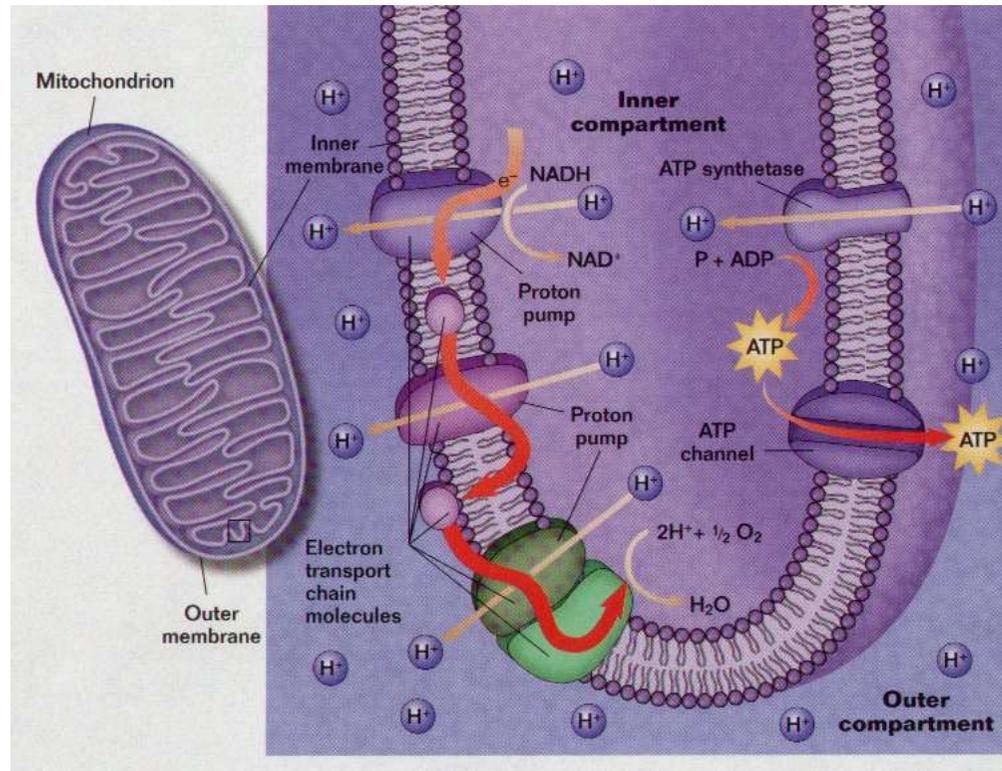
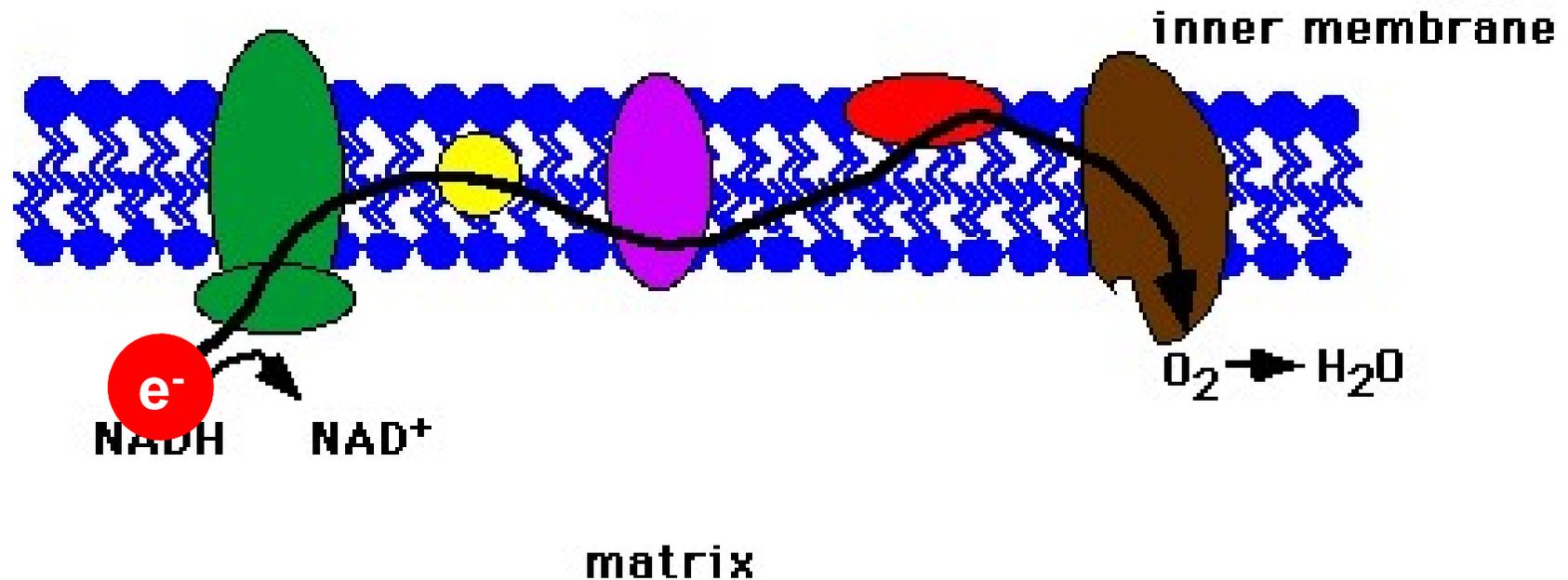


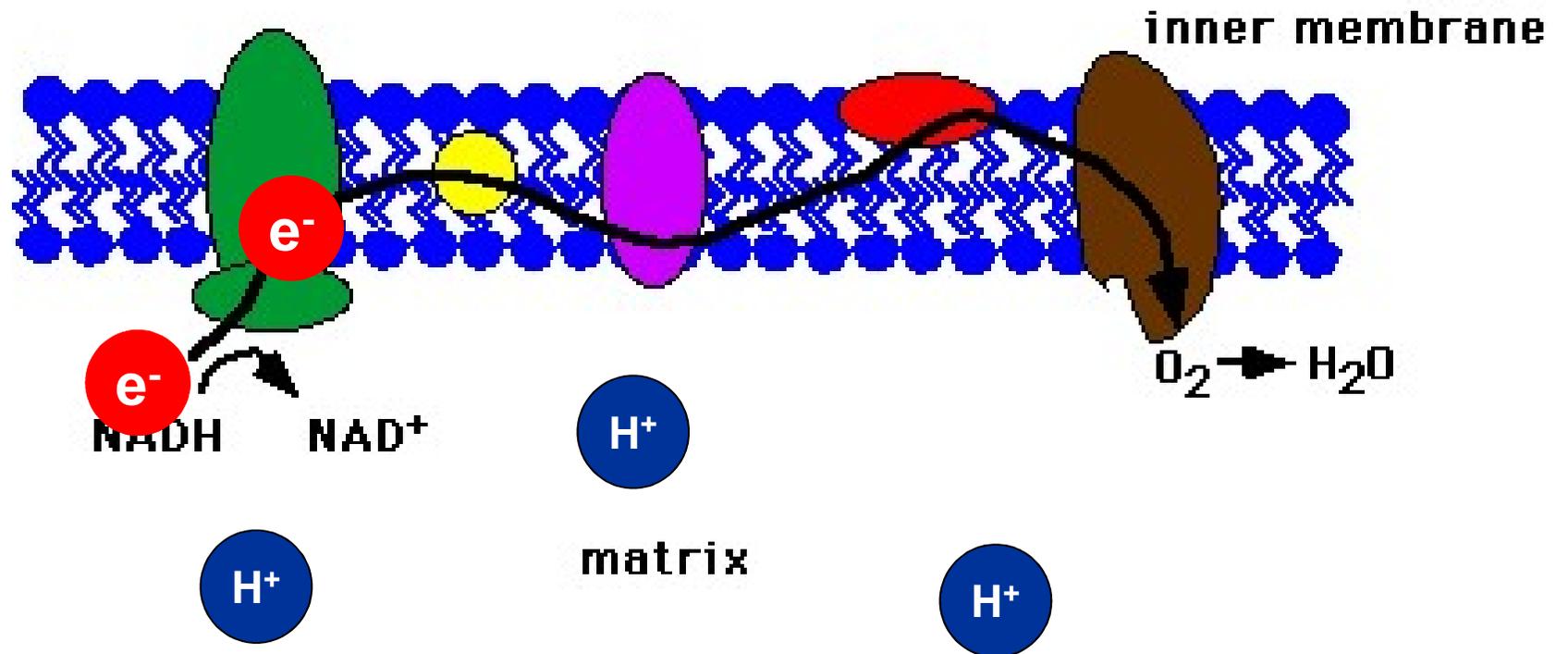
Catena di trasporto degli elettroni (catena respiratoria) e Fosforilazione ossidativa



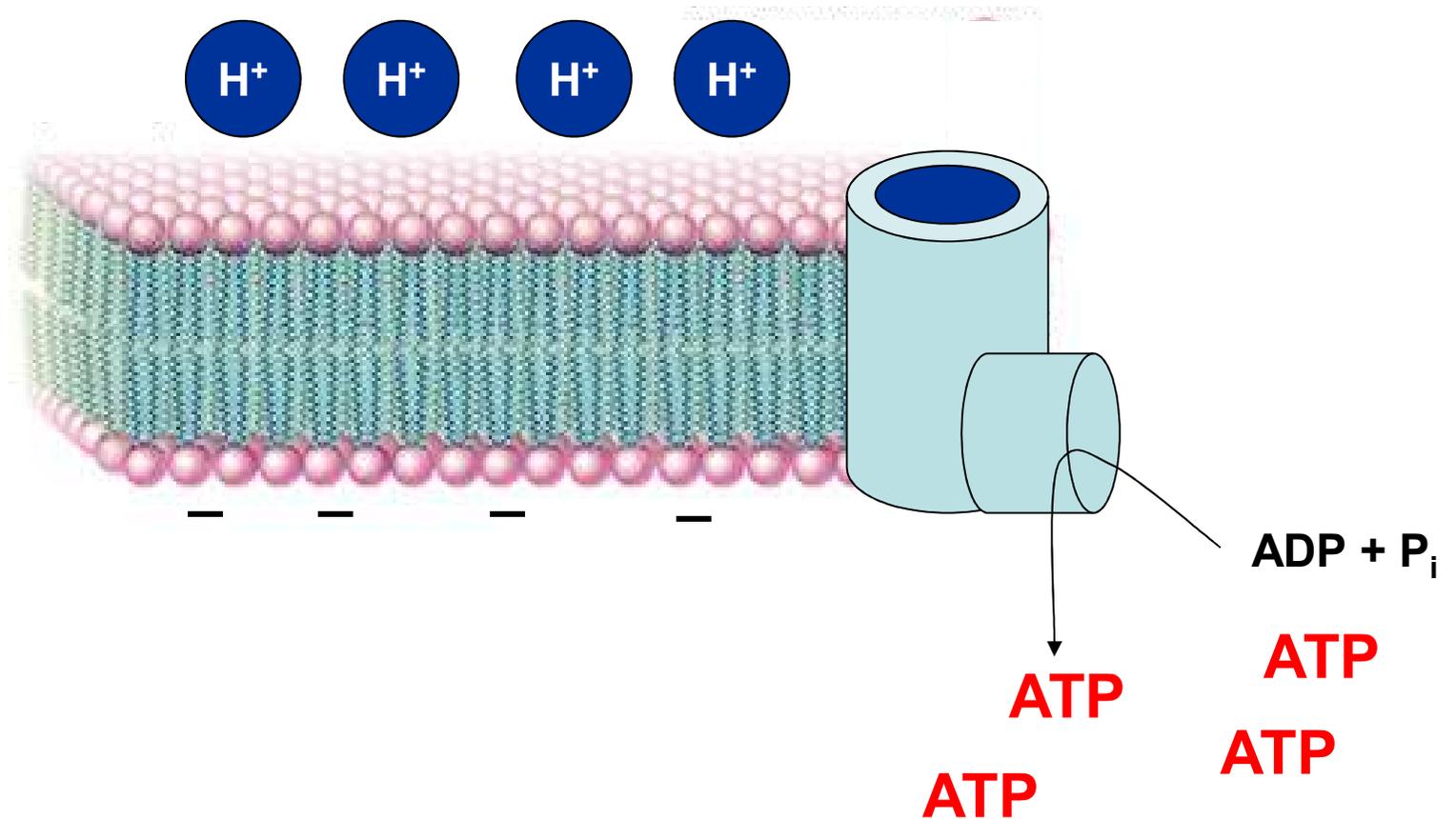
- NADH e FADH₂ (accettori universali di e⁻) formati nella glicolisi e nel ciclo di Krebs (e nell'ossidazione degli acidi grassi) trasportano **elettroni con alto potenziale di trasferimento**
- Nella catena respiratoria questi elettroni sono **trasferiti**, mediante una serie di trasportatori proteici,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

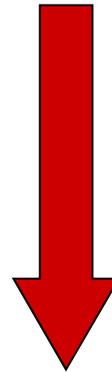


- Questo potenziale, a sua volta, è sfruttato per generare ATP da ADP e Pi (è quindi convertito in un potenziale chimico di fosforilazione)



- 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**

- 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 catena respiratoria**

- 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

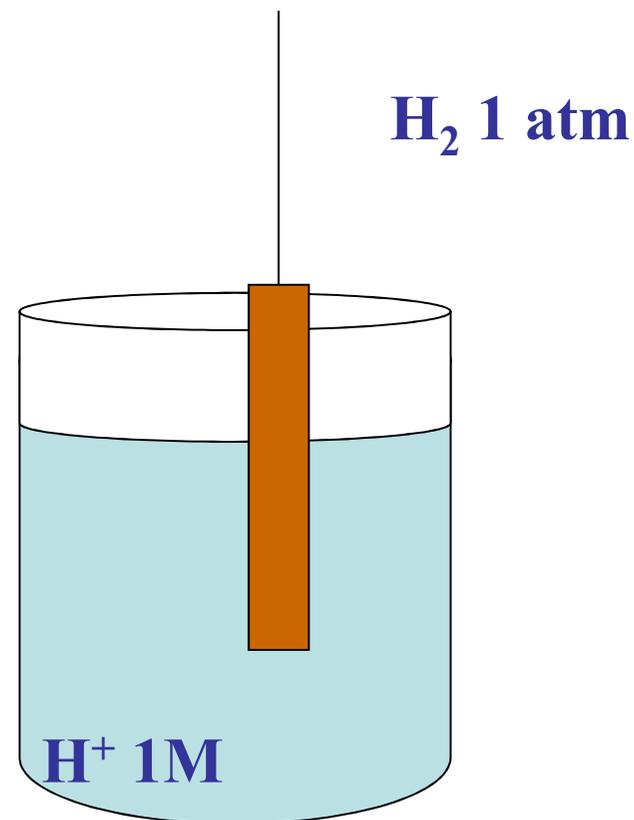
Elettrodo di riferimento:

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



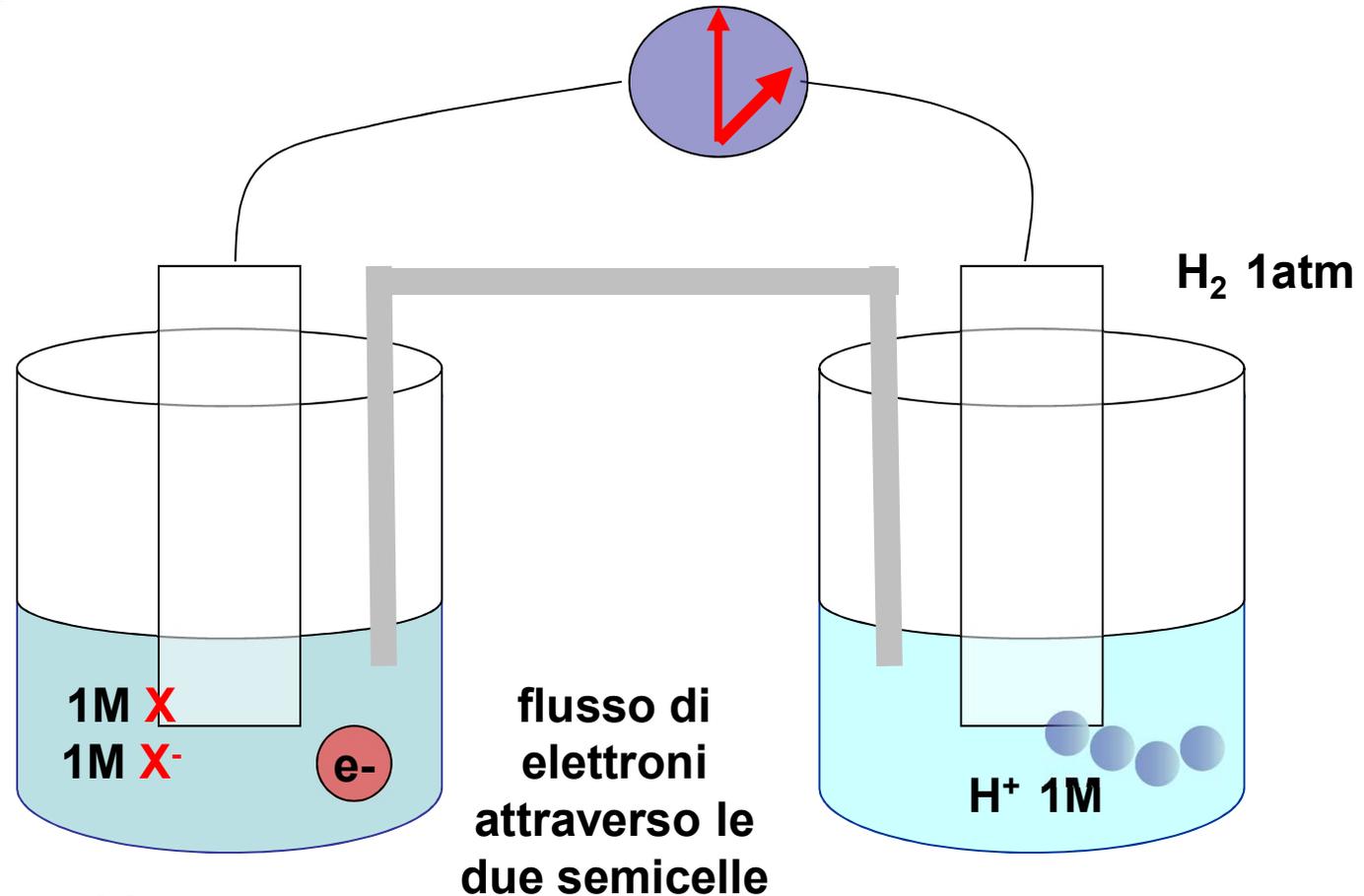
Misura del potenziale di riduzione di una specie chimica X

