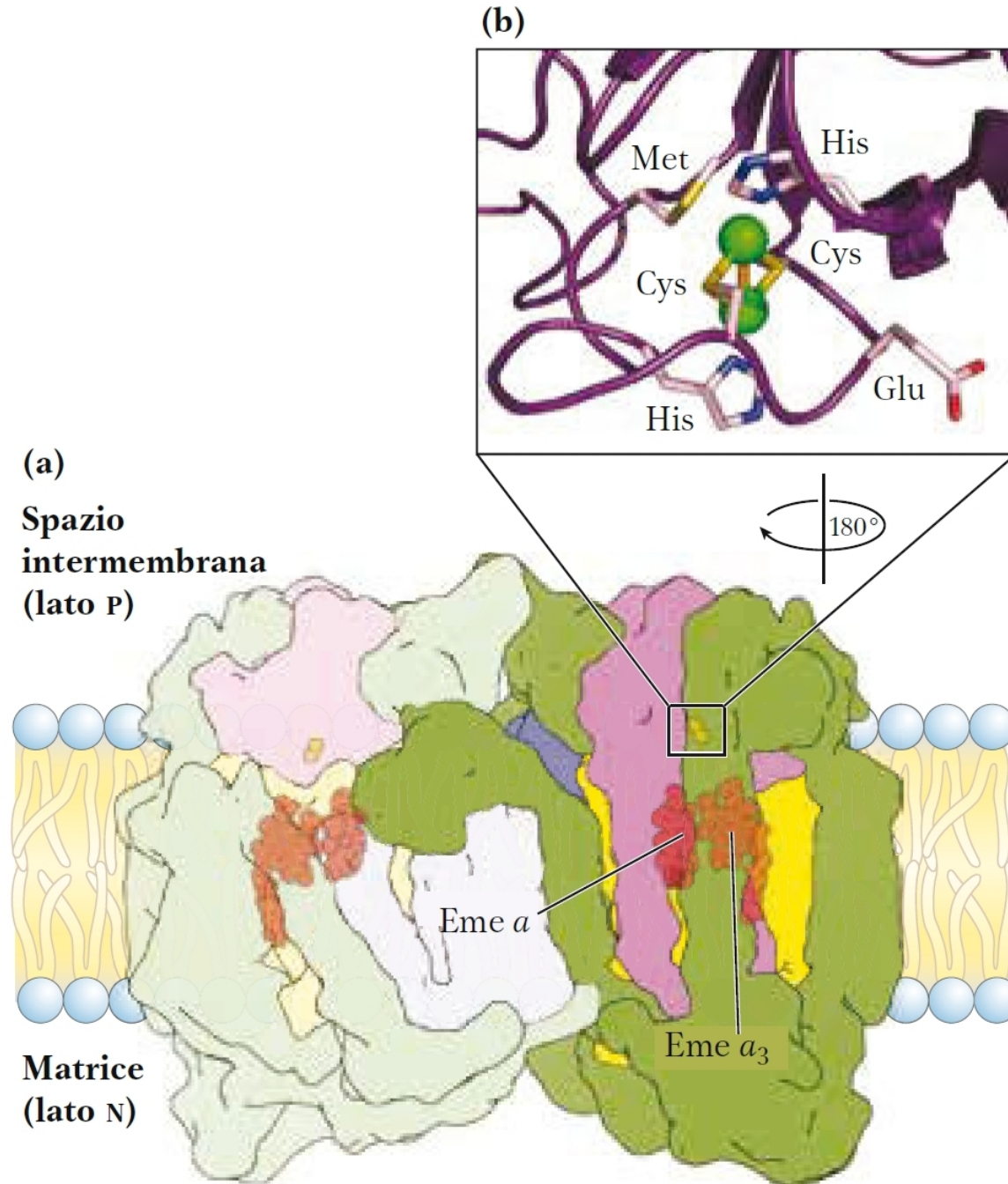


# COMPLESSO IV - Citocromo ossidasi



## Composizione:

2 monomeri da 13 subunità cad.

