	$E'^{\circ}$ (V)
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$	-0.414
$\text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH}$	-0.320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADPH}$	-0.324
$\text{NADH dehydrogenase (FMN)} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NADH dehydrogenase (FMNH}_2\text{)}$	-0.30
$\text{Ubiquinone} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{ubiquinol}$	0.045
$\text{Cytochrome } b (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } b (\text{Fe}^{2+})$	0.077
$\text{Cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0.22
$\text{Cytochrome } c (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } c (\text{Fe}^{2+})$	0.254
$\text{Cytochrome } a (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } a (\text{Fe}^{2+})$	0.29
$\text{Cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + e^- \longrightarrow \text{cytochrome } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0.55
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816

**START**

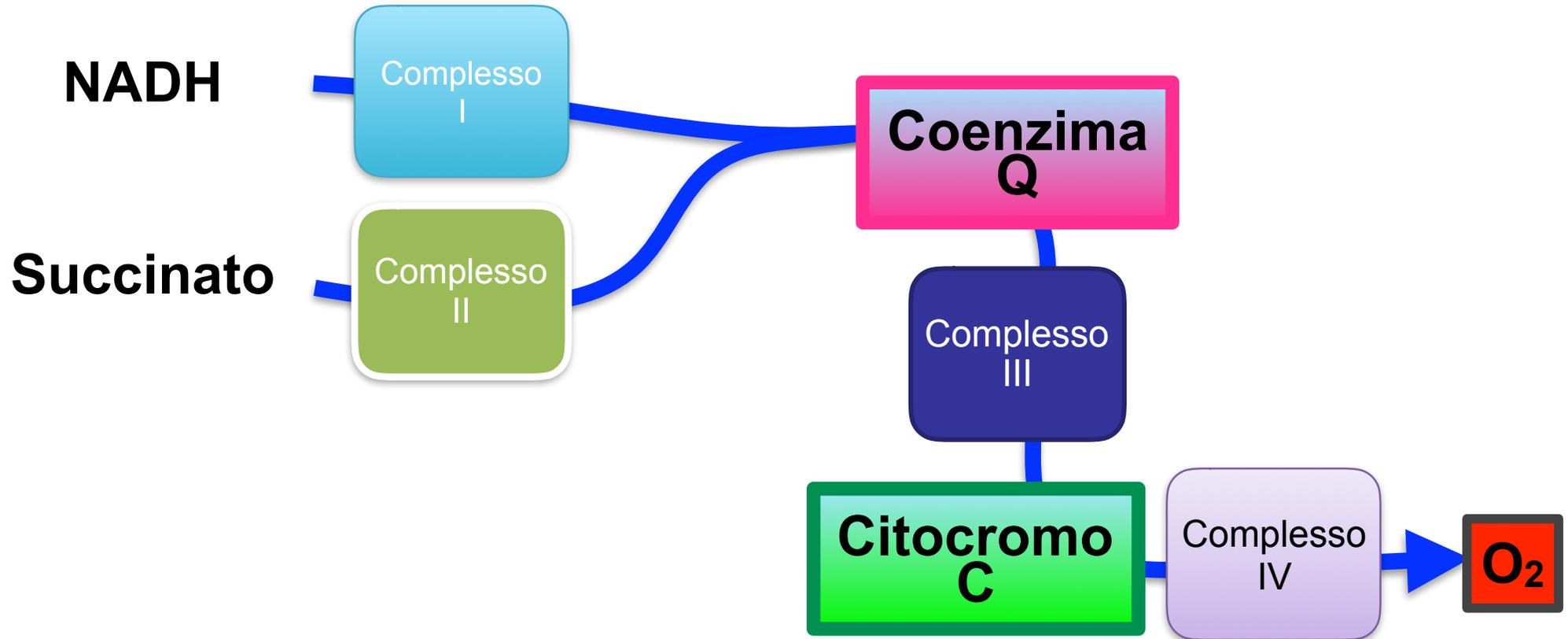


**END**

**NB1: effetto del contesto molecolare su potenziale di ossidoriduzione!**

**NB2: stiamo parlando di  $E'^{\circ}$  ...il reale potenziale di ossidoriduzione dipende dalla concentrazione dei substrati e dei prodotti!**

# Schema generale trasporto elettroni mitocondriale



Complesso I (45)

NADH deidrogenasi

Complesso II (4)