Coppia redox:

X = forma ossidata

X⁻ = forma ridotta

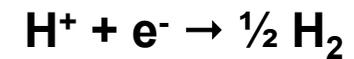
POTENZIALE < 0



Se la specie **X⁻** si ossida



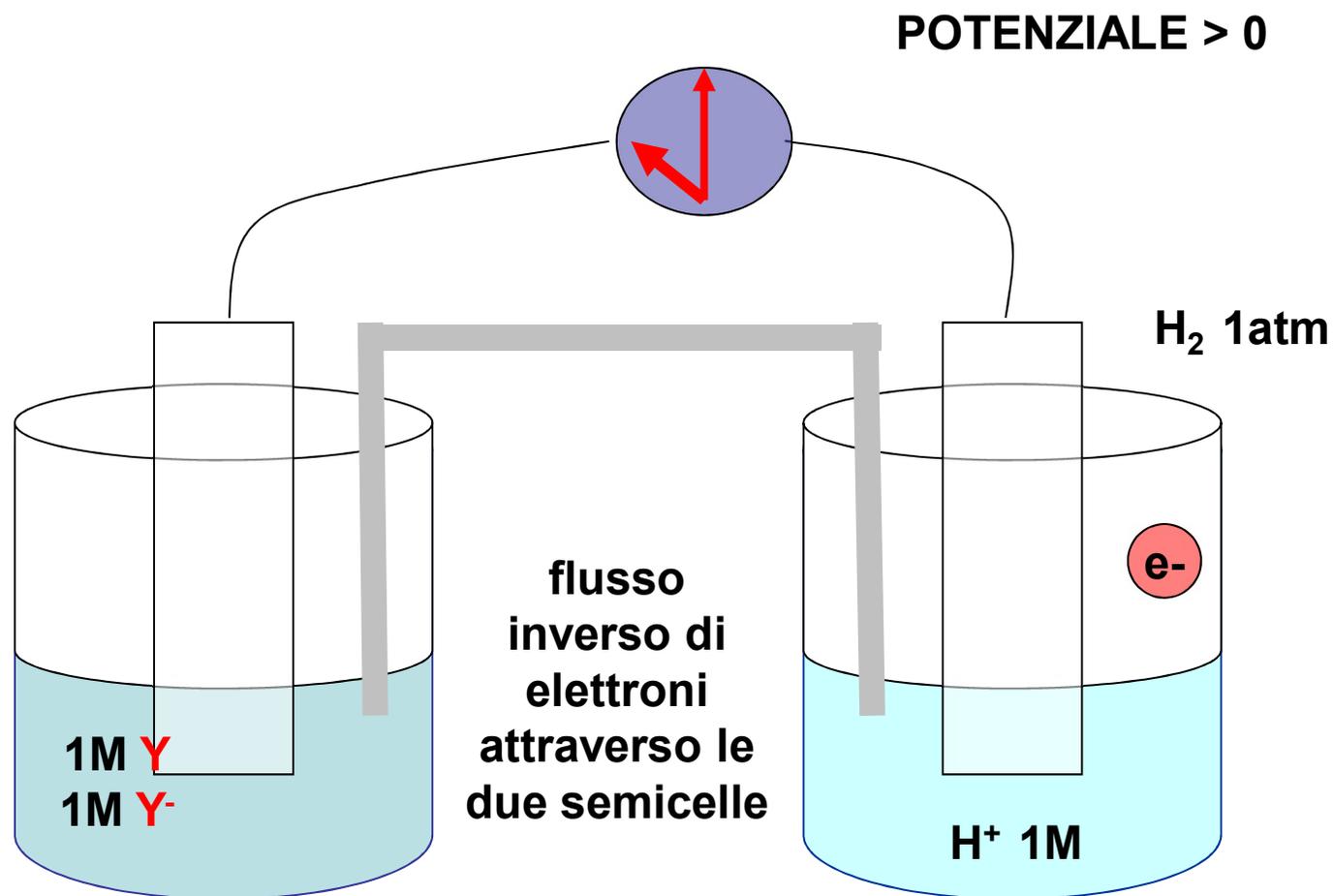
Lo ione **H⁺** si riduce



Coppia redox:

Y = forma ossidata

Y⁻ = forma ridotta



Se la specie Y si riduce



L' idrogeno molecolare si ossida



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

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
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0.295
Cytochrome a (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome a (Fe^{2+})	0.29
Cytochrome c (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome c (Fe^{2+})	0.254
Cytochrome c_1 (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome c_1 (Fe^{2+})	0.22
Cytochrome b (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ cytochrome b (Fe^{2+})	0.077
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
FAD + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 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
Acetylacetate + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 hydroxybutyrate	-0.346

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

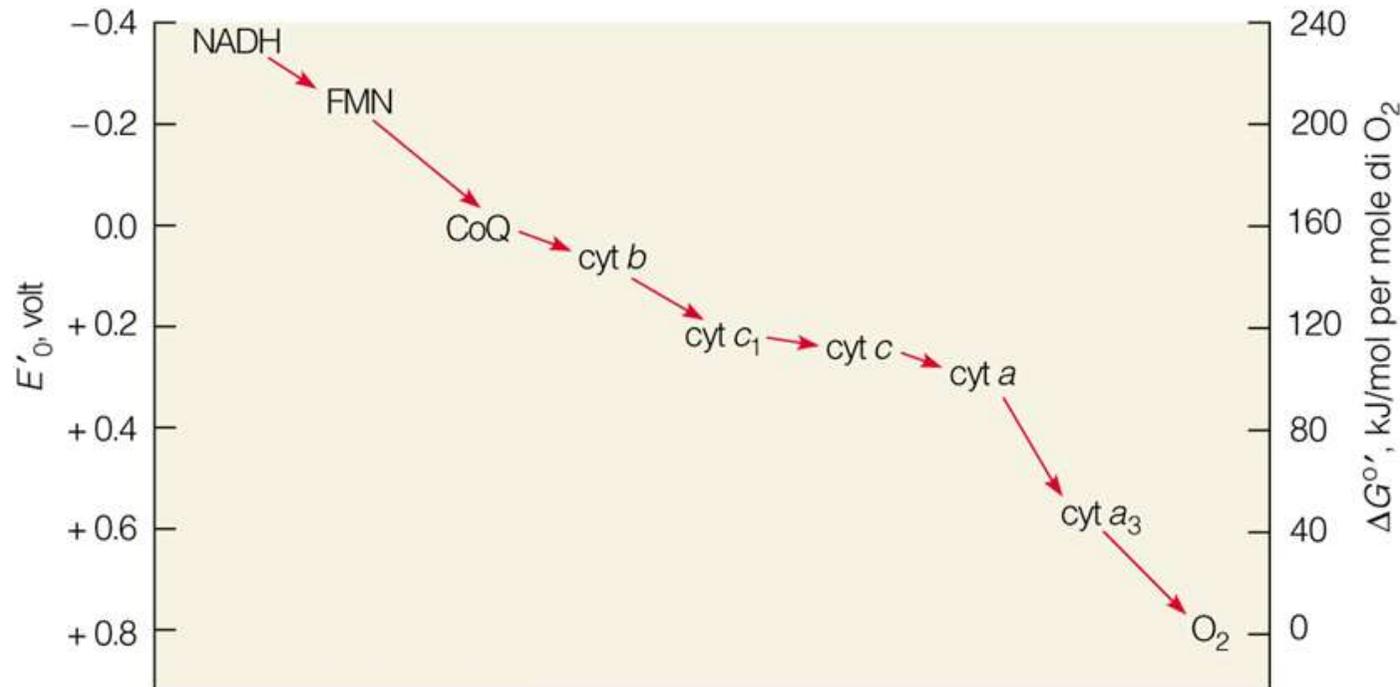
Half-reaction	E'° (V)
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0.816
$\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$	0.771
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0.421
Cytochrome <i>f</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ 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'° .

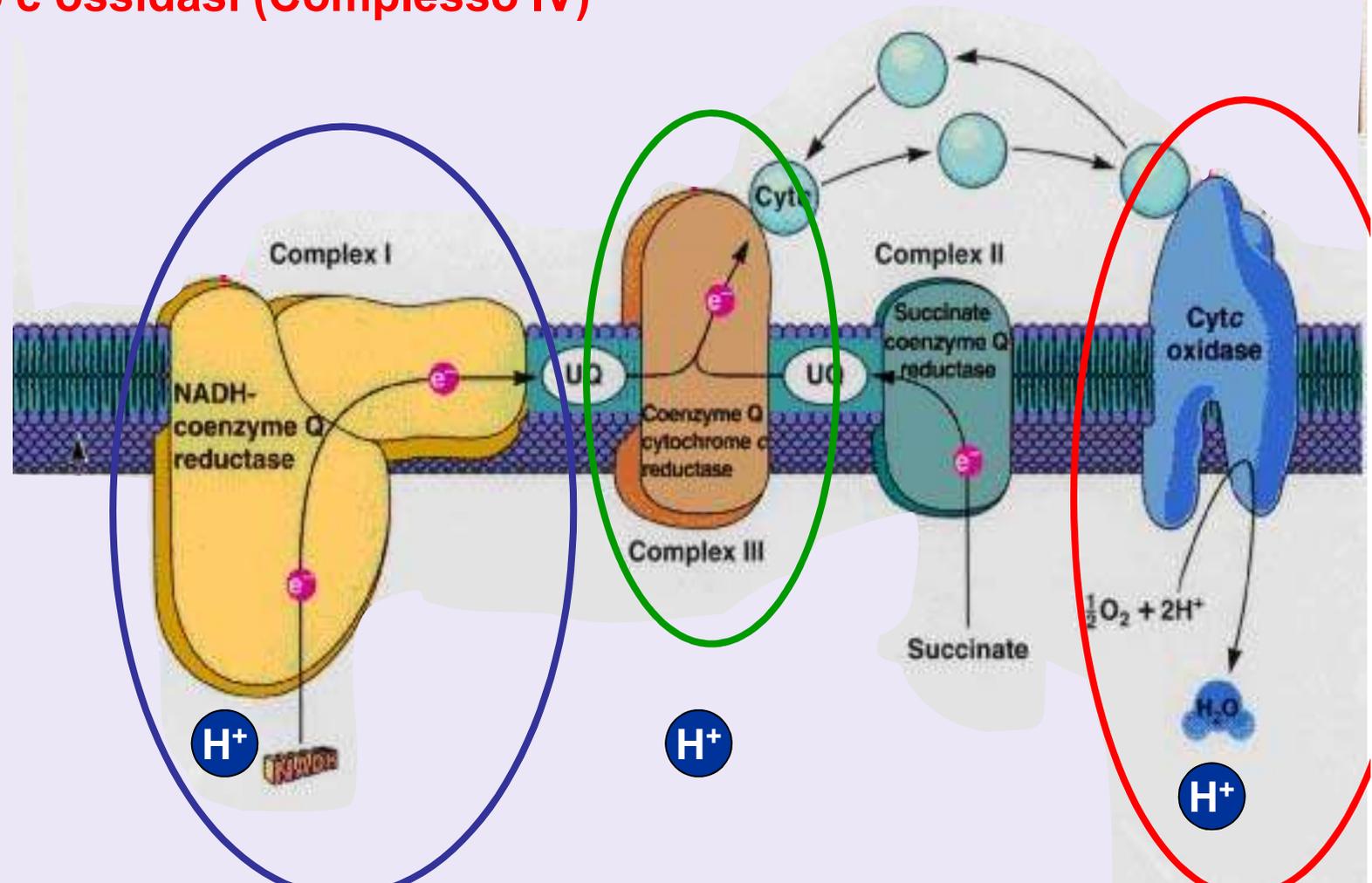
L'architettura degli elementi della catena respiratoria è tale che gli elettroni ceduti da NADH e FADH₂ leghino via via molecole con un potenziale di riduzione più elevato



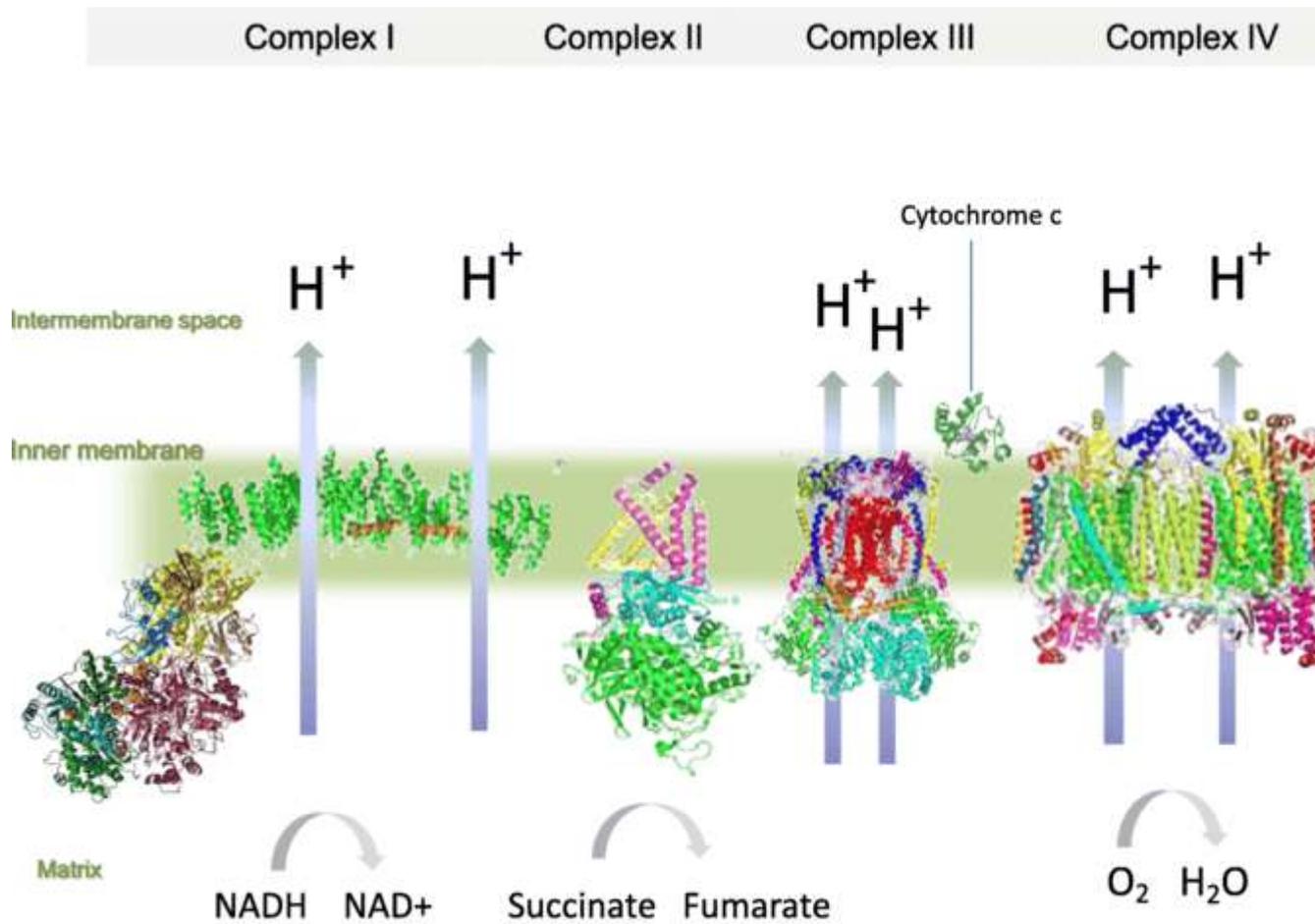
L'ultimo elemento della catena è l'ossigeno molecolare che ha il potenziale di riduzione maggiore (maggiore tendenza ad acquistare elettroni).