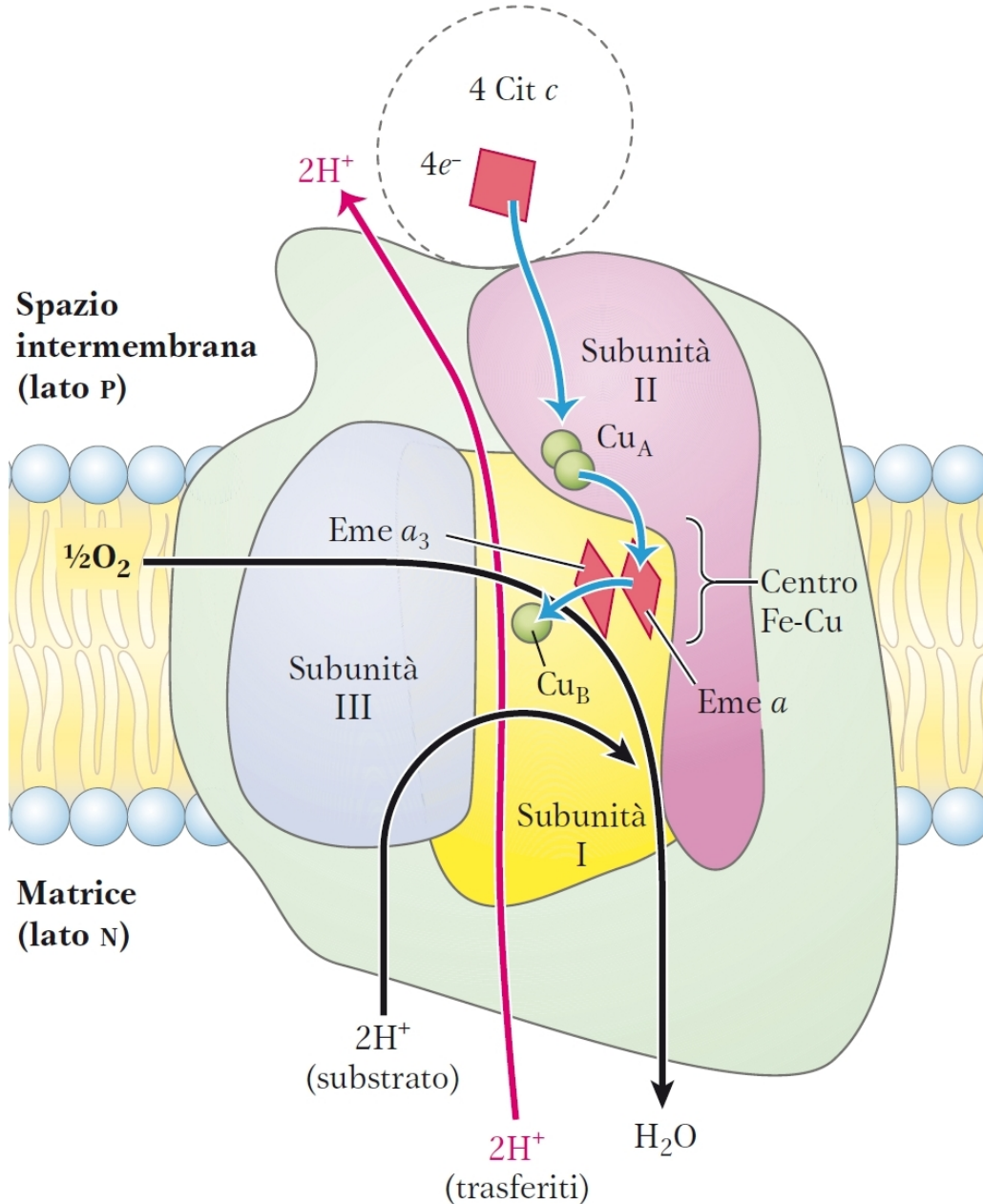
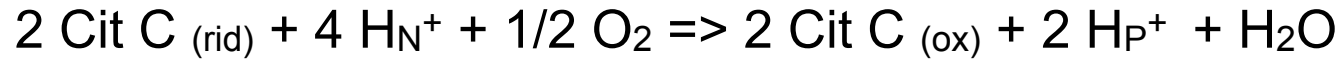
Proteine chiave:

Subunità I: 1 ione rame e due gruppi eme (*a* e *a*<sub>3</sub>) - (centro Cu<sub>B</sub> - con eme *a*<sub>3</sub>)

Subunità II: 2 ioni rame legati a SH di Cys (centro Cu<sub>A</sub>)

Subunità III: essenziale ma ruolo ancora non definito.