Succinato deidrogenasi

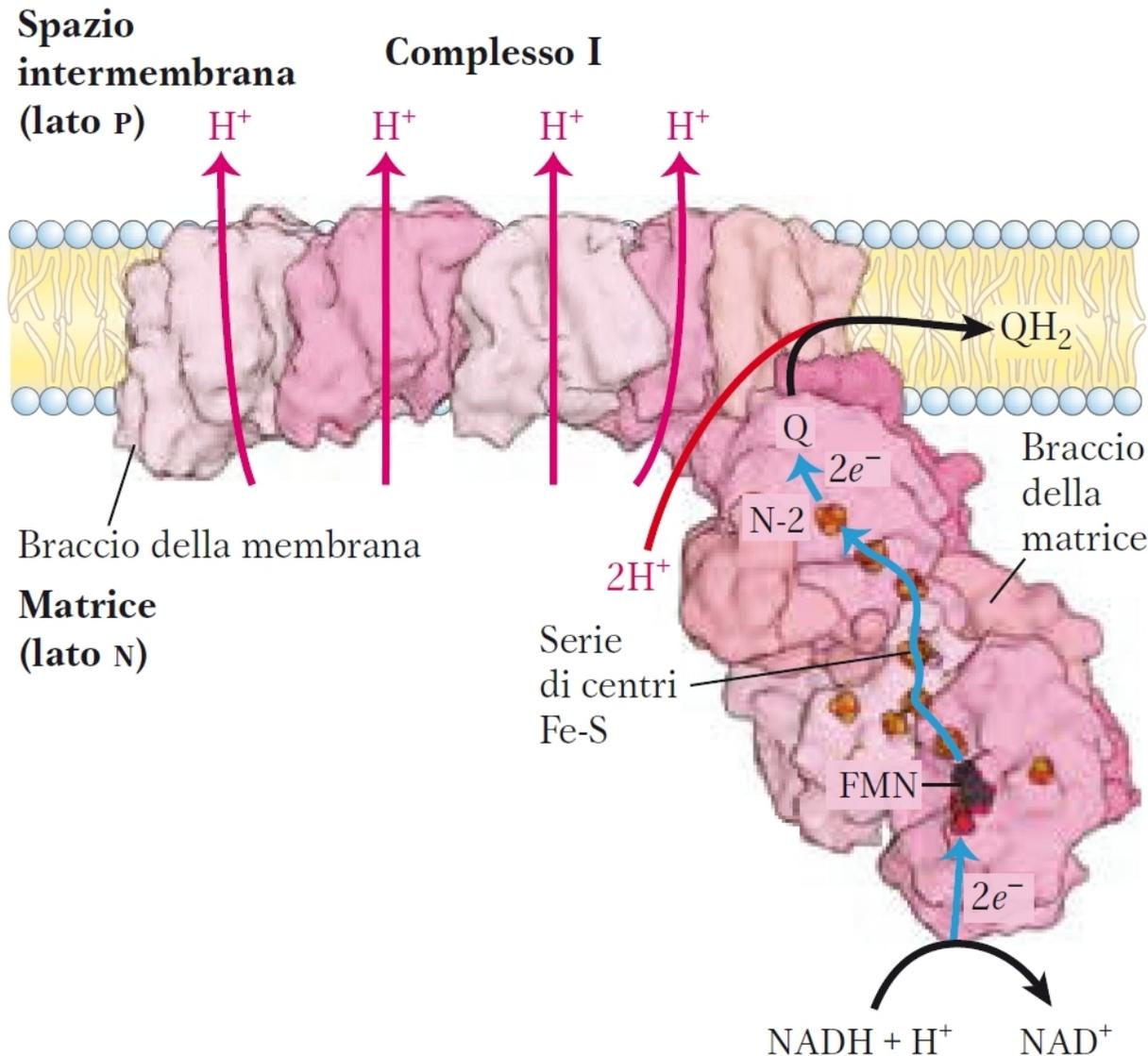
Complesso III (11)

Ubichinone (coenzimaQ):citocromo c ossidoreduttasi

Complesso IV (13)

Citocromo c ossidasi

# COMPLESSO I



- 1) Riduzione Q
- 2) Cambiamento conformazionale di tipo allosterico
- 3) Pompaggio protoni esterno

QH<sub>2</sub> diffonde verso complesso III

## Composizione

45 proteine tra cui

Una flavoproteina (FMN)