La catena respiratoria è costituita da 3 (4) grandi complessi proteici

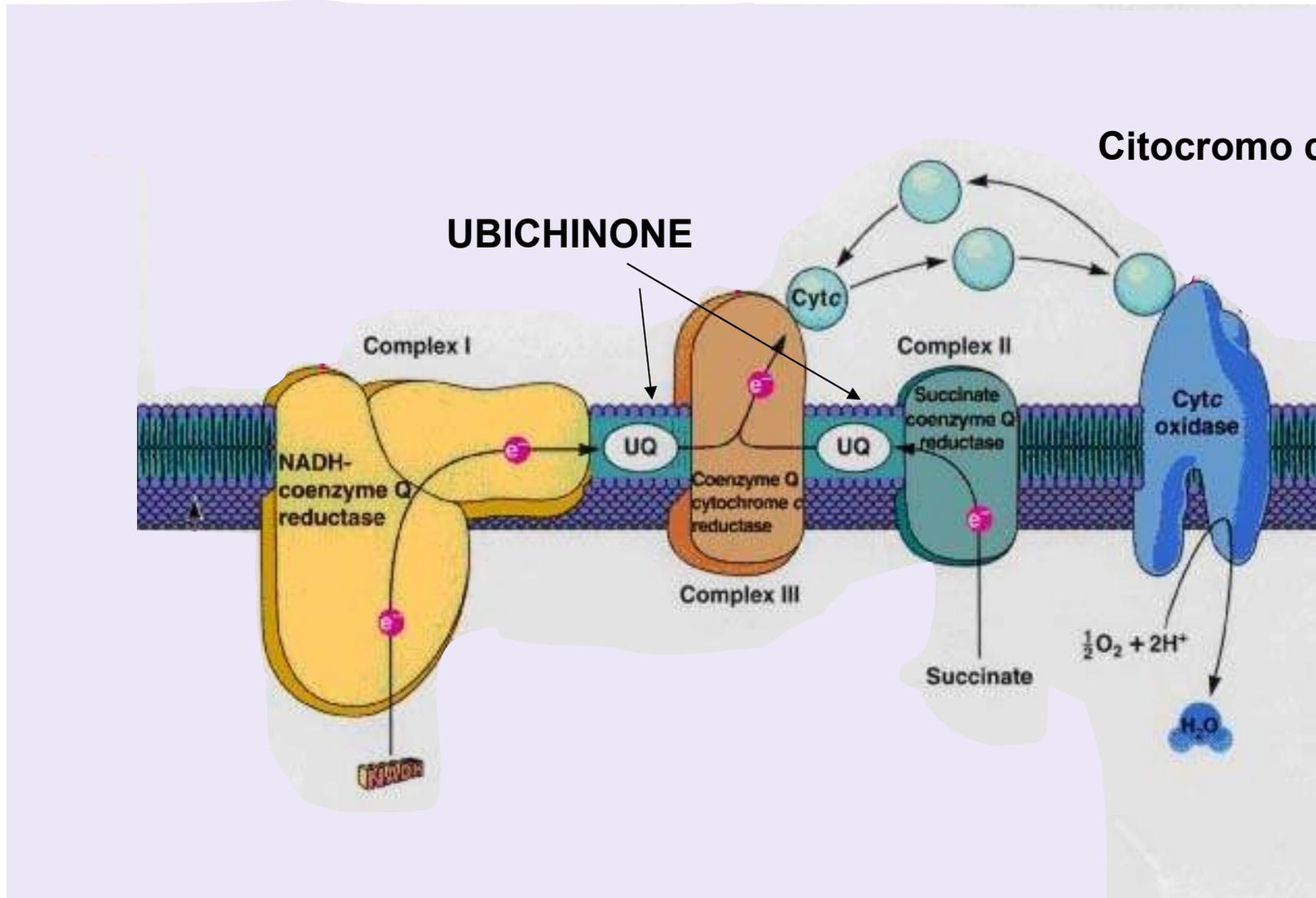
- NADH ossidasi/coenzima Q reductasi (Complesso I)
- Citocromo c reductasi (Complesso III)
- Citocromo c ossidasi (Complesso IV)



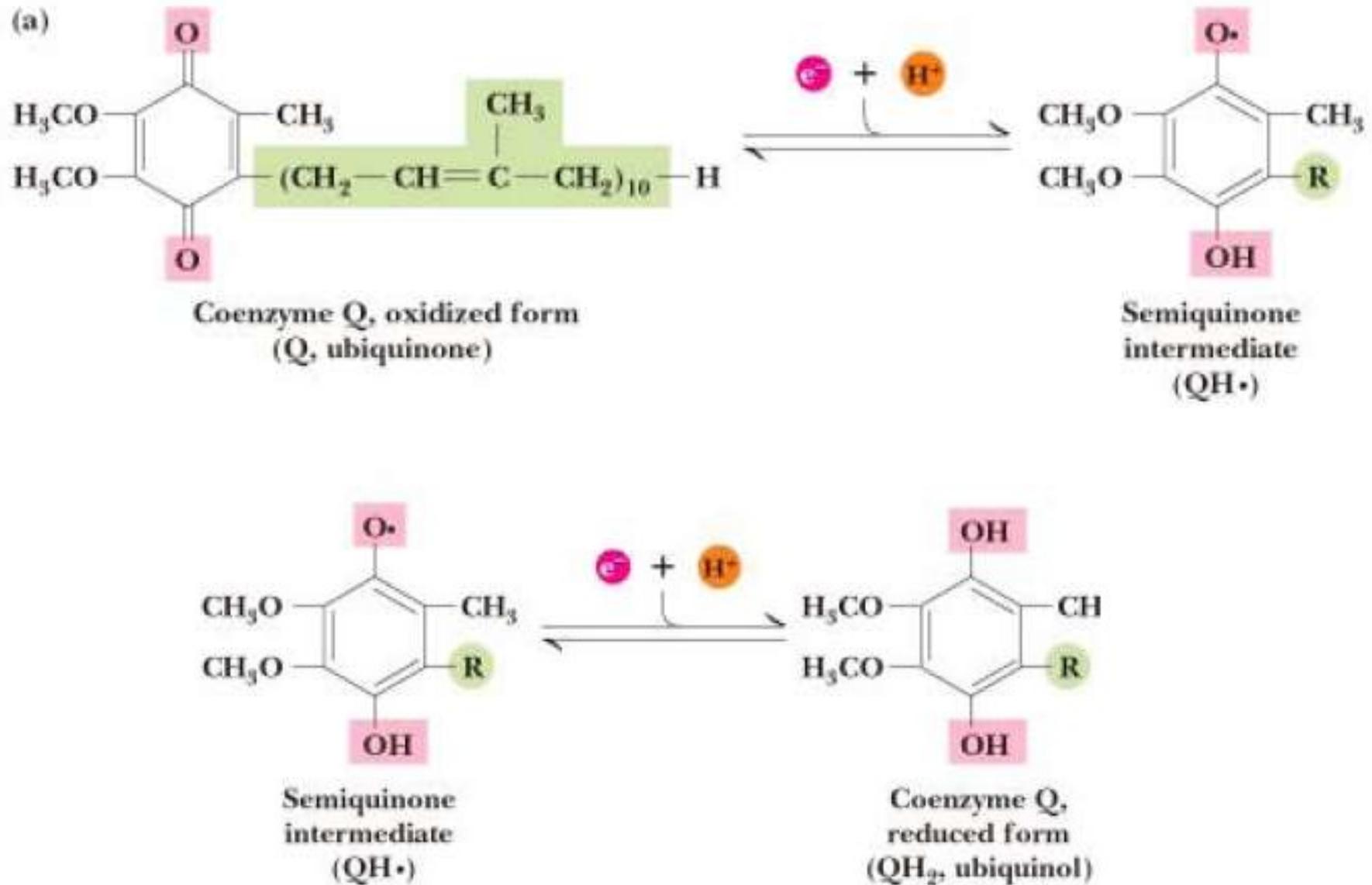
A ciascuno di questi complessi è associata un'attività di traslocazione di protoni

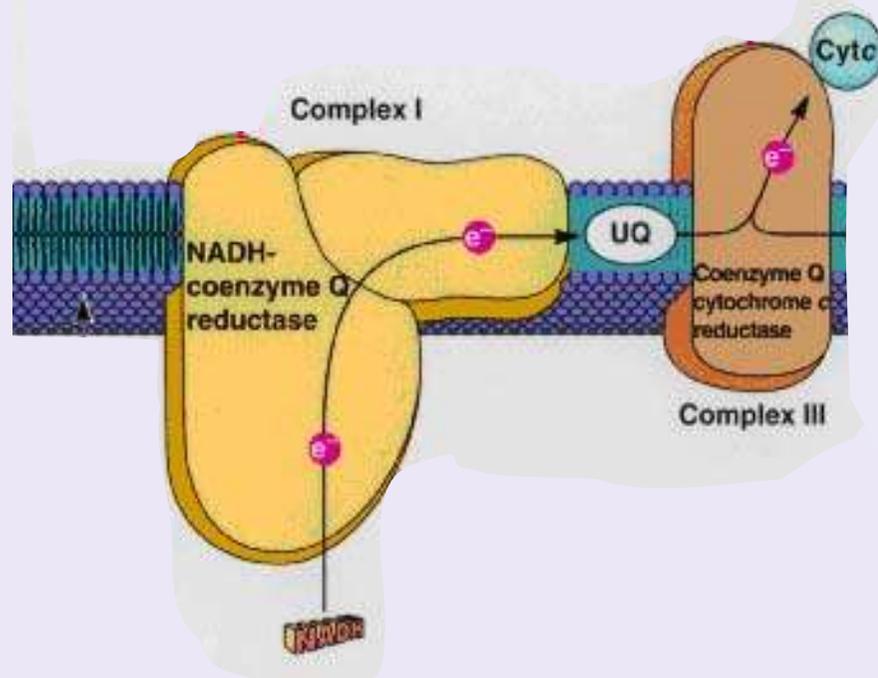
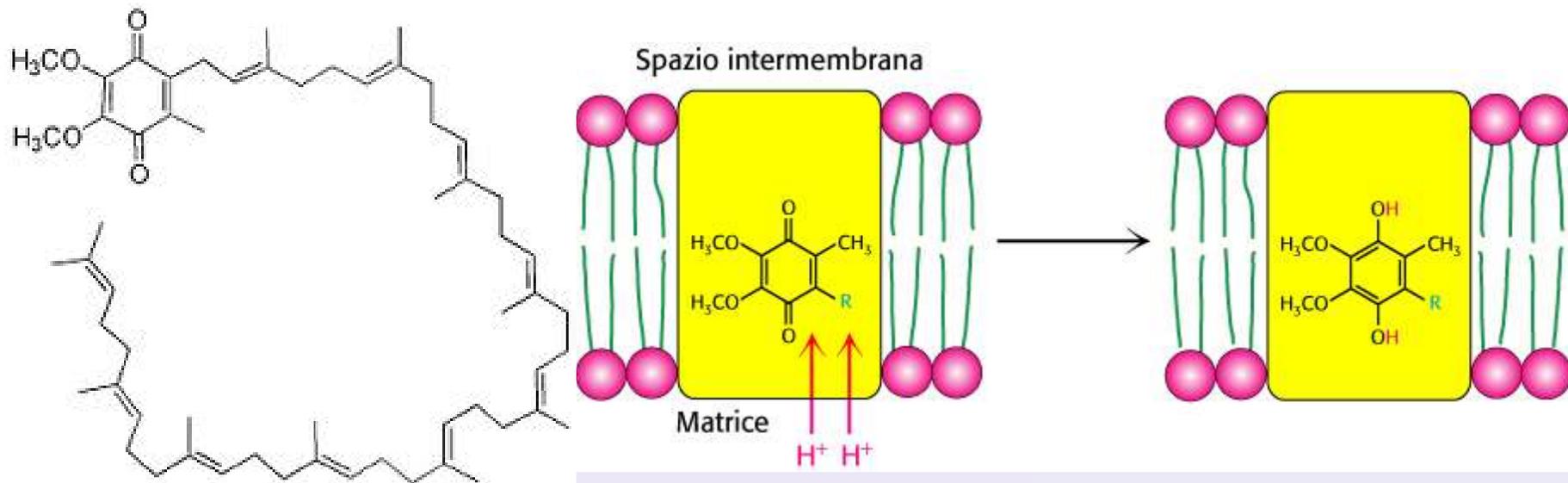


- I Complessi sono collegati da due tipi di trasportatori liberi per elettroni:
- il coenzima Q (ubichinone), è liposolubile e si muove nello strato lipidico della membrana,
 - il citocromo c, è una proteina solubile che si muove nello spazio intermembrana.



Coenzima Q o UBICHINONE





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⁺)

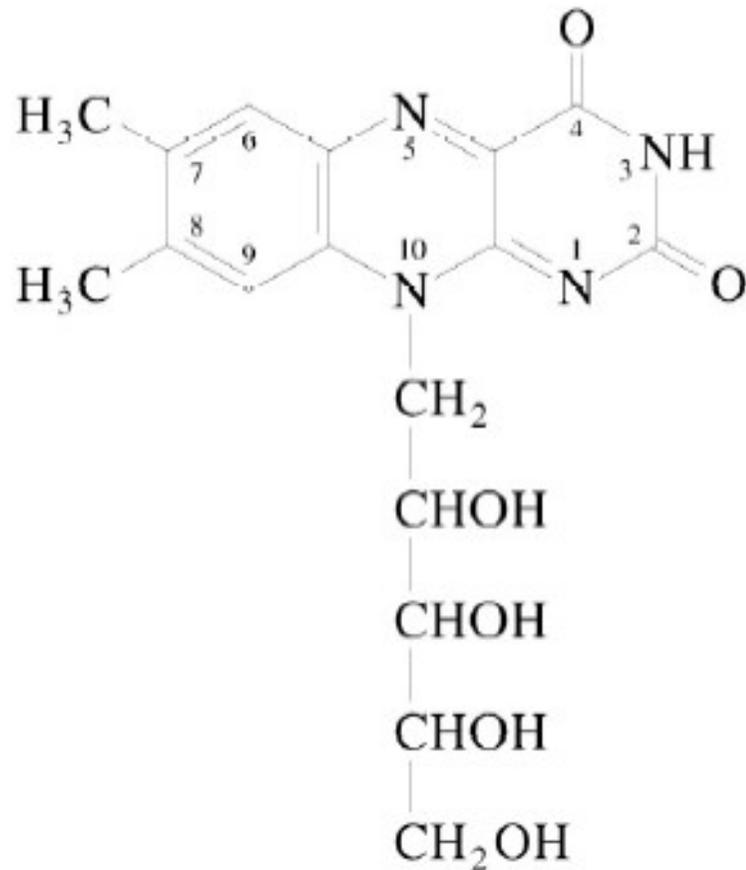
(d) Cu in proteine che legano il rame - trasferimento di 1 e⁻ (Cu⁺ / Cu²⁺)

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

Vitamina B₂: riboflavina

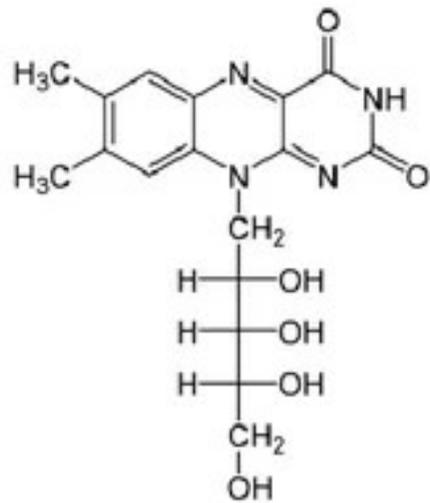
Precursore di due coenzimi (FMN e FAD)



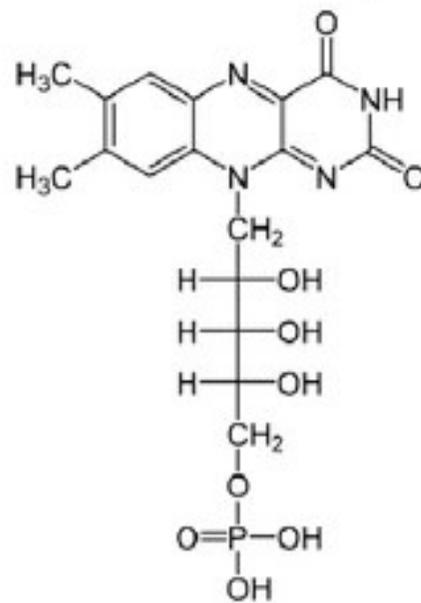
ISOALLOSSAZINA

RIBITOLO

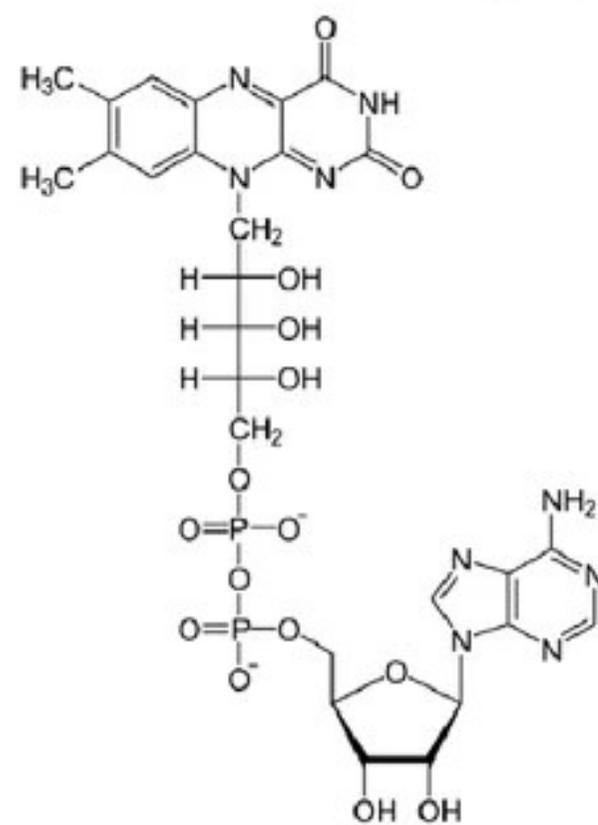
Riboflavina



Flavin MonoNucleotide (FMN)



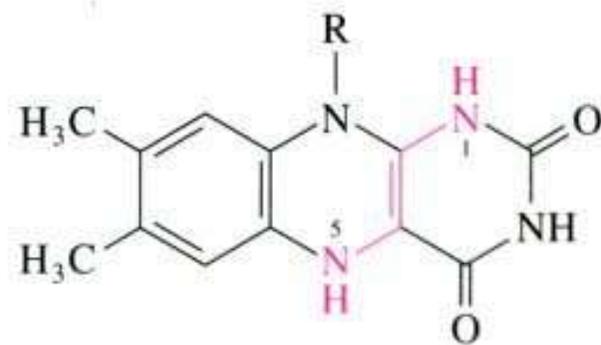
FlavinaAdeninDinucleotide (FAD)



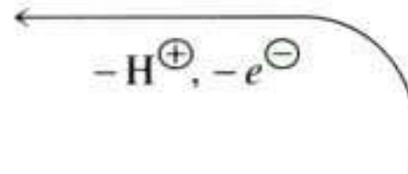


Flavoquinone
(FMN or FAD)