# COMPLESSO IV



Percorso elettronico:

Cit C  $\Rightarrow$  centro  $\text{Cu}_A$   
centro  $\text{Cu}_A \Rightarrow$  eme a  
Eme a  $\Rightarrow$  centro  $a_3\text{-Cu}_B$   
centro  $a_3\text{-Cu}_B \Rightarrow \text{O}_2$

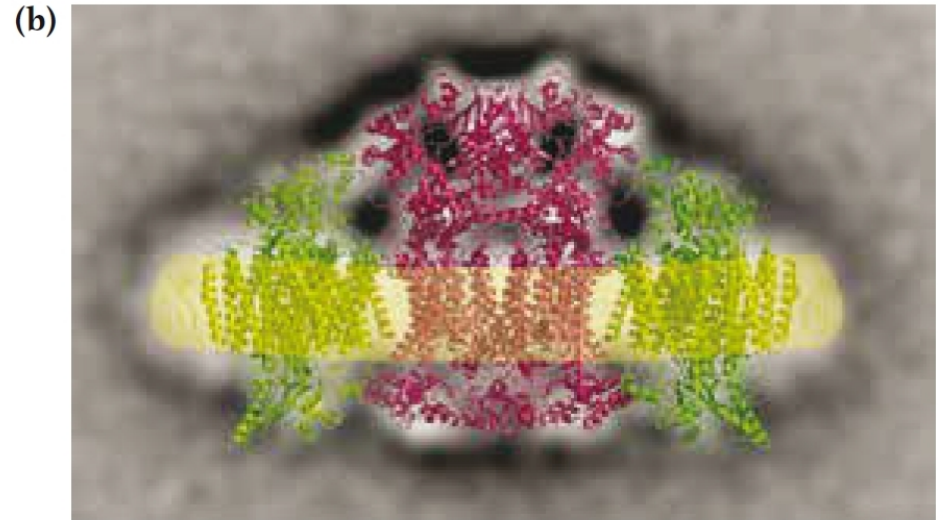
**!!! 1 elettrone alla volta  $\Rightarrow$   
Si formano specie reattive dell' $\text{O}_2$   
che solitamente rimangono saldamente legate al complesso fino alla formazione di acqua, ma che possono anche "scappare"...  
costituendo una fonte**

# Respirosomi

## Esempio del complesso III e IV



Immagine ottenuta mediante microscopia crioelettronica.