8 centri Fe-S

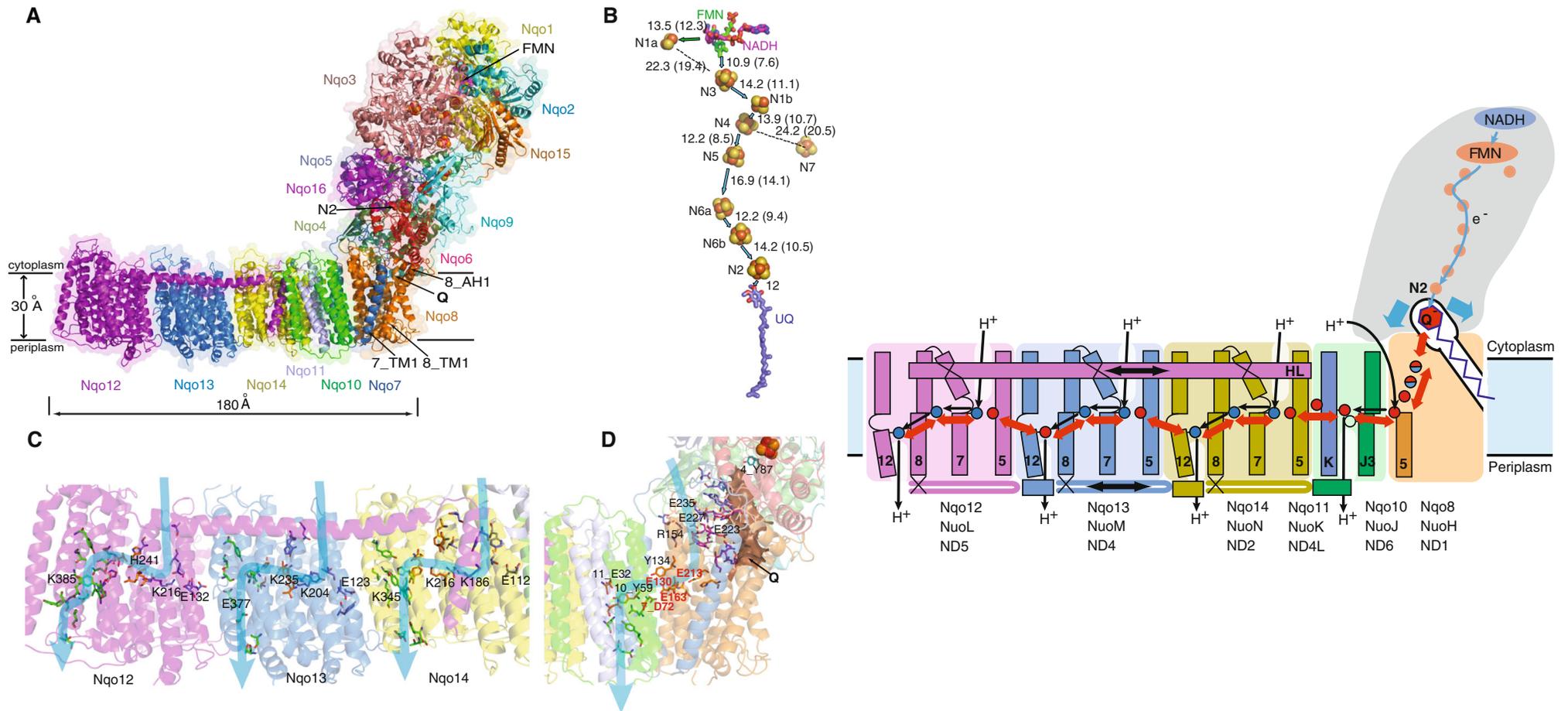
Forma L

Pompa Protonica (controgradiente)

**Reazione vettoriale** (H<sup>+</sup> spostati da matrice a spazio intermembrana)

Accoppiamento trasferimento e- con cambiamento conformazionale e relativo pompaggio H<sup>+</sup> all'esterno.