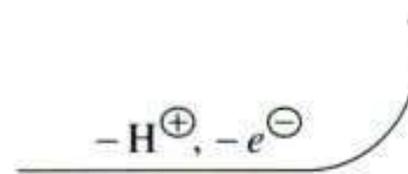
$2 e^-$
 $+ 2H^+$



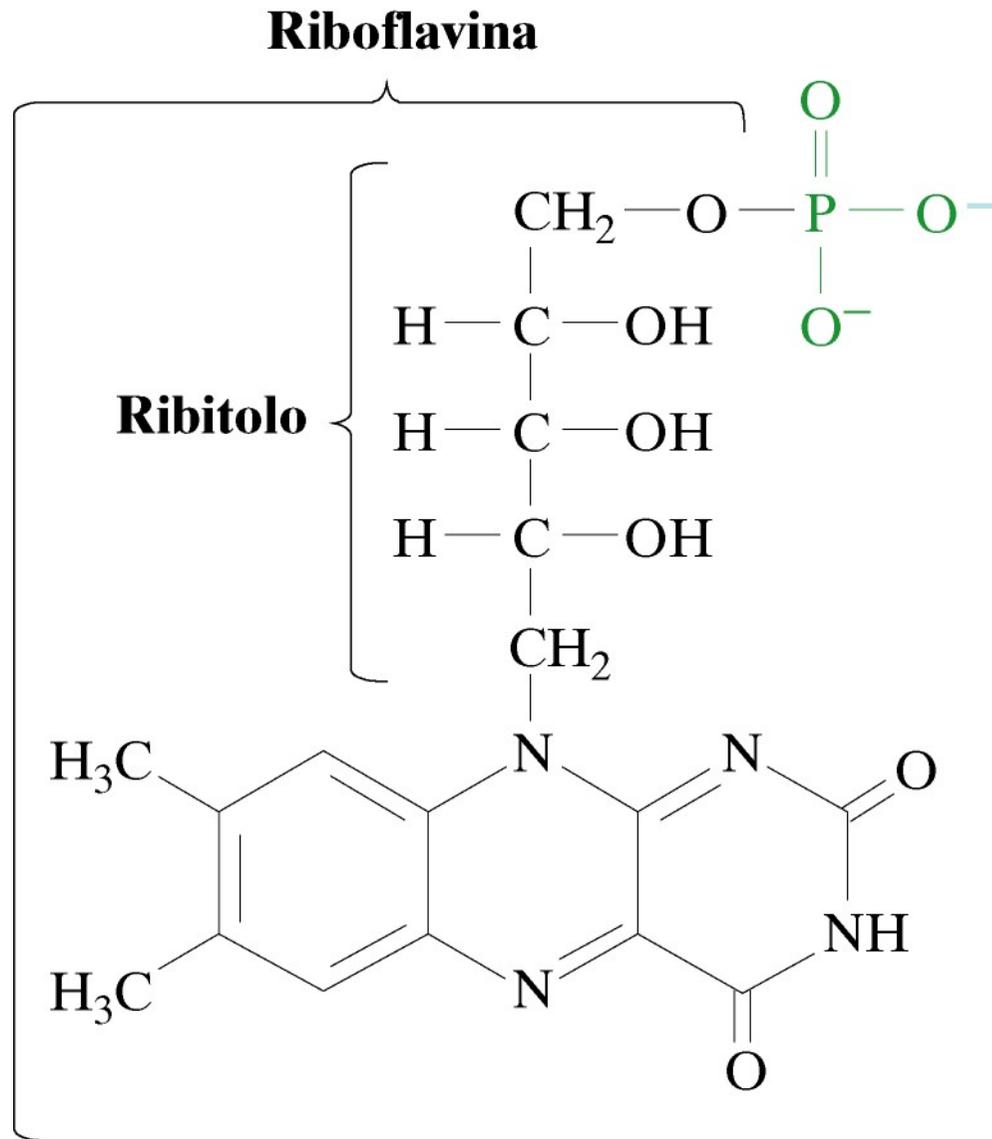
Flavohydroquinone
(FMNH₂ or FADH₂)



Flavoquinone radical anion
(FMNH• or FADH•)



COENZIMA 1 : Flavin Mono Nucleotide (FMN)



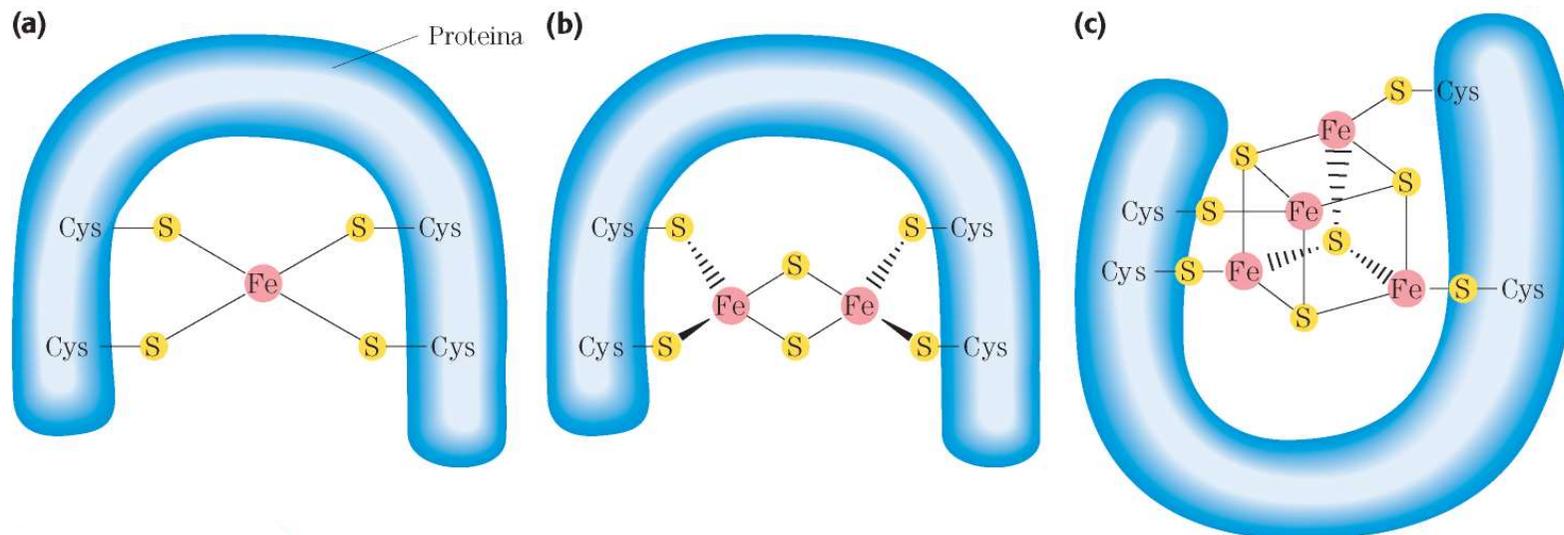
1. Flavin Mono Nucleotide (FMN)

Il trasferimento: NADH passa gli elettroni a FMN

Proteine Ferro/Zolfo

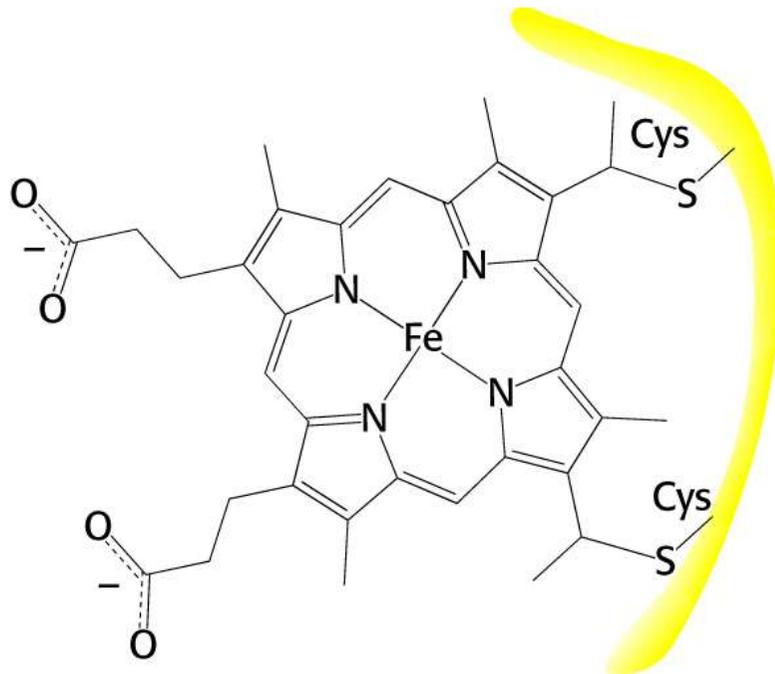
Il Ferro è coordinato dallo Zolfo di cisteine che si trovano vicine nella struttura terziaria

dipendentemente dall'arrivo di e-
il ferro oscilla tra Fe³⁺ e Fe²⁺



I citocromi

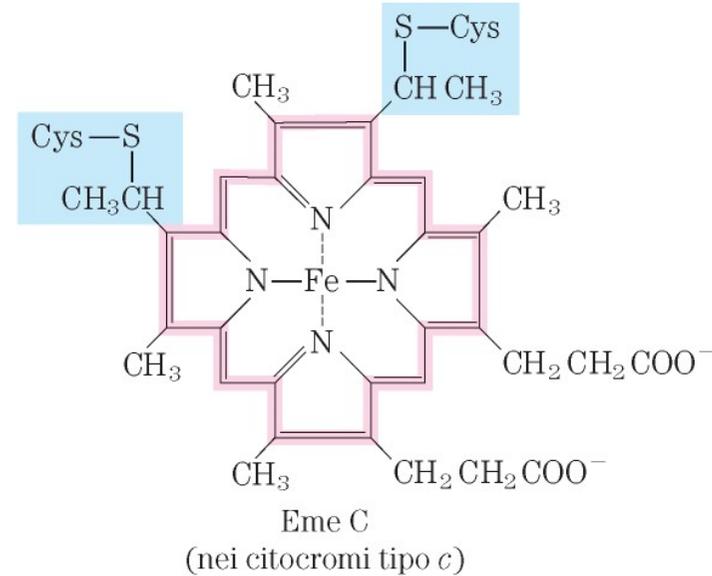
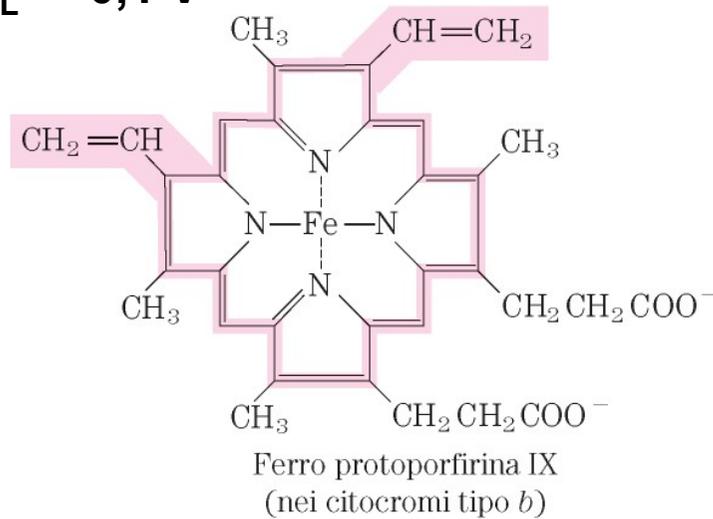
sono proteine che contengono una ferro-porfirina



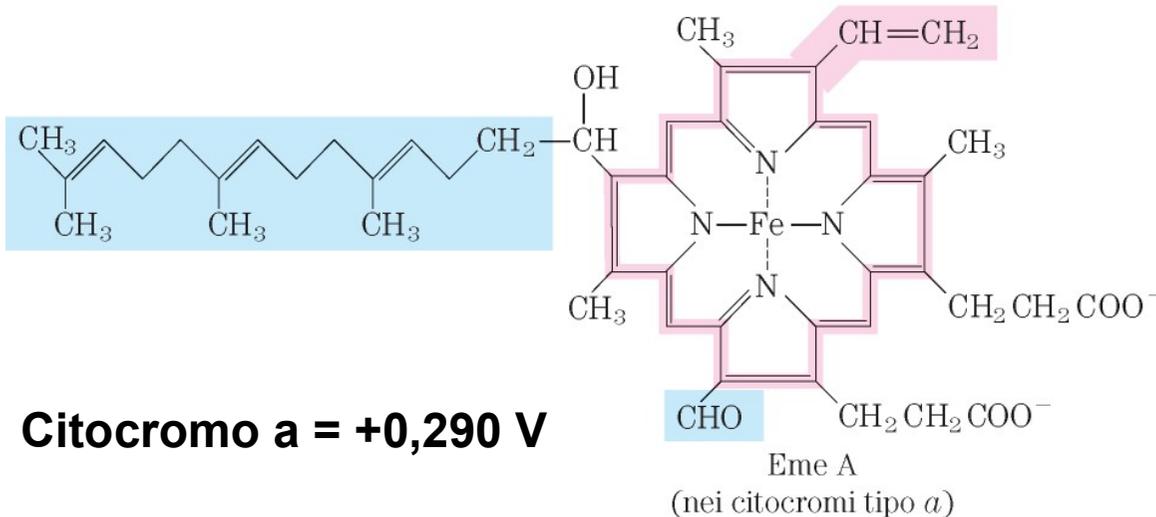
Accetta elettroni da molecole a
potenziale di riduzione minore
☞ riducendosi a Fe 2+

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

Citocromo b_L = -0,1 V



Citocromo c = +0,254 V



Citocromo a = +0,290 V

Le diverse catene laterali modificando l'ambiente che circonda il ferro, alterano il valore dei Potenziali di Riduzione di ciascun citocromo

Il flusso elettronico quindi sarà

Cit b_L → Cit c → Cit a

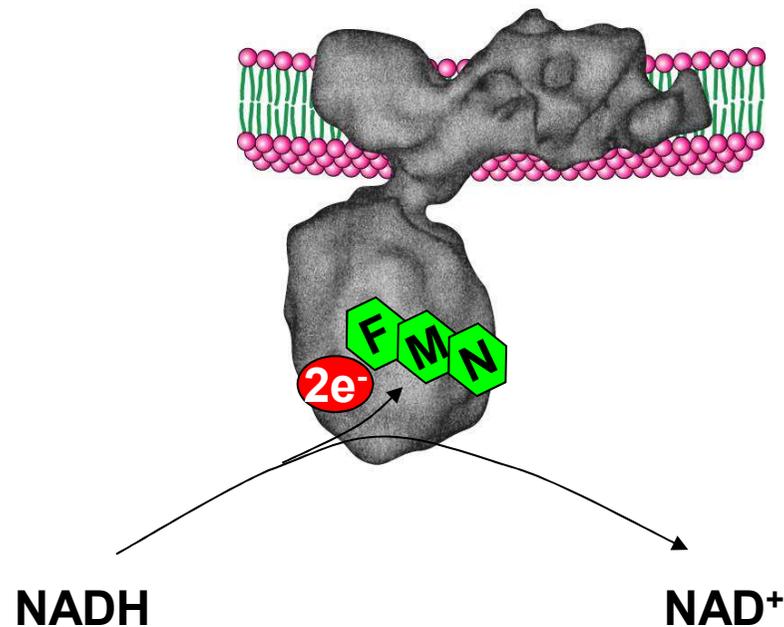
NADH ossidasi/ coenzima Q riduttasi: Complesso I

34 subunità proteiche

Diversi gruppi prostetici che partecipano al trasporto di elettroni

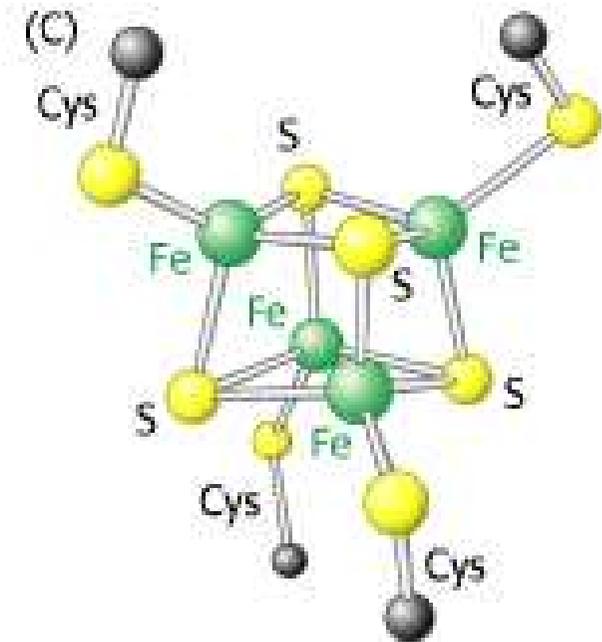
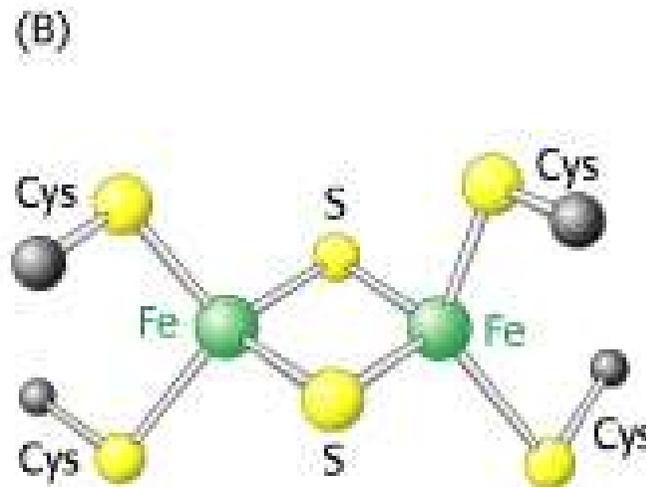
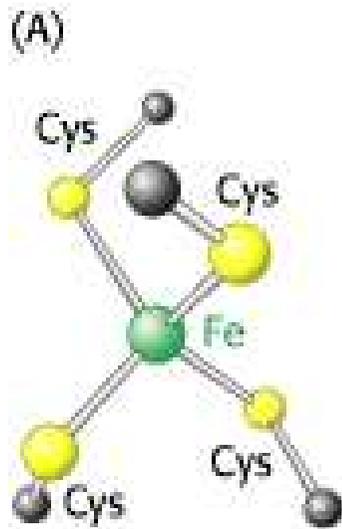
1. Flavin Mono Nucleotide (FMN)