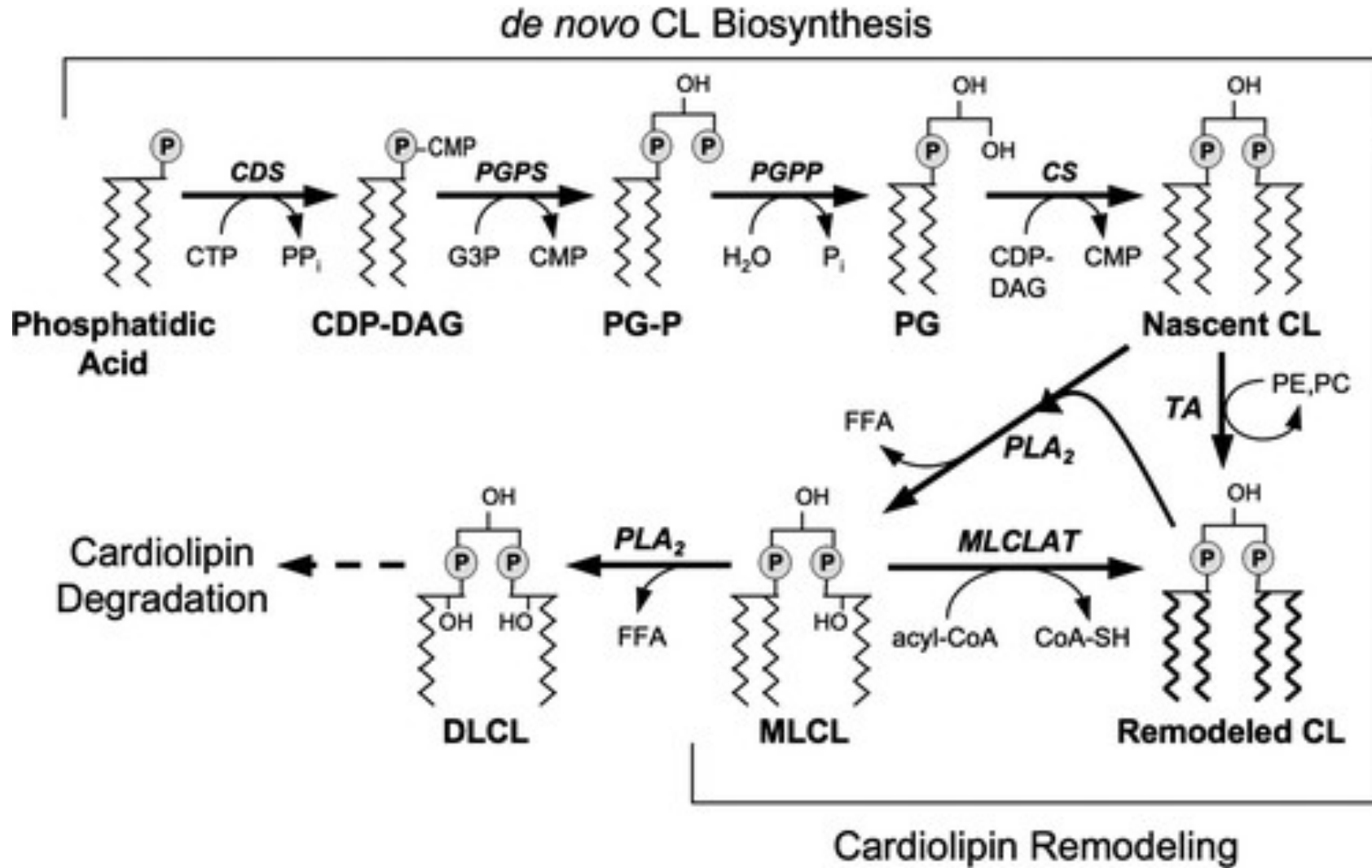


Sovrapposizione strutture cristallografiche all'immagine ottenuta mediante microscopia crioelettronica.

La cinetica di trasferimento degli elettroni supporta una condizione in cui i complessi coinvolti nel trasferimento degli elettroni nella catena respiratoria sono strettamente associati uno all'altro. Se così non fosse i tempi di trasferimento si dilaterrebbero in quanto sia l'ubichinone che il citocromo c dovrebbero avere necessità di diffondere per consentire il passaggio di elettroni. **CONCETTO di TRASFERIMENTO del SUBSTRATO/PRODOTTO.**

# Cardiolipina

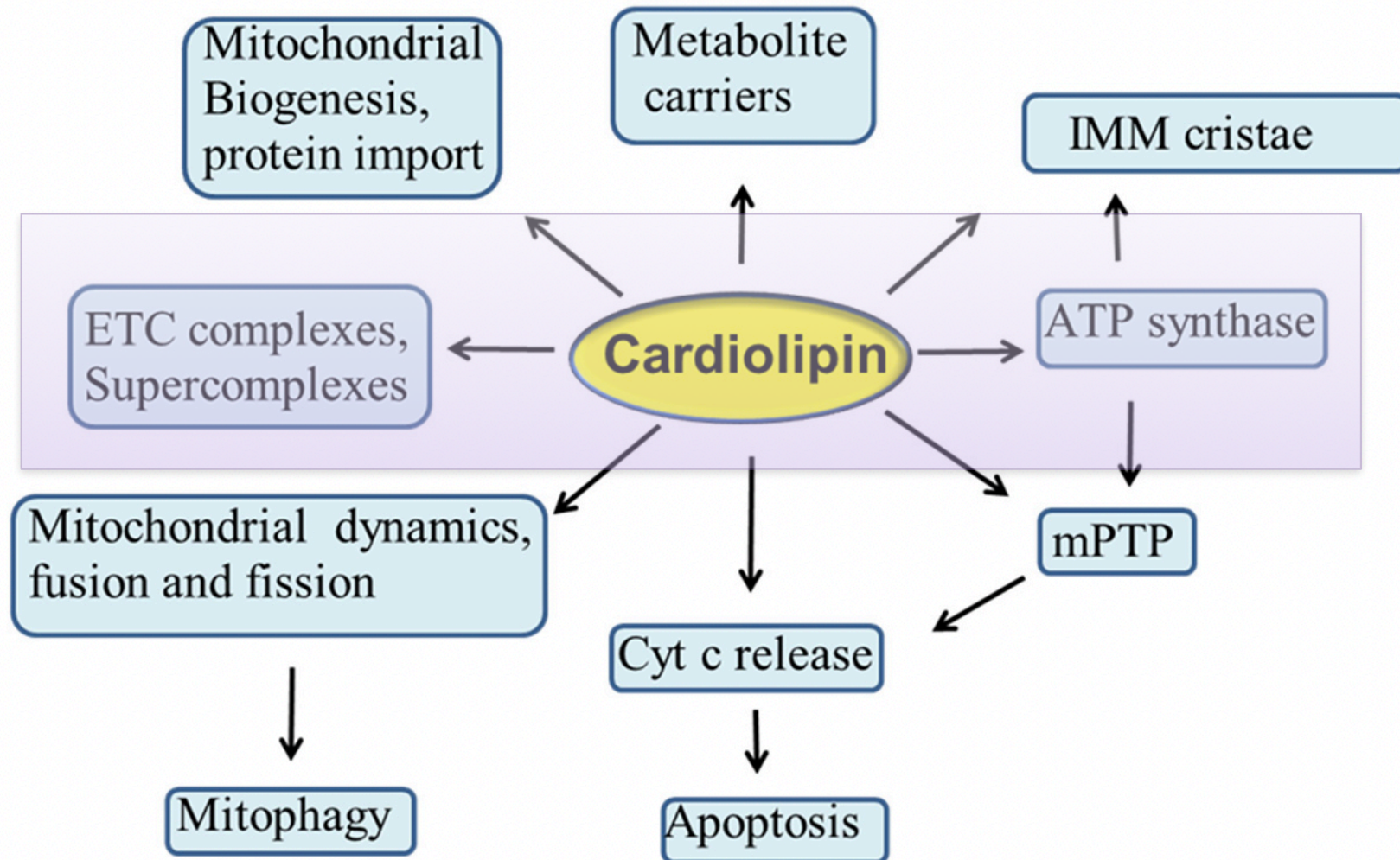
(lipide particolarmente abbondante sulla membrana mitocondriale interna)