# COMPLESSO I - Accoppiamento riduzione Q - trasporto H<sup>+</sup>

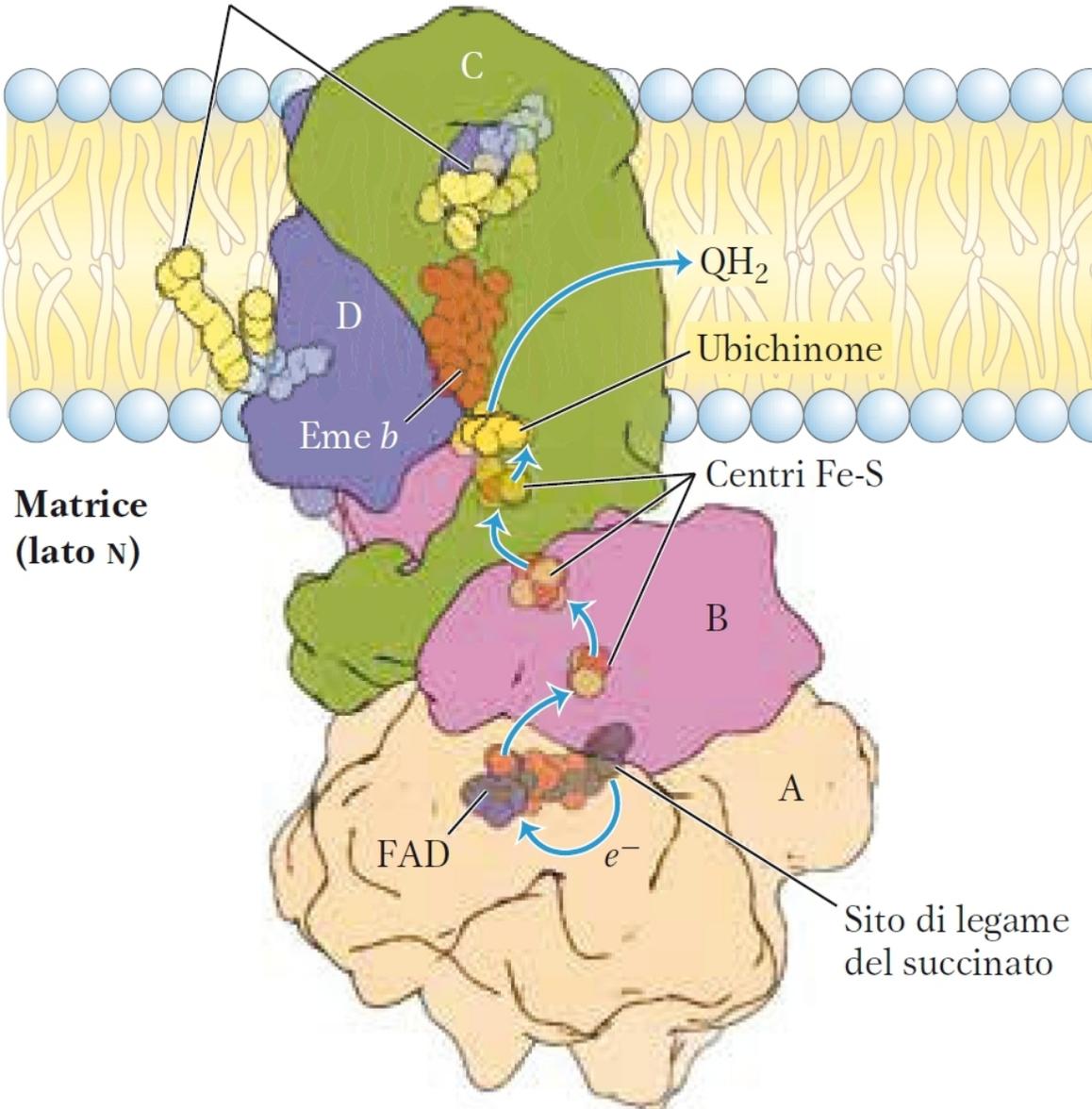


RIDUZIONE COFATTORE Q E SUO RILASCIO => CAMBIAMENTO CONFORMAZIONE CHE SI “DIFFONDE TRASVERSALMENTE” ALLE 4 PORZIONI COINVOLTE NEL TRASPORTO DI H<sup>+</sup> CHE SONO COSTITUITE DA SEMICANALI.

# COMPLESSO II (Succinato deidrogenasi)

Spazio intermembrana  
(lato P)

Fosfatidiletanolamina



Matrice  
(lato N)

Passaggio di elettroni non è accoppiato a pompaggio  $H^+$

Eme b non coinvolto nel trasporto di elettroni: svolge ruolo di protezione nei confronti della produzione di ROS (reactive oxygen species)

Rientra nel ciclo dell'acido citrico (passaggio succinato => fumarato. Questo implica la possibilità di **coordinare fosforilazione ossidativa con ciclo dell'acido citrico** (disponibilità di Q ossidato è limitante per il funzionamento di questo complesso e quindi anche per l'ossidazione del succinato).