I trasferimento: NADH passa gli elettroni a FMN

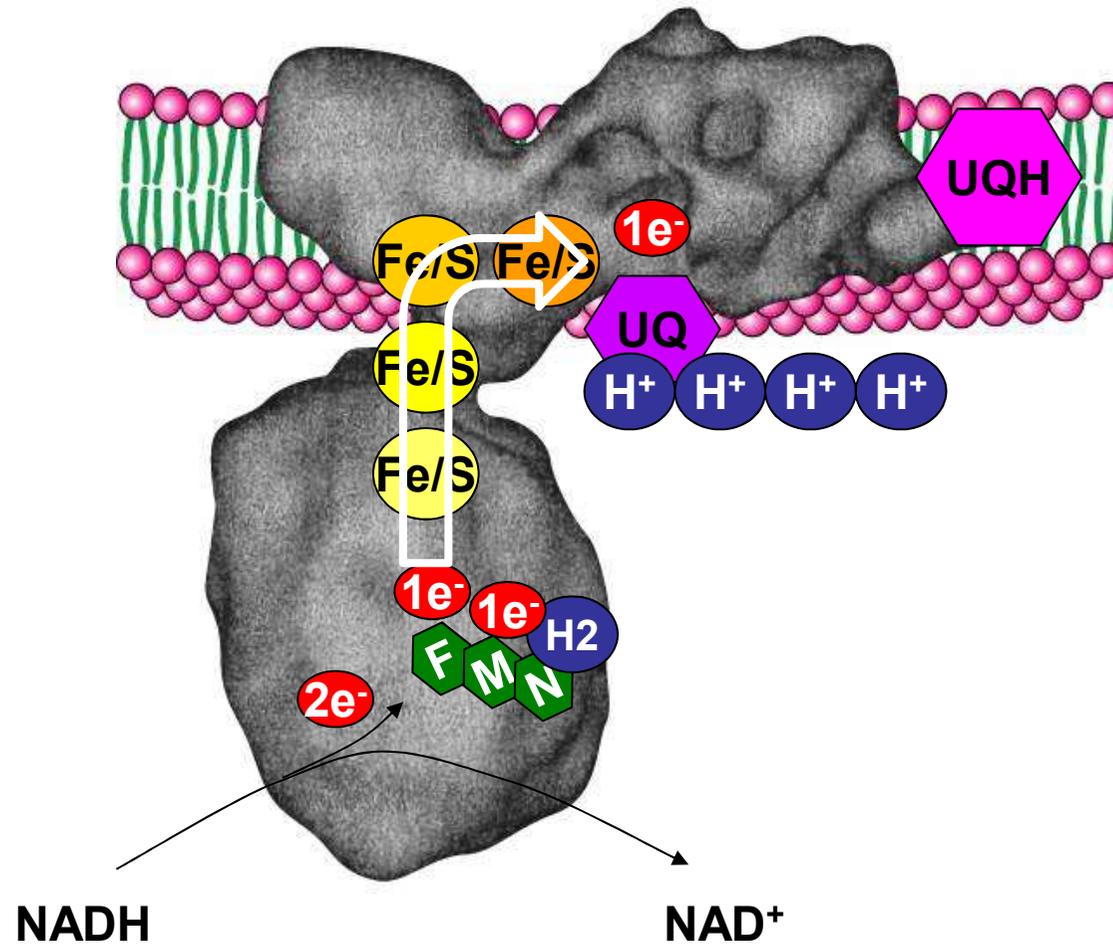


Il trasferimento: FMN passa gli elettroni ai gruppi Fe/S (Fe³⁺ passa a Fe²⁺)

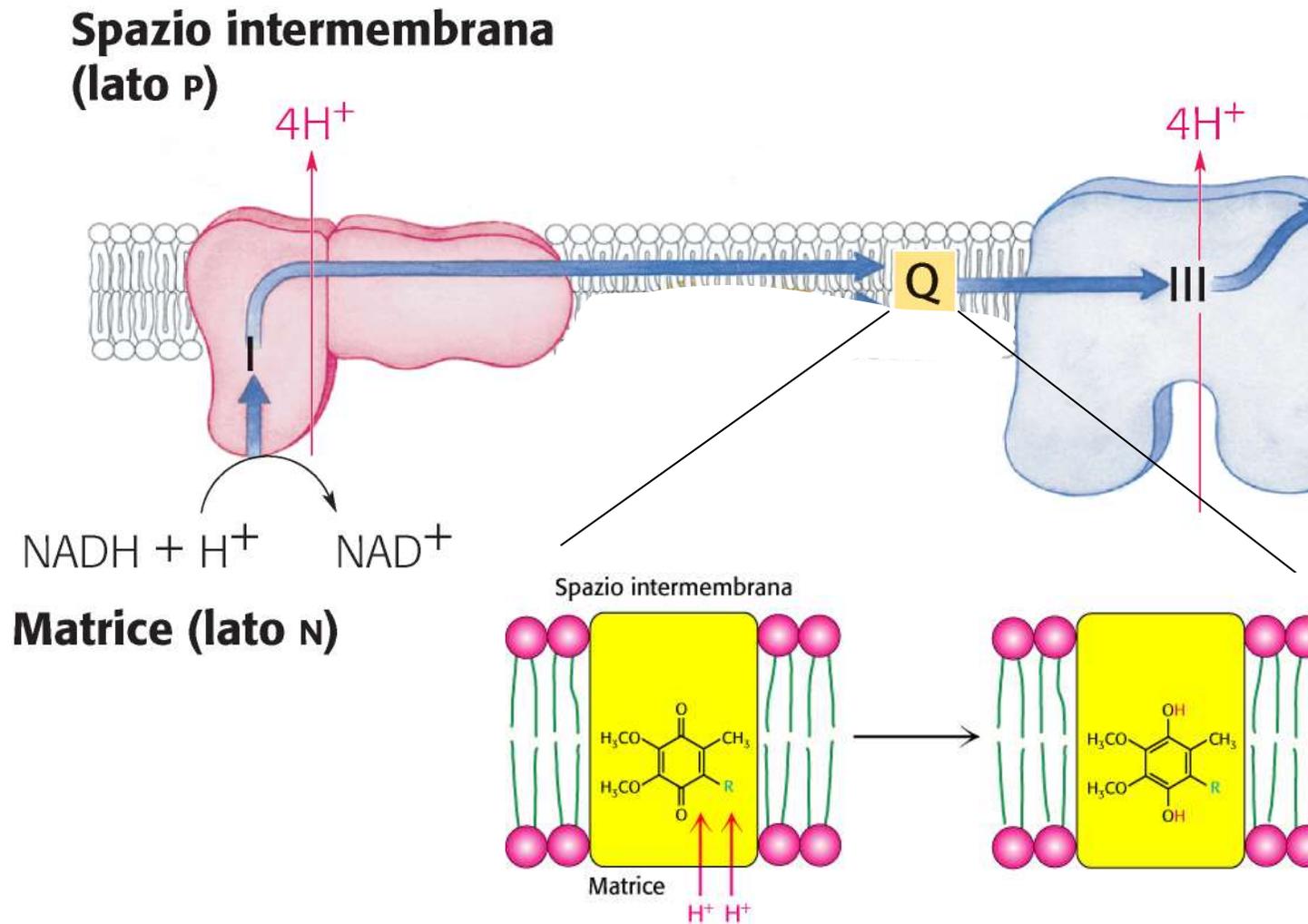
2. Centri Ferro/Zolfo (Fe/S) a potenziale di riduzione crescente



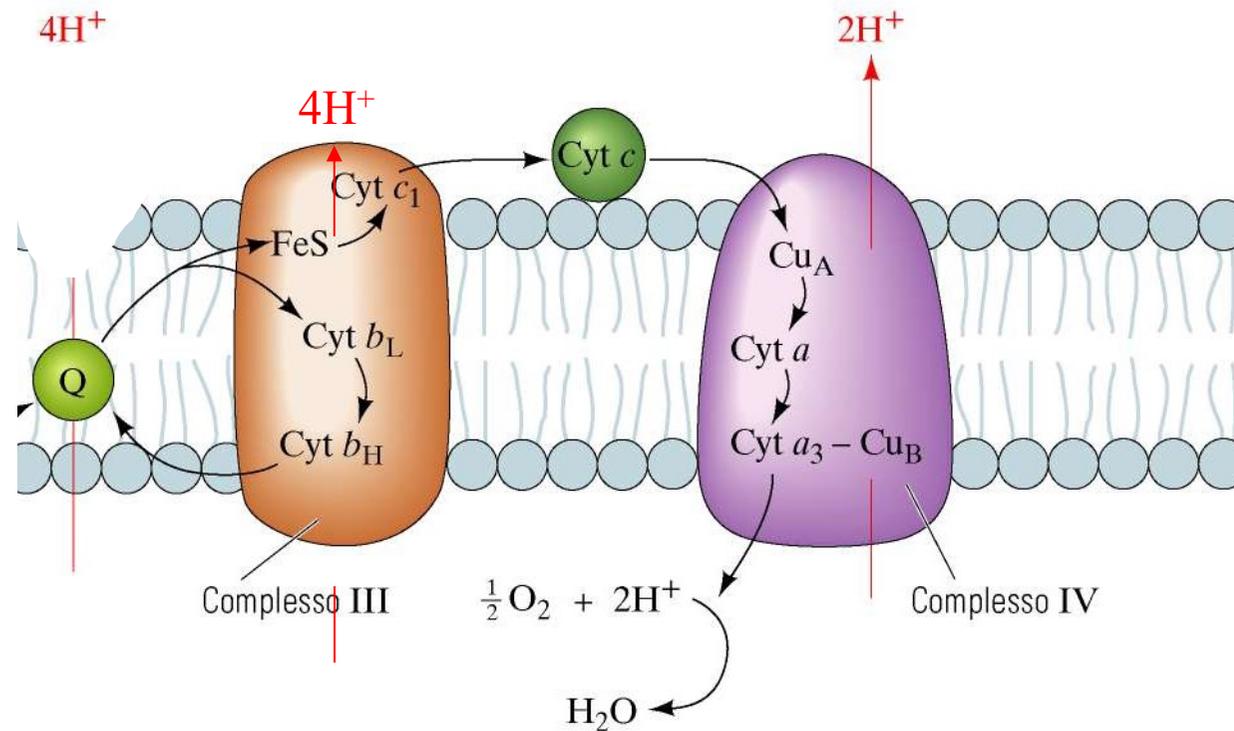
COMPLESSO I: NADH Q riduttasi



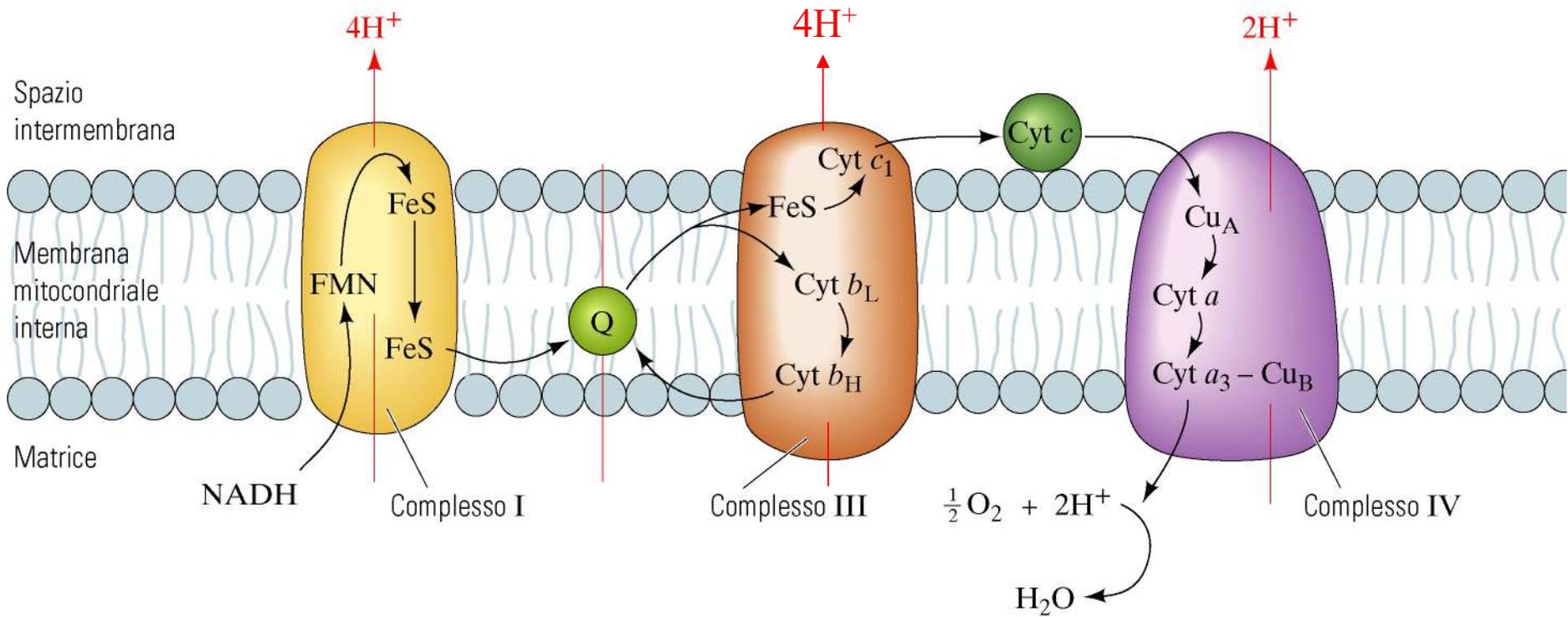
Il Coenzima Q trasferisce gli elettroni al Complesso III



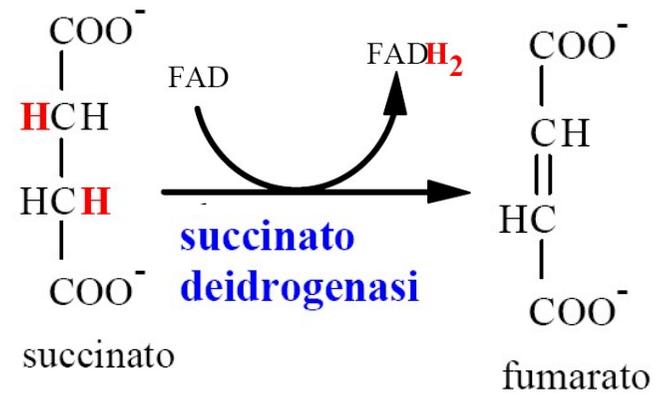
Il Complesso III catalizza l'ossidazione del Coenzima Q ridotto
Gli elettroni catturati fluiscono, attraverso centri Fe/S e citocromi, al Citocromo c
Vengono traslocati 4 protoni attraverso la membrana
Il Cyt c si muove nello spazio intermembrana fino al Complesso IV
Il Complesso IV catalizza il trasferimento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



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



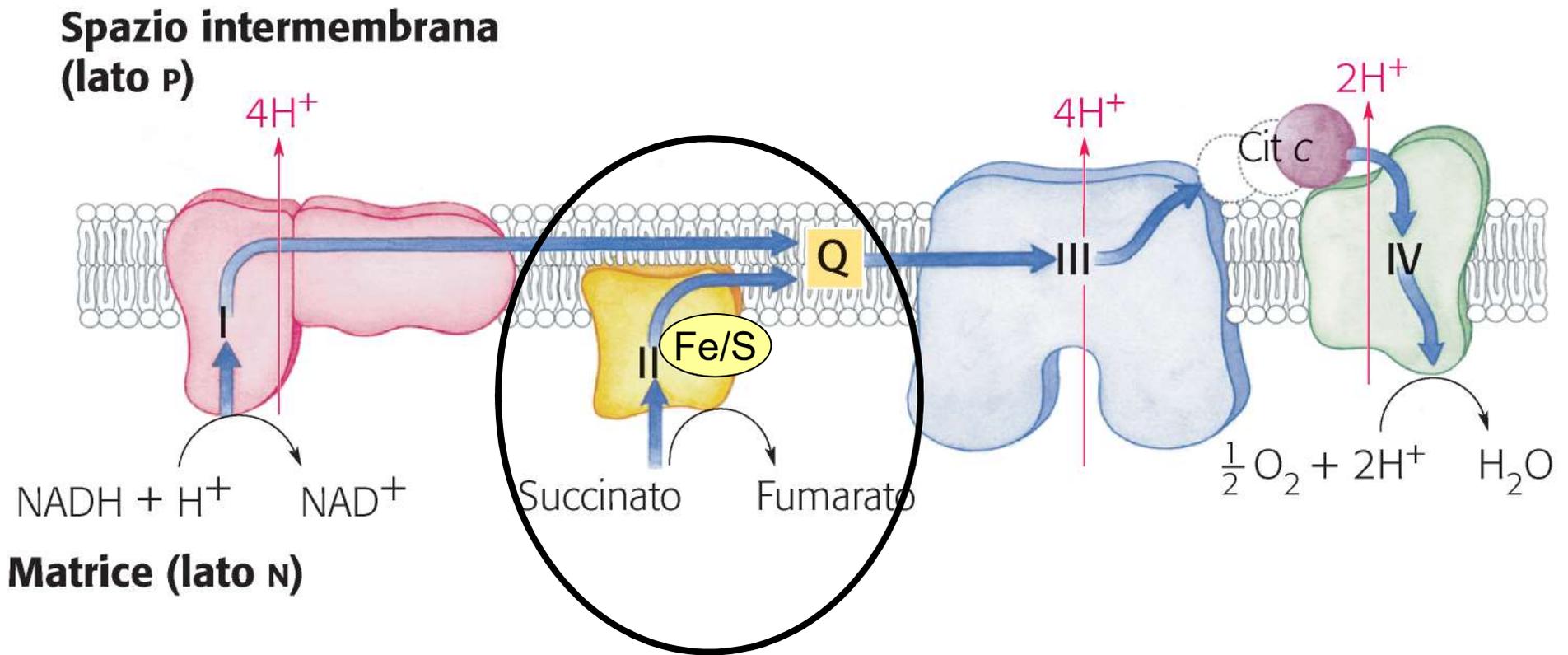
Come viene ossidato il FADH₂?



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



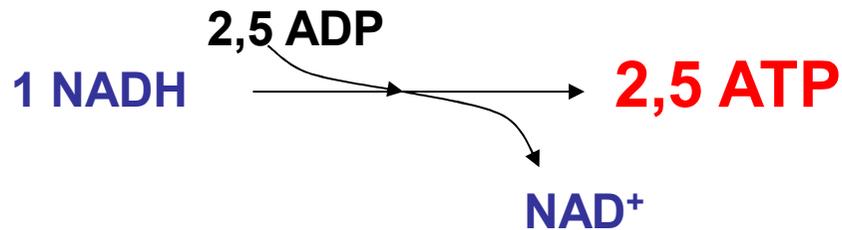
L'ingresso degli elettroni del FADH₂ avviene a valle del Complesso I

Il loro trasferimento all'O₂ comporta la traslocazione di 6 protoni anziché 10 (NADH)

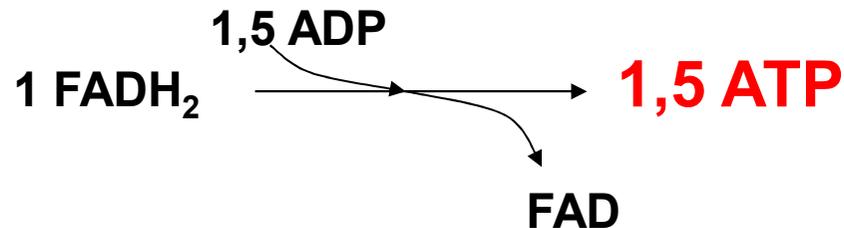
Gli elettroni immagazzinati nei coenzimi NADH e FADH₂ fluiscono attraverso la CATENA DI TRASPORTO degli ELETTRONI.