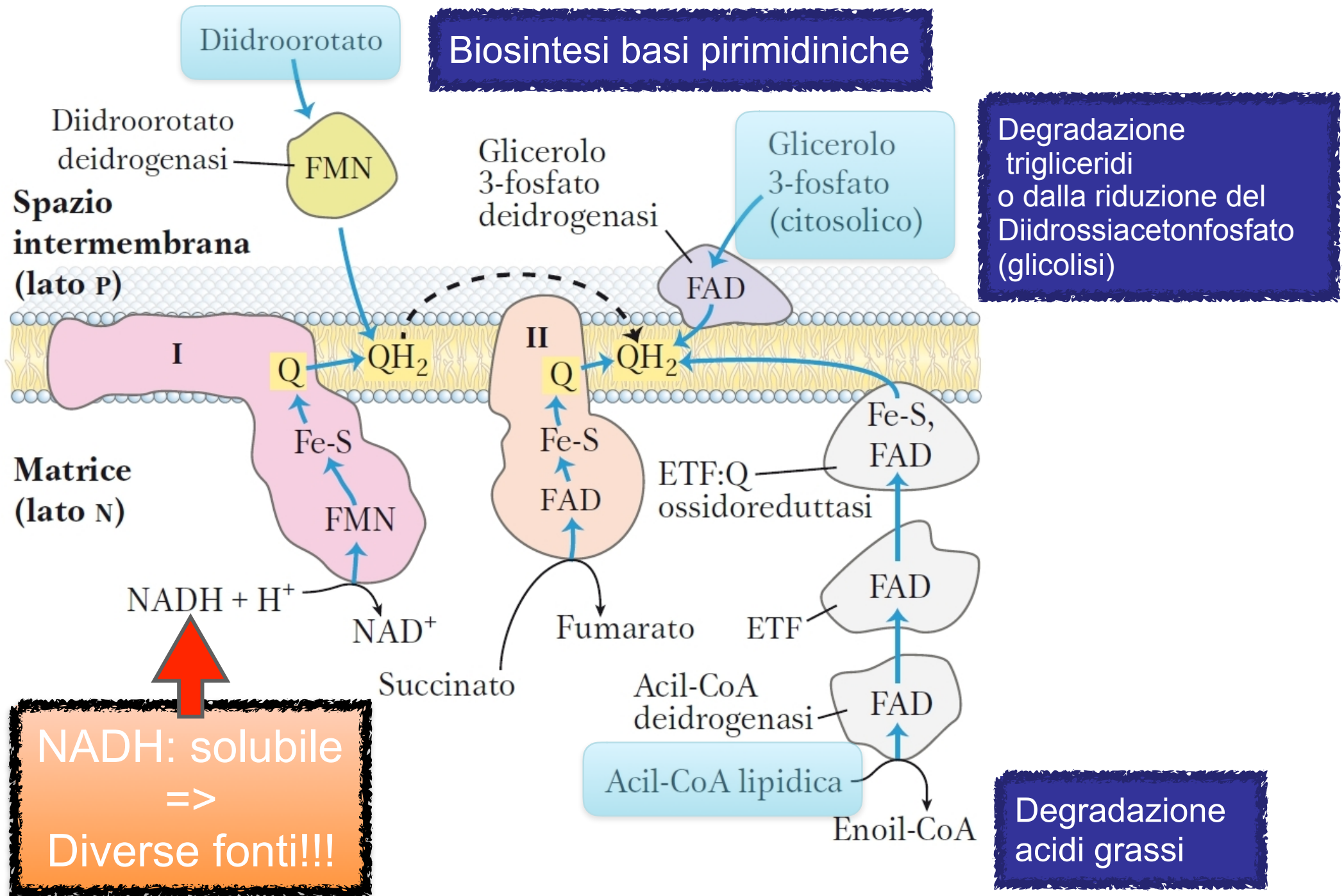
Cardiolipin interacts with all the ETC complexes and it is required for their structural integrity and proper enzymatic activity.