## Composizione

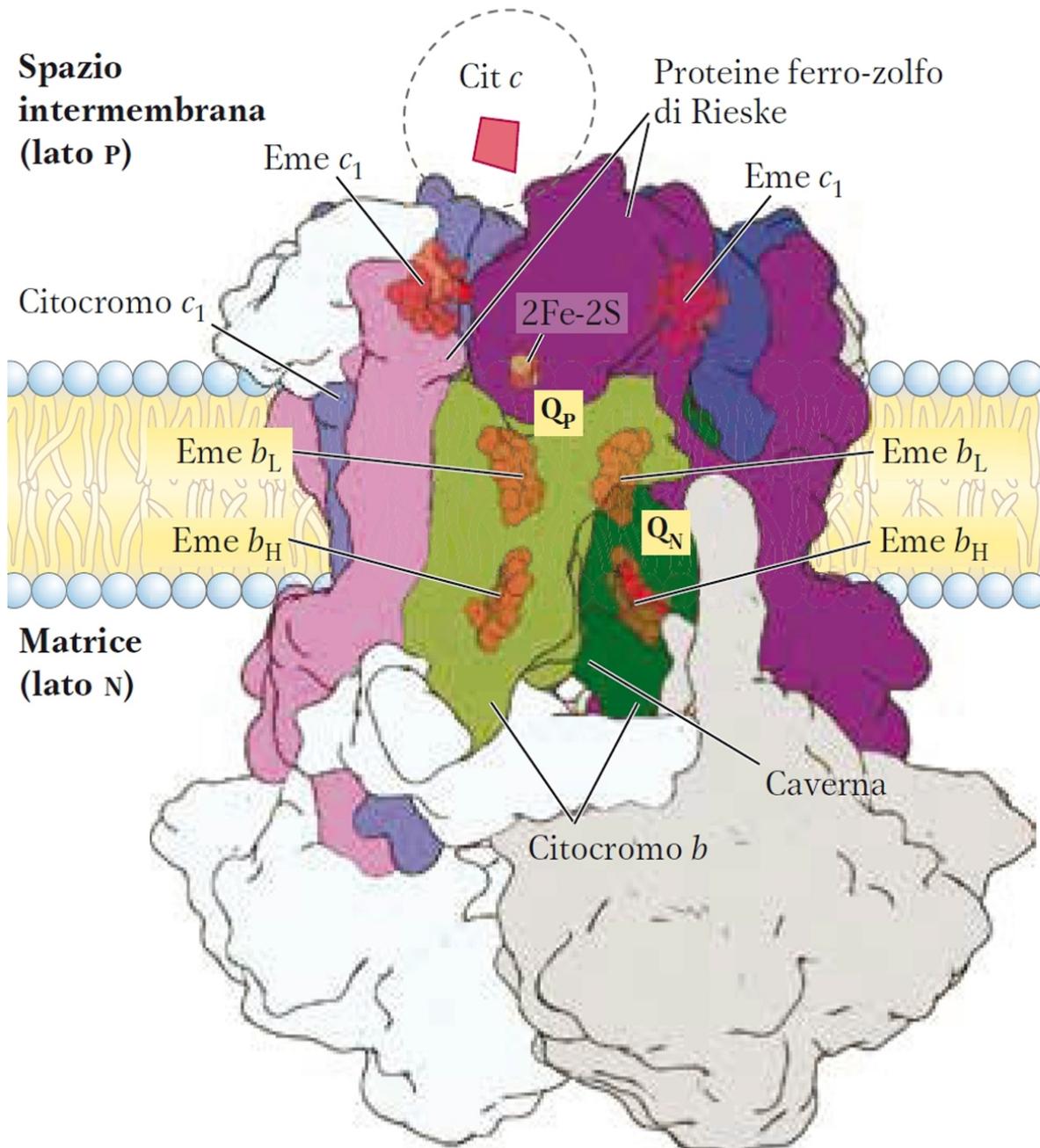
4 Subunità proteiche

C e D - proteine integrali di membrana.

Sono presenti un gruppo eme b, tre centri Fe-S e un FAD legato covalentemente

....complesso I e II => elettroni a Q!

# COMPLESSO III (complesso del citocromo bc<sub>1</sub>)



Elettroni da QH<sub>2</sub> a citocromo c

Passaggio di elettroni è accoppiato al pompaggio di H<sup>+</sup>

Sistema per accoppiare trasportatori di 2 elettroni (coenzima Q) con trasportatori di un elettrone (citocromo c)

**Composizione:**

2 monomeri da 11 subunità cad.