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

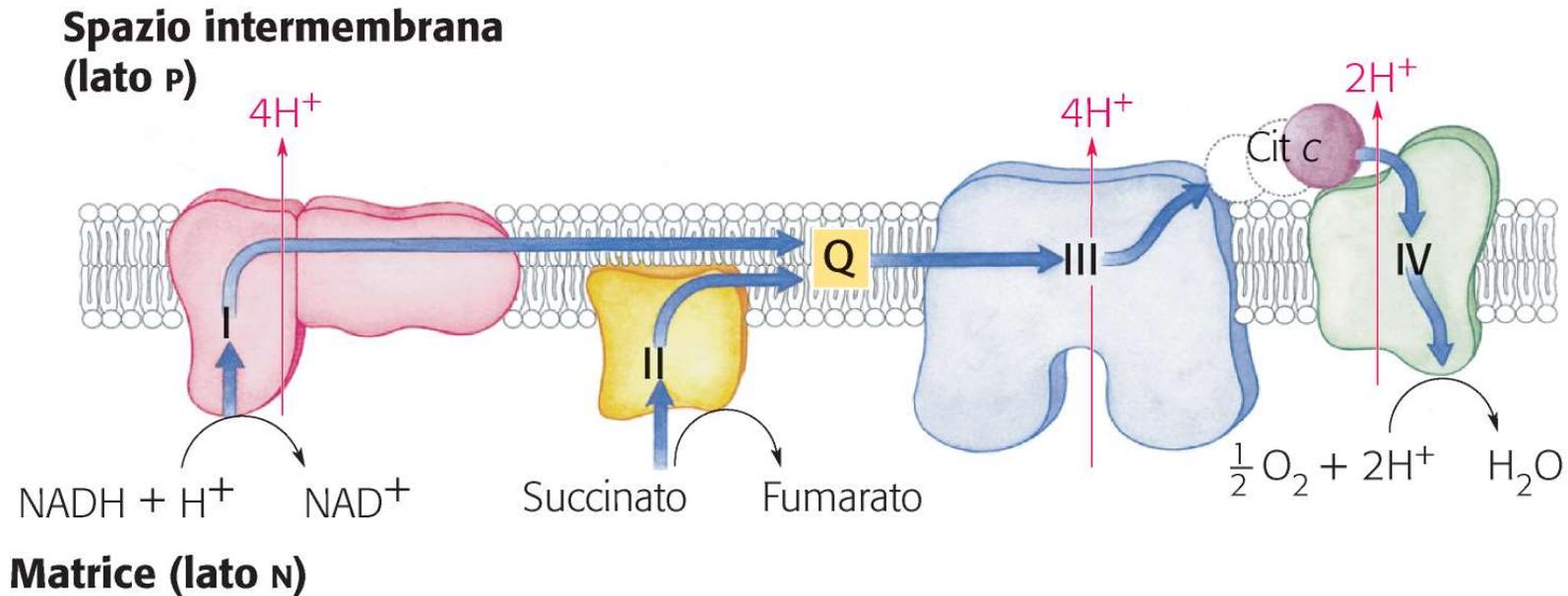
- L'energia viene rilasciata lungo la catena per formare ATP



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.**

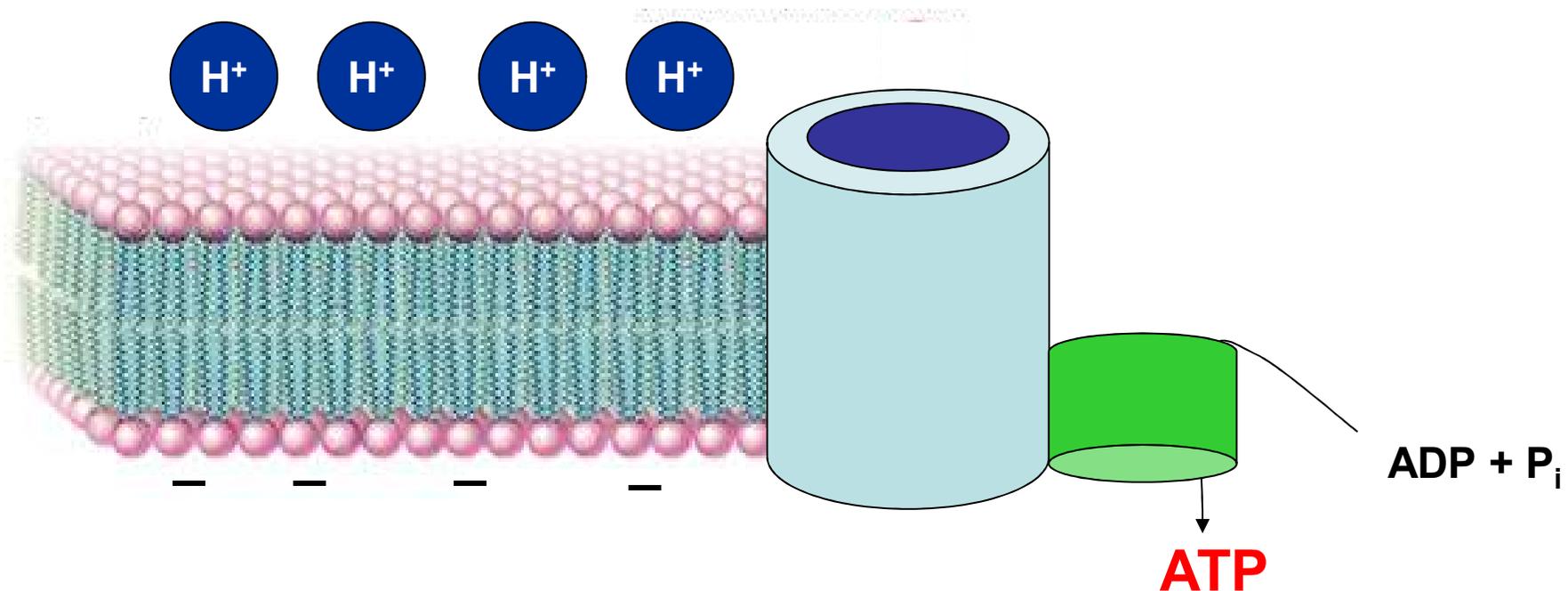
Il gradiente protonico risultante dall'ossidazione del NADH sarà maggiore.

☞ 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)

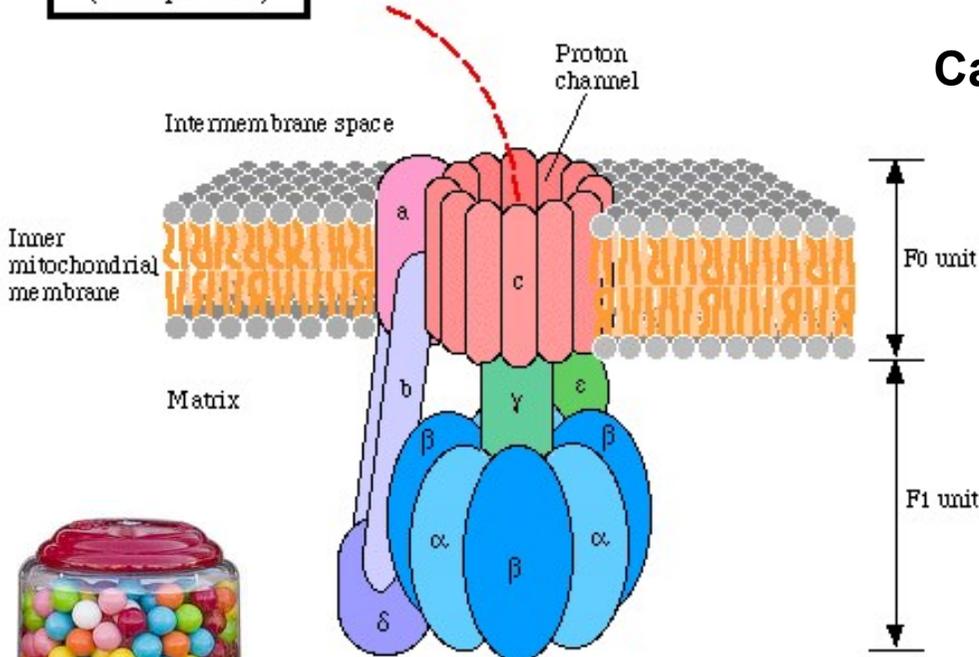
Il flusso di protoni lungo il canale fornisce l'energia per la sintesi di ATP.



H⁺ transporting
ATP-synthase
(Complex V)

ATP sintasi o ATPasi

Catalizza la reazione in entrambi i sensi

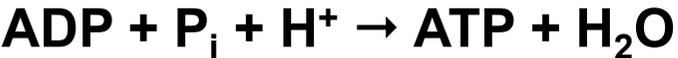


Forniti dalla reazione
esoergonica (spontanea)
di diffusione dei protoni
attraverso il canale

Idrolisi



Sintesi



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

Due strategie per la sintesi di ATP

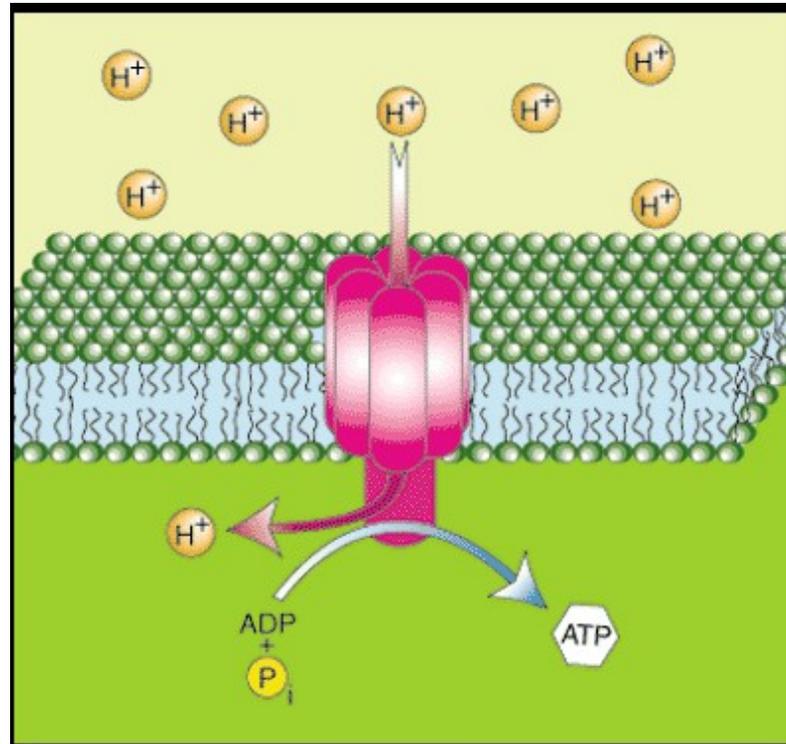
A. Fosforilazione a livello del substrato

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

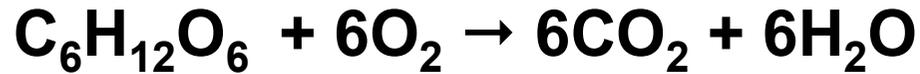


B. Fosforilazione ossidativa

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

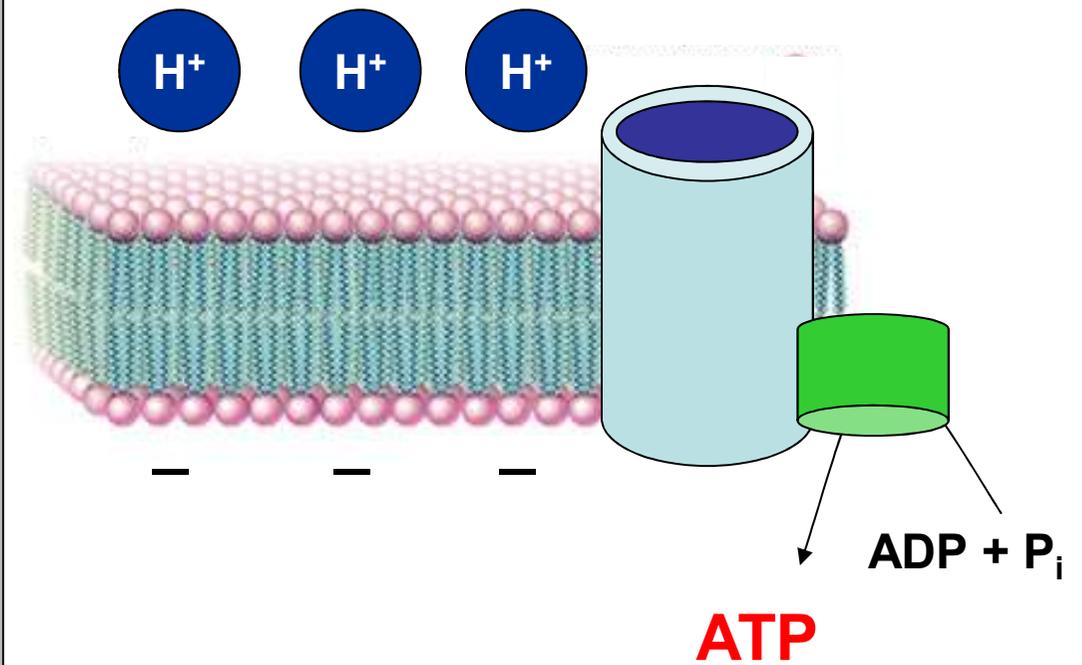
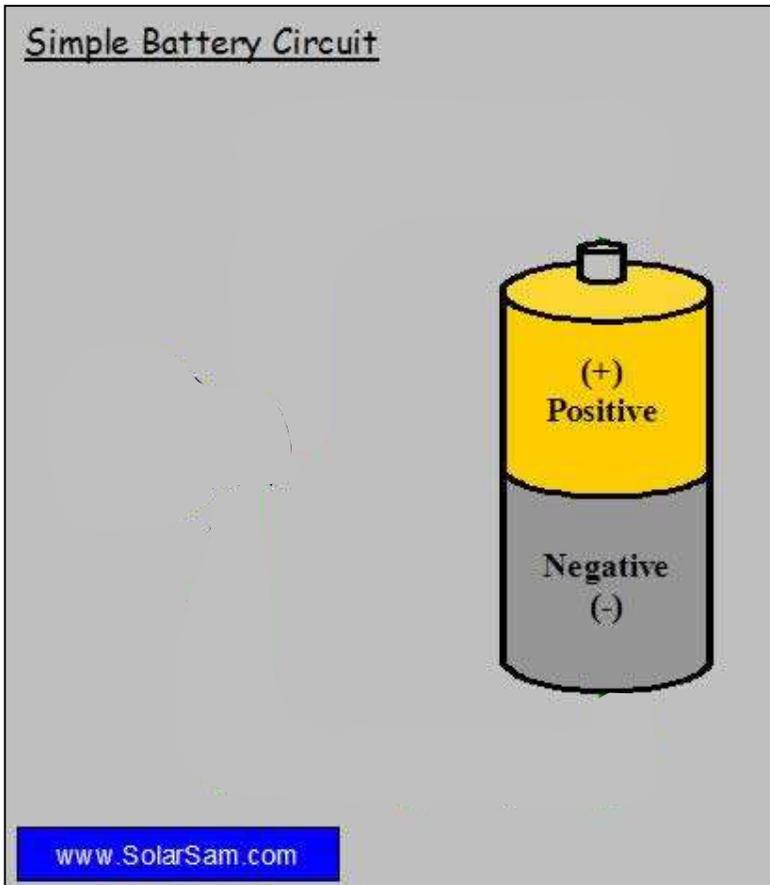
$$\Delta G^{\circ'} = 32 (7,29 \text{ kcal/mole}) = 233,28 \text{ kcal/mole}$$

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

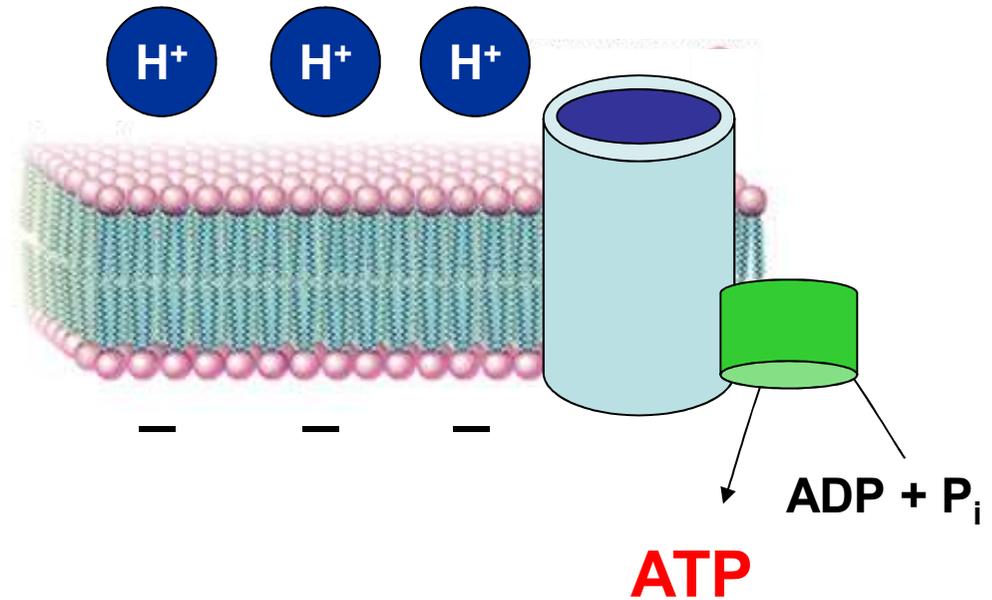
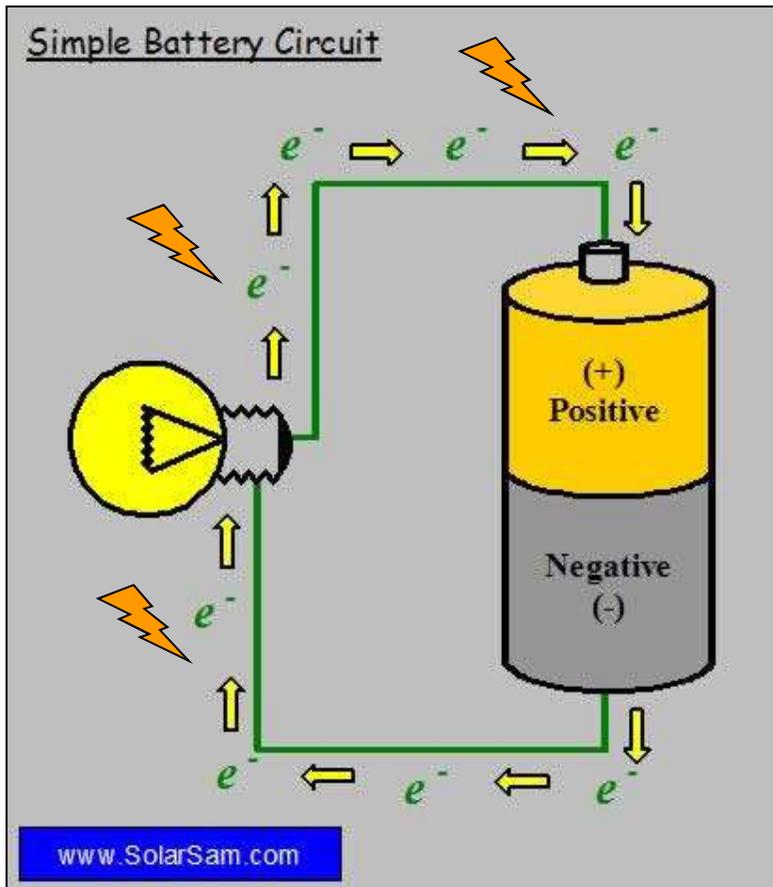
Si riesce a convertire circa il 34% dell'energia potenziale contenuta nei legami covalenti del glucosio

E il rimanente 66% ?