CL is specifically required for association, stabilization and functioning of individual complexes into supercomplexes.

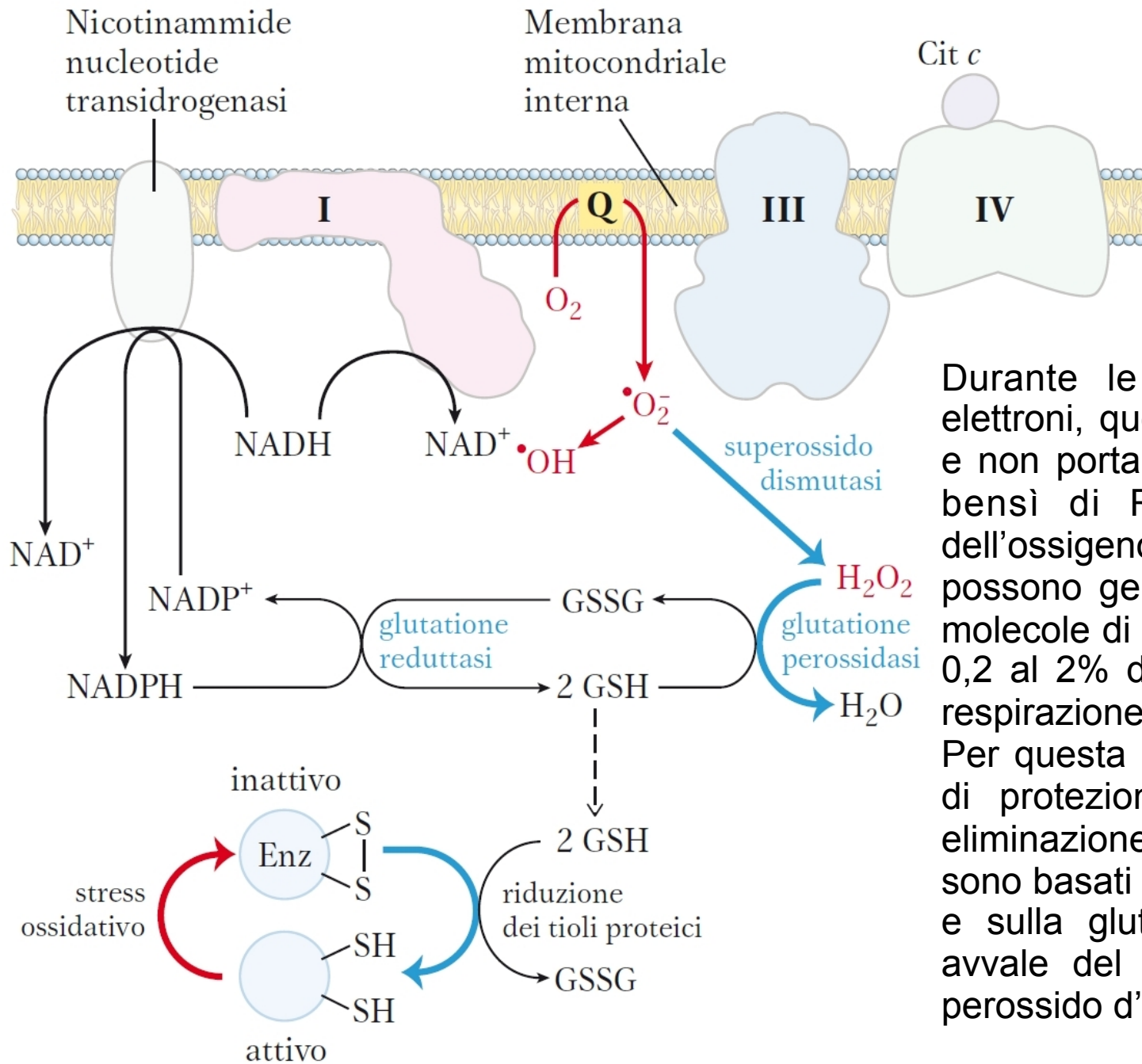
CL appears to be critical for the oligomerization and order in these ATP-synthase assemblies