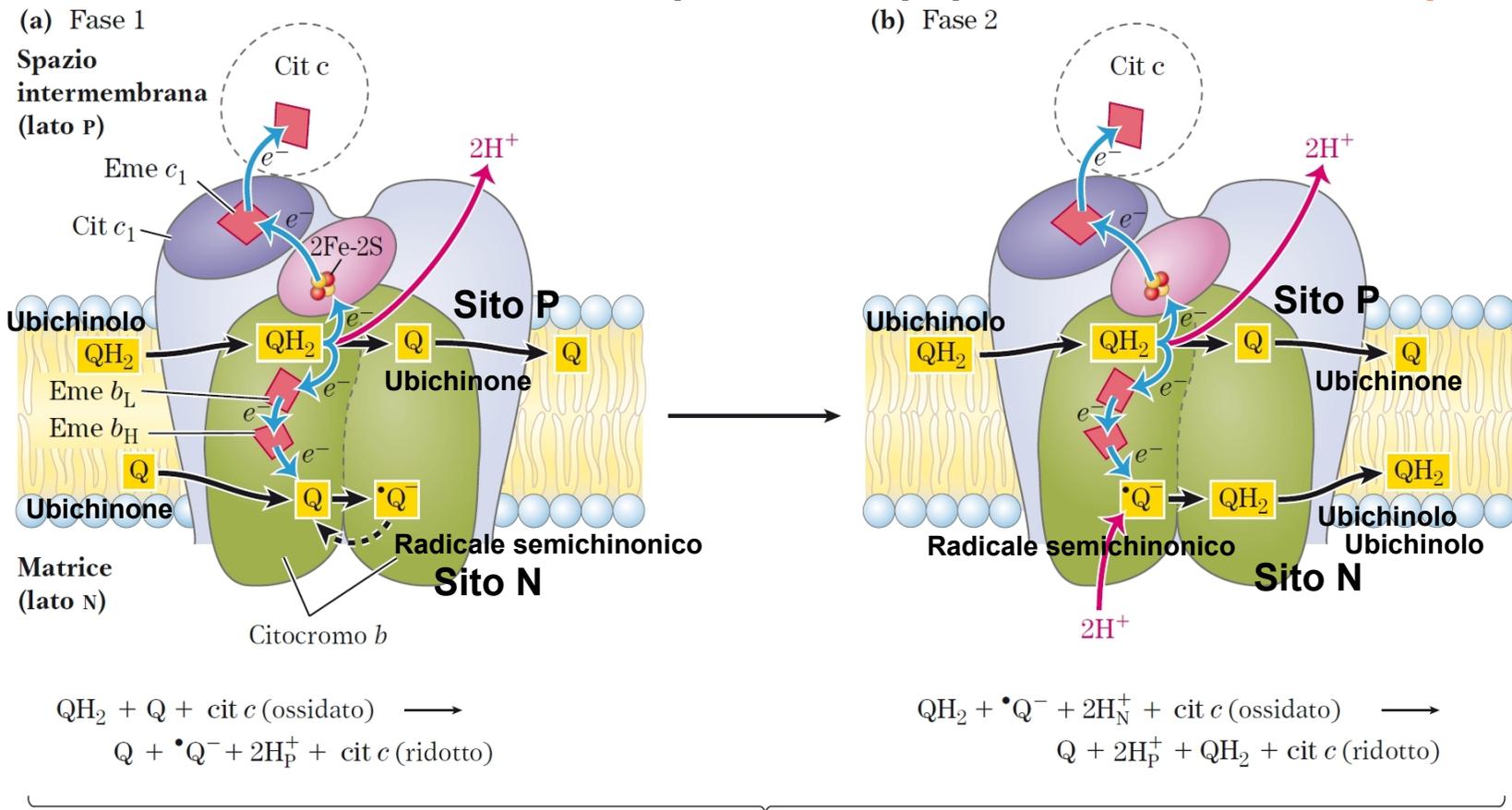
Proteine chiave:

Citocromo b (2 gruppi eme b<sub>H</sub> e b<sub>L</sub>)

Citocromo c<sub>1</sub>

Proteina Fe-S di Rieske

# COMPLESSO III (ciclo Q) ( $4 H^+$ all'esterno)



## Strategia passaggio trasportatore $2 e^-$ a trasportatore $1 e^-$