La catena di trasporto degli elettroni crea una BATTERIA



Parte dell'energia è dissipata in calore

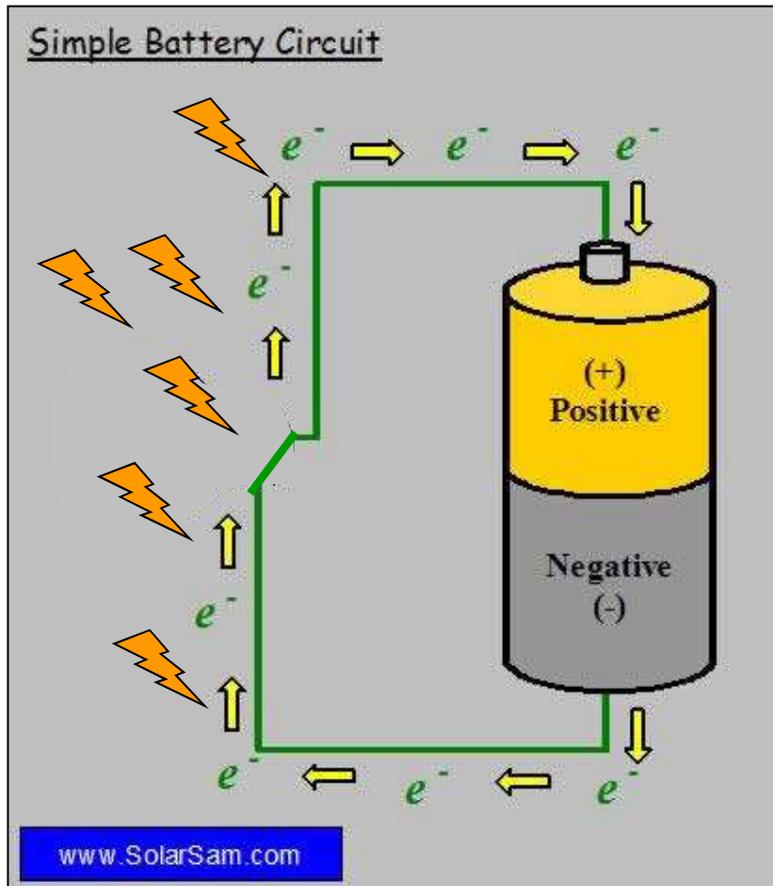


Anche la corrente di protoni genera calore.

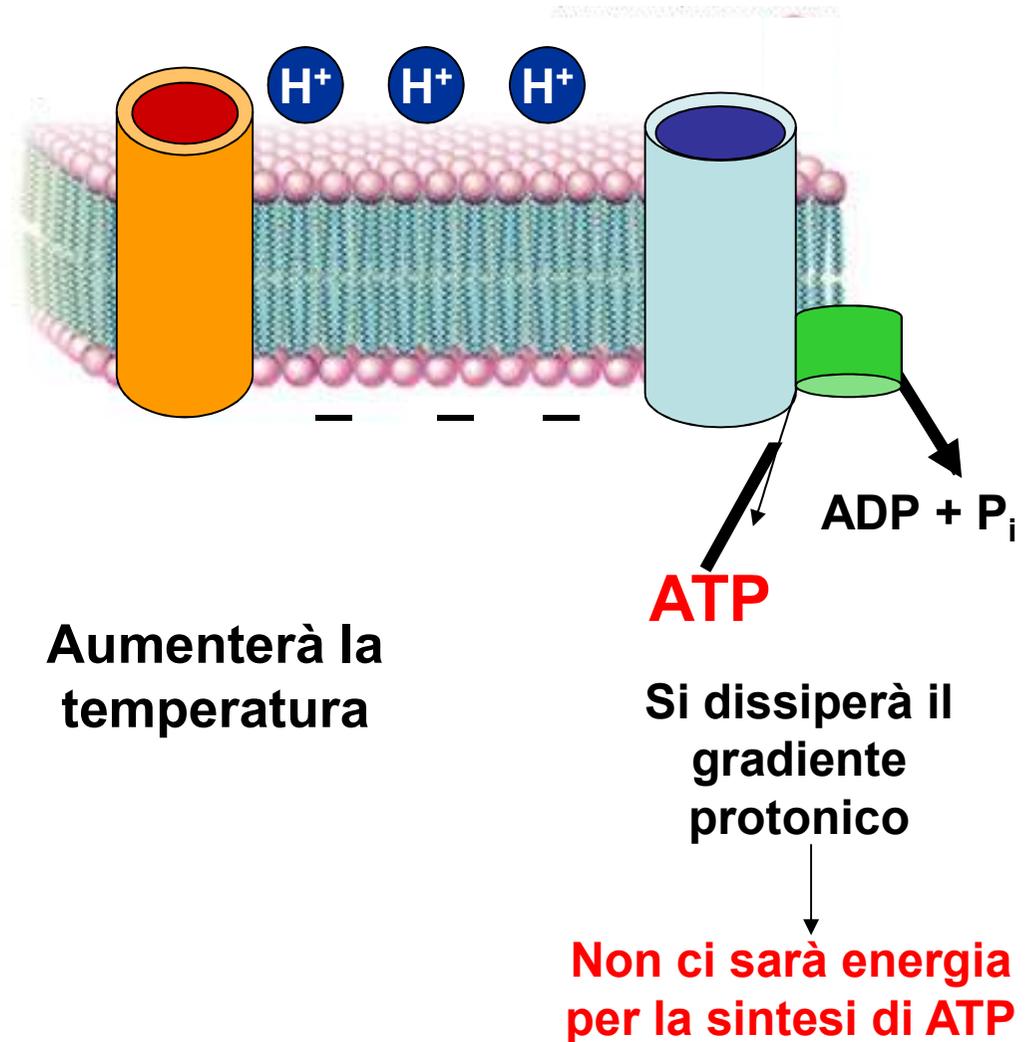
Il 66% dell'energia potenziale delle molecole nutrienti è ceduto come energia termica.

Contribuisce a mantenere la temperatura corporea a 37°C

La semplice chiusura del circuito genera calore

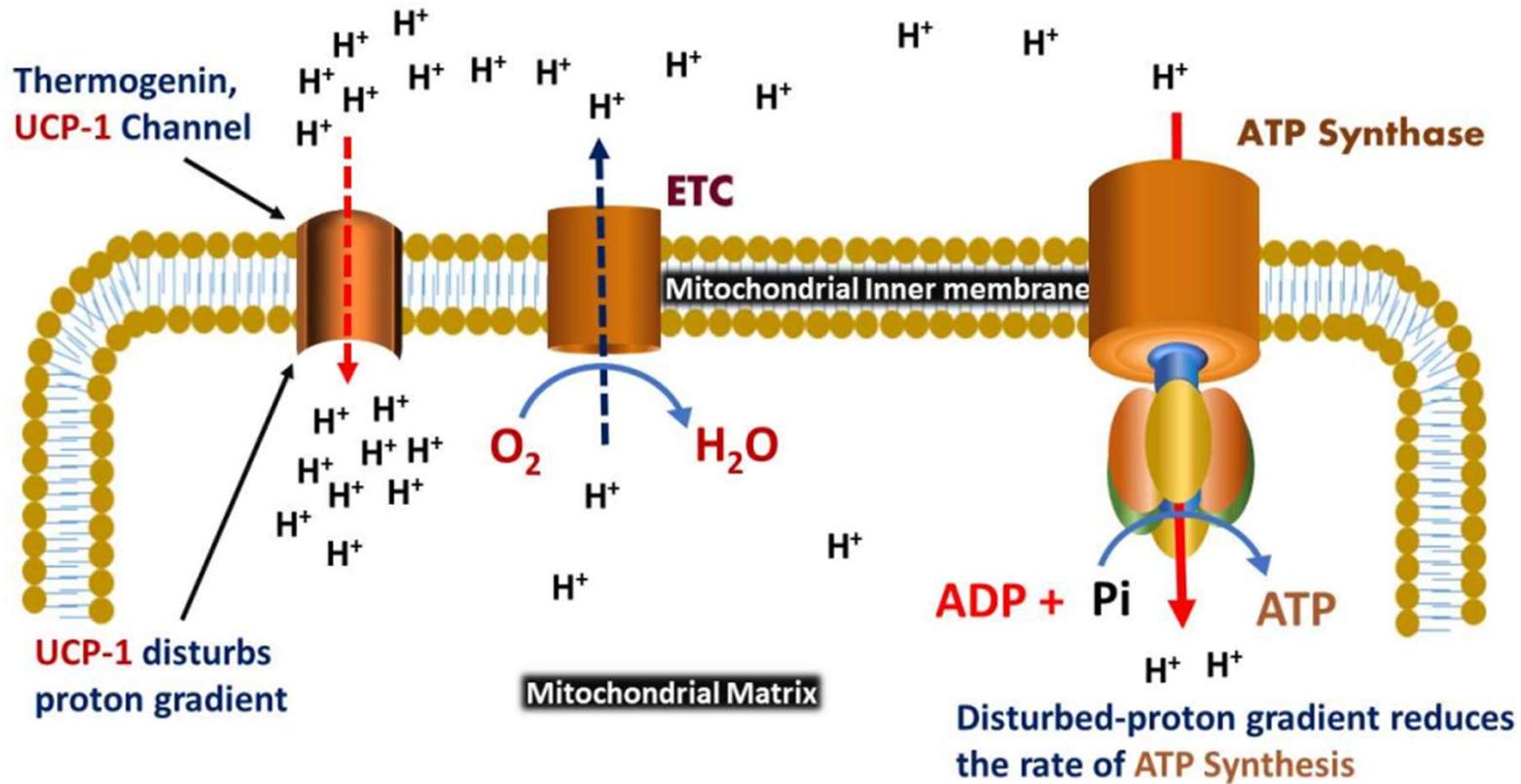


Che cosa succede se si crea un corto circuito?