# ...non solo NADH e succinato....altre porte d'ingresso di elettroni per la catena respiratoria - bypass Complesso I e II



# ROS: reactive oxygen species



Durante le fasi del trasporto degli elettroni, questi possono arrivare all' $O_2$  e non portare alla generazione di  $H_2O$  bensì di ROS (specie radicaliche dell'ossigeno altamente reattive) che possono generare danni a livello delle molecole di DNA, lipidi e proteine (dallo 0,2 al 2% dell'ossigeno utilizzato nella respirazione forma radicali liberi).

Per questa ragione ci sono dei sistemi di protezione che portano alla loro eliminazione, e che sostanzialmente sono basati sulla superossido dismutasi e sulla glutazione perossidasi che si avvale del glutazione per eliminare il perossido d'ossigeno.

Trasporto di elettroni e generazione di un gradiente protonico  
=> accumulo energetico (forza motrice protonica)

Ragionamento (prima parte):

Riduzione dell'O<sub>2</sub> ad opera del NADH



Sappiamo che è possibile ricavare il  $\Delta G'^{\circ}$  dal  $\Delta E'^{\circ}$

$$\Delta G'^{\circ} = -nF\Delta E'^{\circ}$$

E'<sup>°</sup>: potenziale di riduzione - vedere tabella  
riportata in precedenza, n numero di elettroni), F  
costante di Faraday

$$\Delta G'^{\circ} = -220\text{kJ/mole}$$

(nel caso la concentrazione di NADH e NAD<sup>+</sup> siano pari a 1M)

In effetti la concentrazione di NADH è maggiore di quella di NAD<sup>+</sup>, quindi il  $\Delta G$  è in effetti di entità maggiore.



## Ragionamento (seconda parte):

$$\Delta G = \Delta G' + RT \ln ([P]/[S])$$

se la reazione è un trasporto non vi sono cambiamenti nella struttura tra P e S  $\Rightarrow \Delta G' = 0$   
(circa)

$\Delta G = RT \ln ([P]/[S])$  e P ed S sono in effetti le concentrazioni ai due lati della membrana  
(C2 (esterno) e C1 (interno)).

Se la molecola è uno ione, entra in gioco anche il potenziale elettrico  
 $\Rightarrow$

$$\Delta G = RT \ln \frac{C2}{C1} + ZF \Delta \psi$$

**Variazione di energia libera dovuta alla formazione di un gradiente elettrochimico)**  
( $\psi$  = potenziale elettrico transmembrana espresso in volt).

Nel nostro caso il gradiente è un **gradiente protonico**

Ricordiamo che  $RT \ln C2/C1 = 2,3RT (\log[H^+_{P}] - \log[H^+_{N}]) \Rightarrow = 2,3RT \Delta \text{pH}$ .

Per una mole di protoni trasferiti considerando una differenza di pH pari a **0,75 unità (misurata)** e una differenza di potenziale pari a **0,15 V (misurato)**

$\Rightarrow$

**$\Delta G$  pari a 19 kJ/mole**

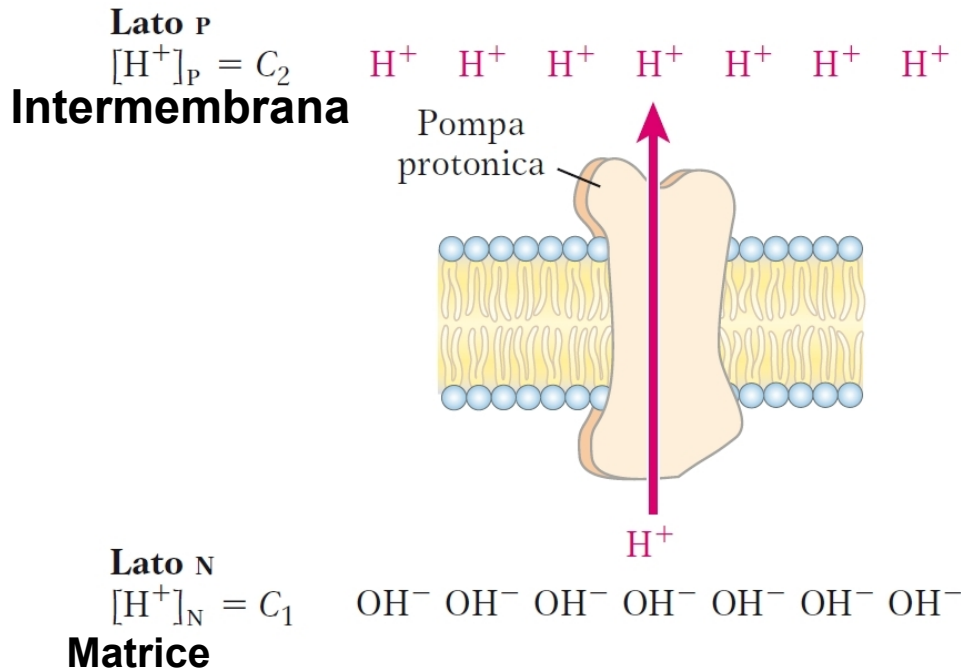
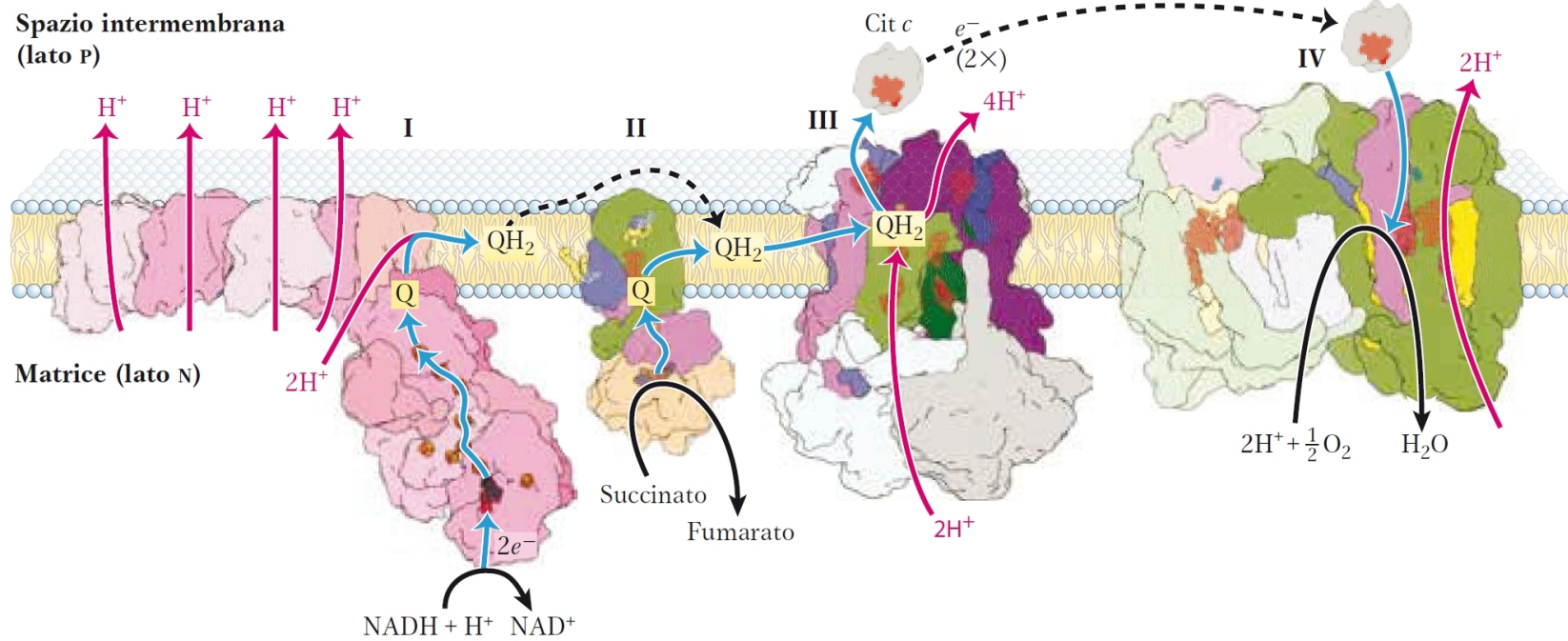
Considerando che **con una molecola di NADH vengono trasferiti 10 protoni**

$\Rightarrow$

**190 kJ**

Da questo se ne deduce che dei 220 kJ, 190 kJ sono stati spesi per generare il gradiente

# Trasporto di elettroni e generazione di un gradiente protonico => accumulo energetico (forza motrice protonica)



$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1) + ZF\Delta\psi$$

$$= 2,3RT \Delta pH + F\Delta\psi$$

Forza motrice protonica:  
 Due componenti:

- 1) Diversa concentrazione
- 2) Separazione di carica