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

UnCoupling Proteins (UCP) Thermogenins



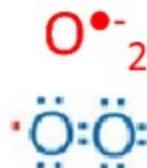
REACTIVE OXYGEN SPECIES – SPECIE REATTIVE DELL'OSSIGENO

ROS structure

Oxygen



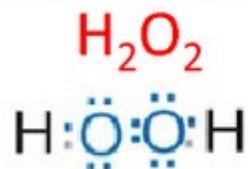
Superoxide anion



Peroxide



Hydrogen peroxide



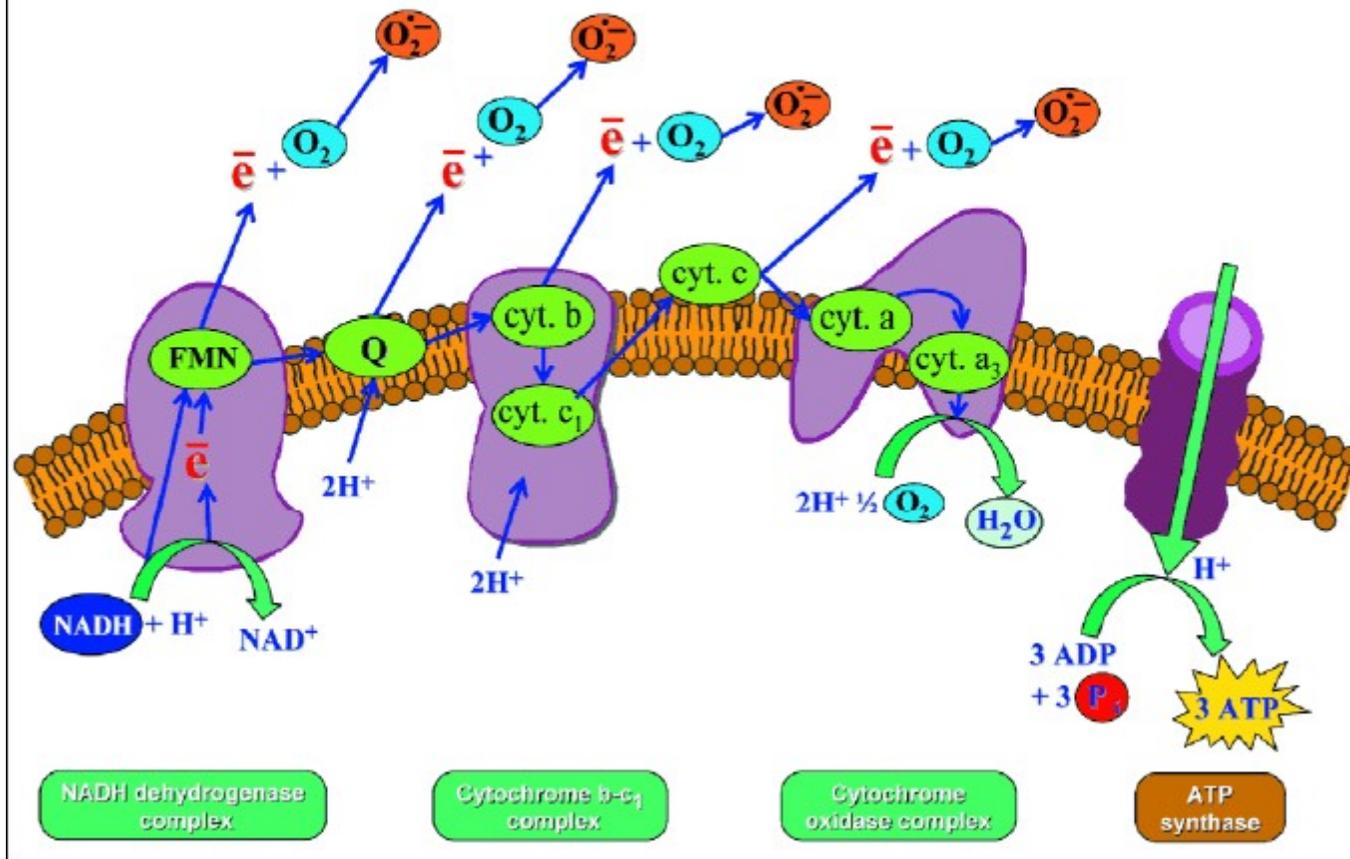
Hydroxyl radical

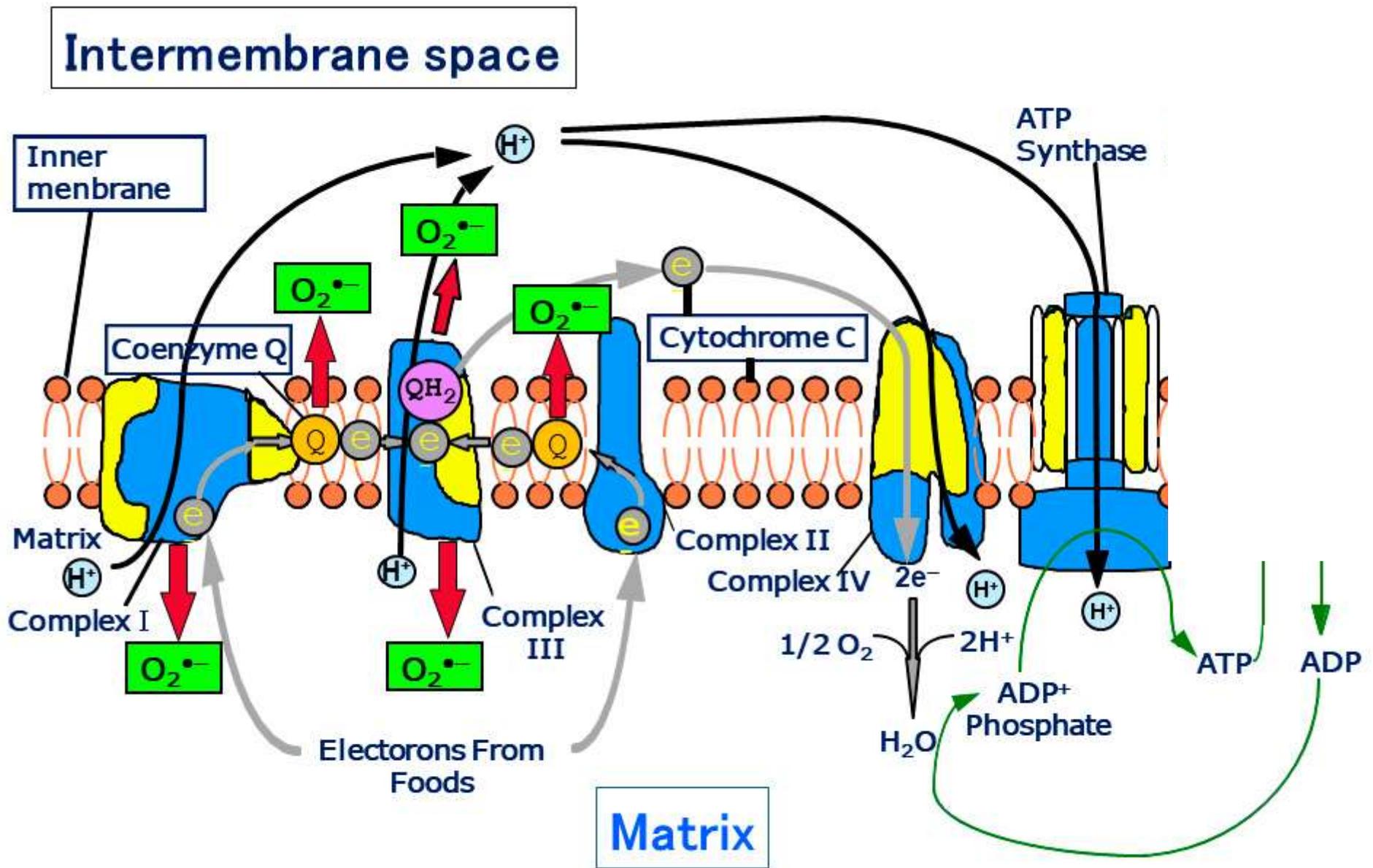


Hydroxyl ion



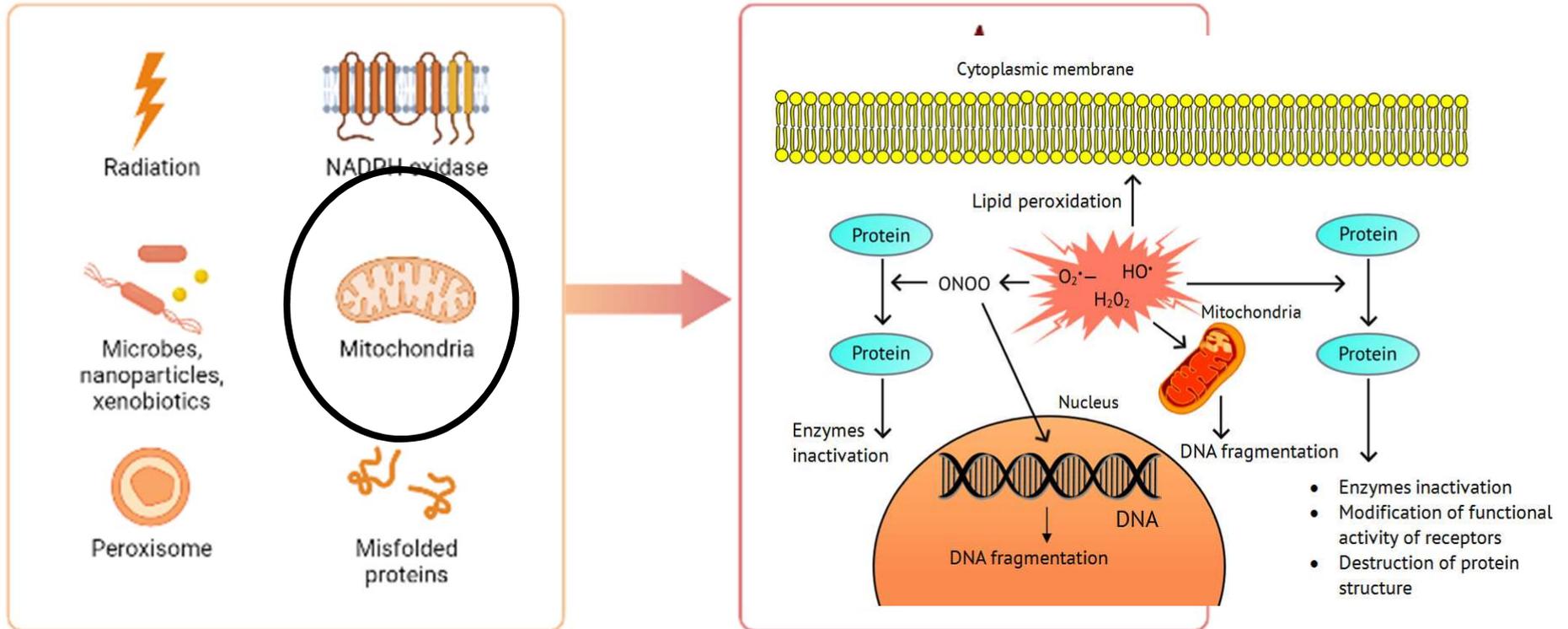
Electron transport chain and superoxide radical ion production

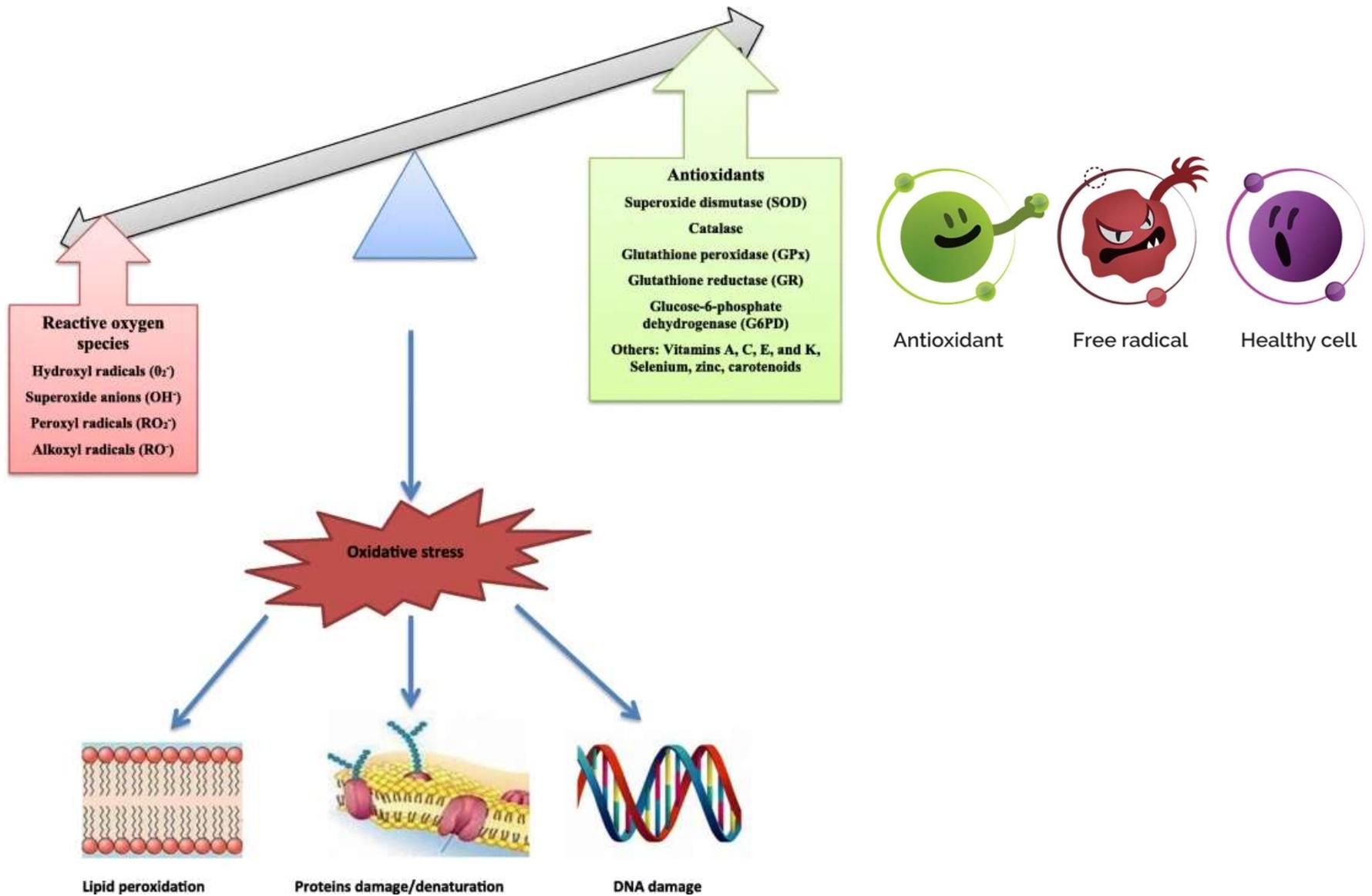




Electron Transport Chain (ETC)

Sources of Reactive Oxygen Species (ROS) Generation



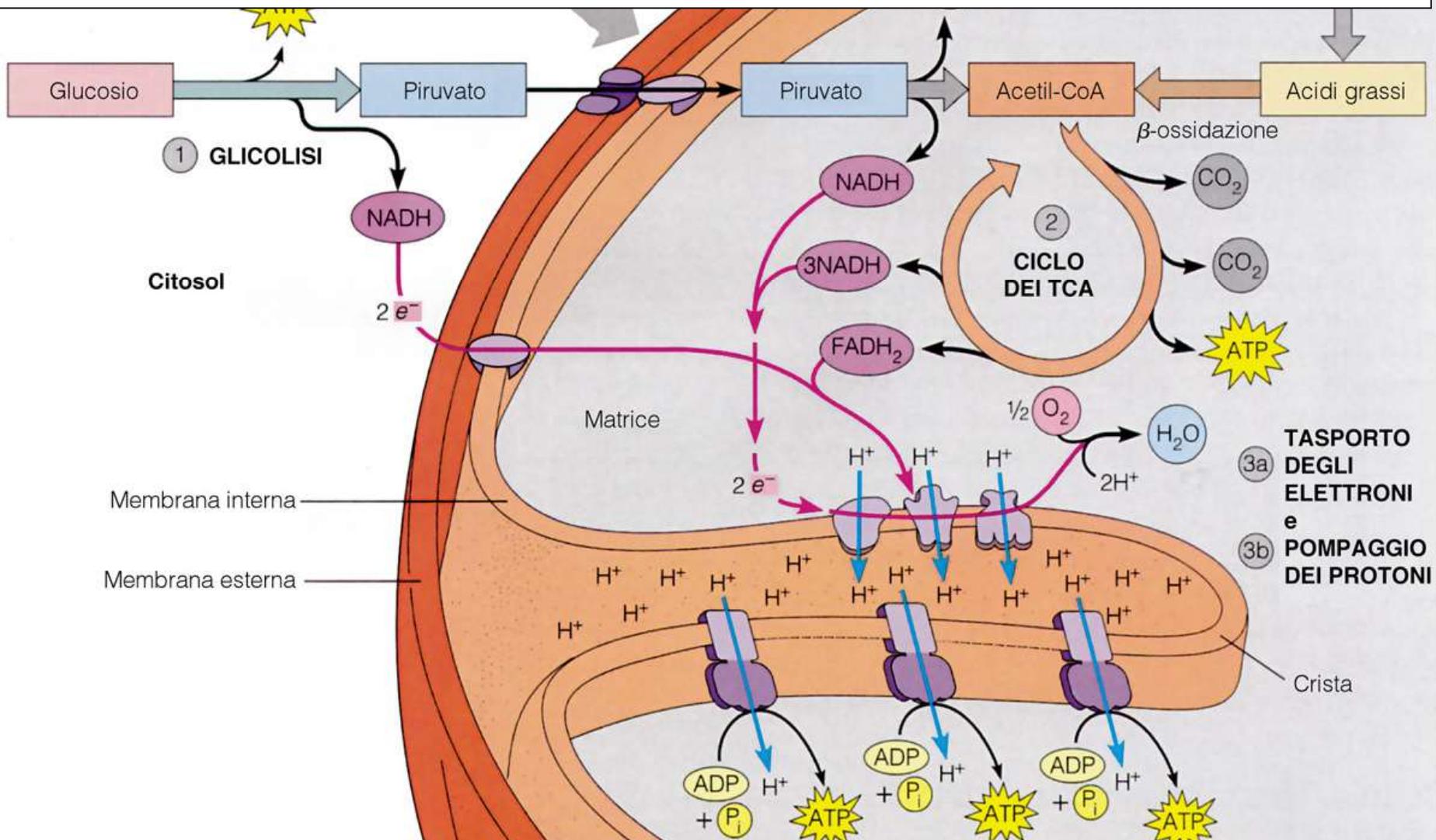


Dalla glicolisi:

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?

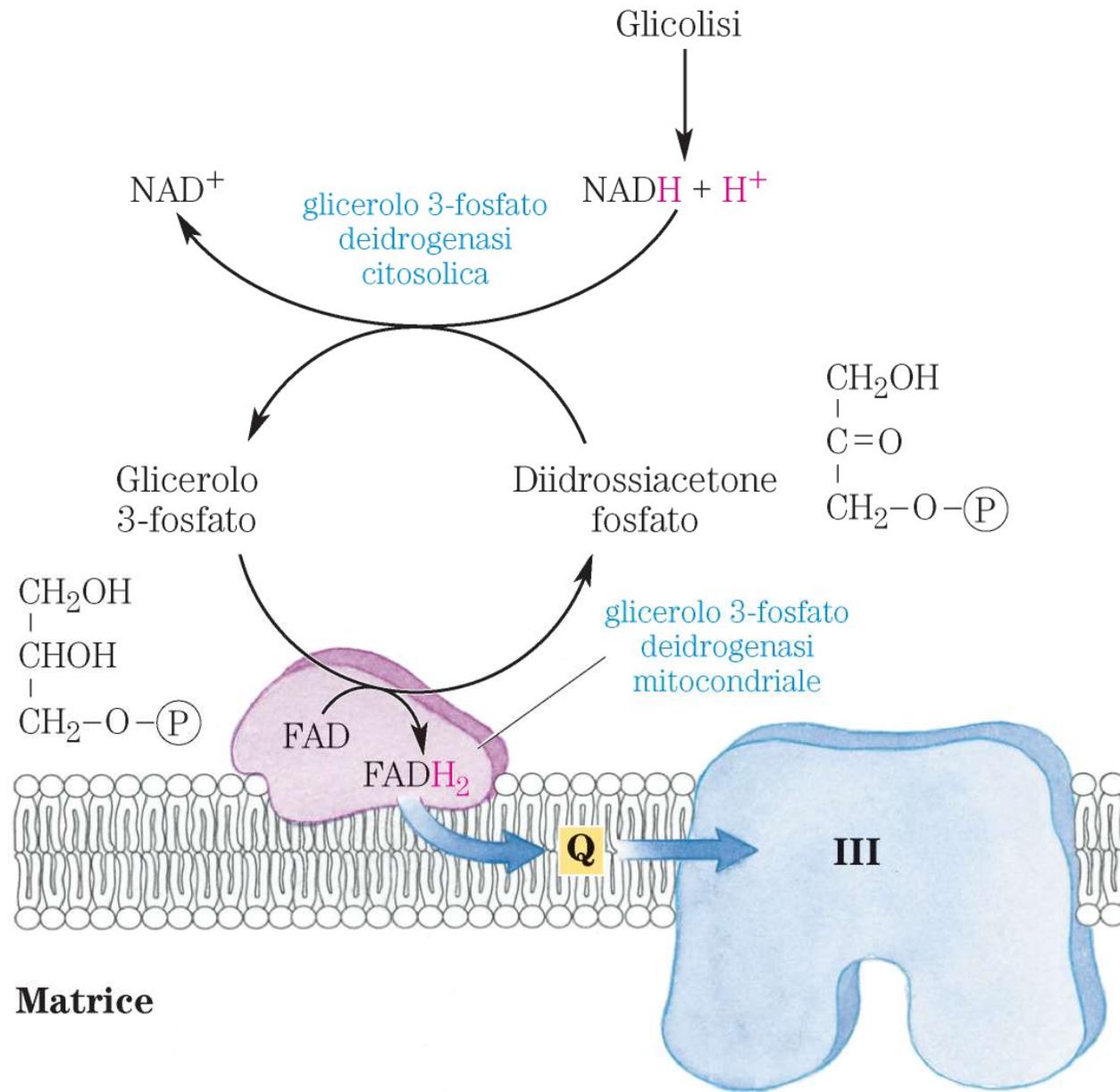
SISTEMI NAVETTA (“SHUTTLE”)

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

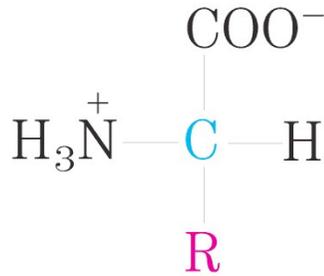
2 sistemi :

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

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



REAZIONE DI TRANSAMINAZIONE



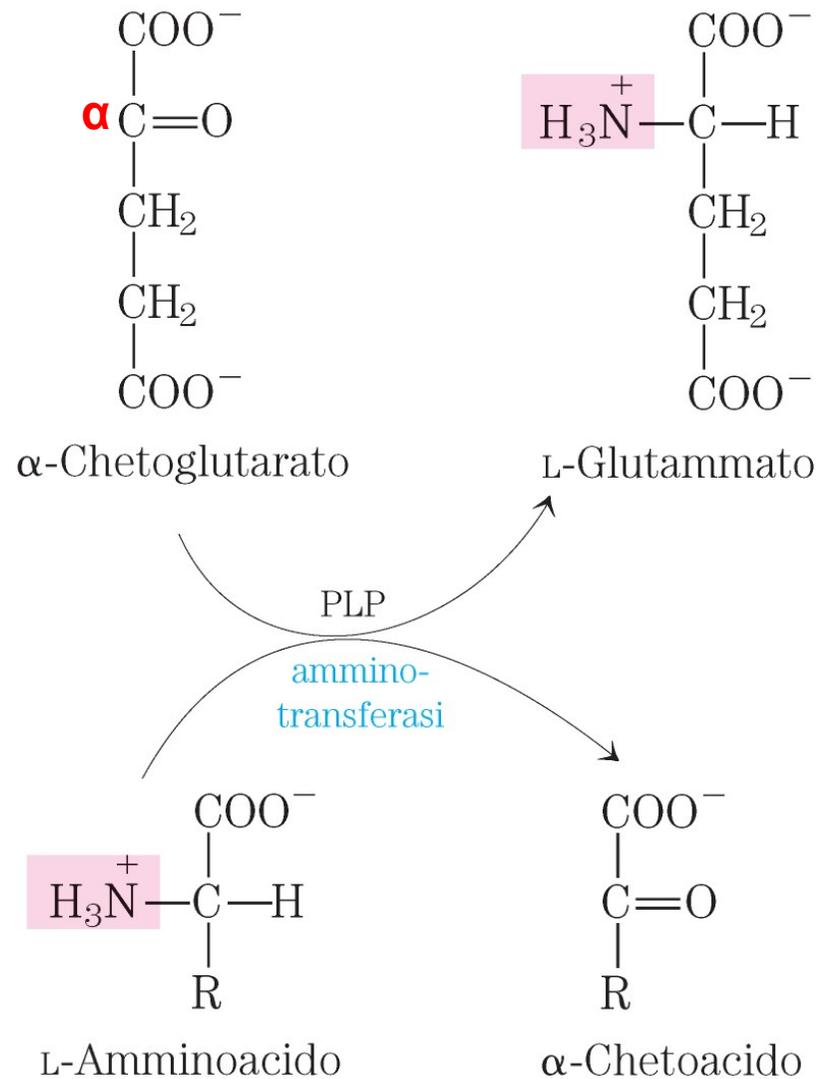
Il gruppo aminico degli aminoacidi viene trasferito al carbonio α dell' α -chetoglutarato

I prodotti sono

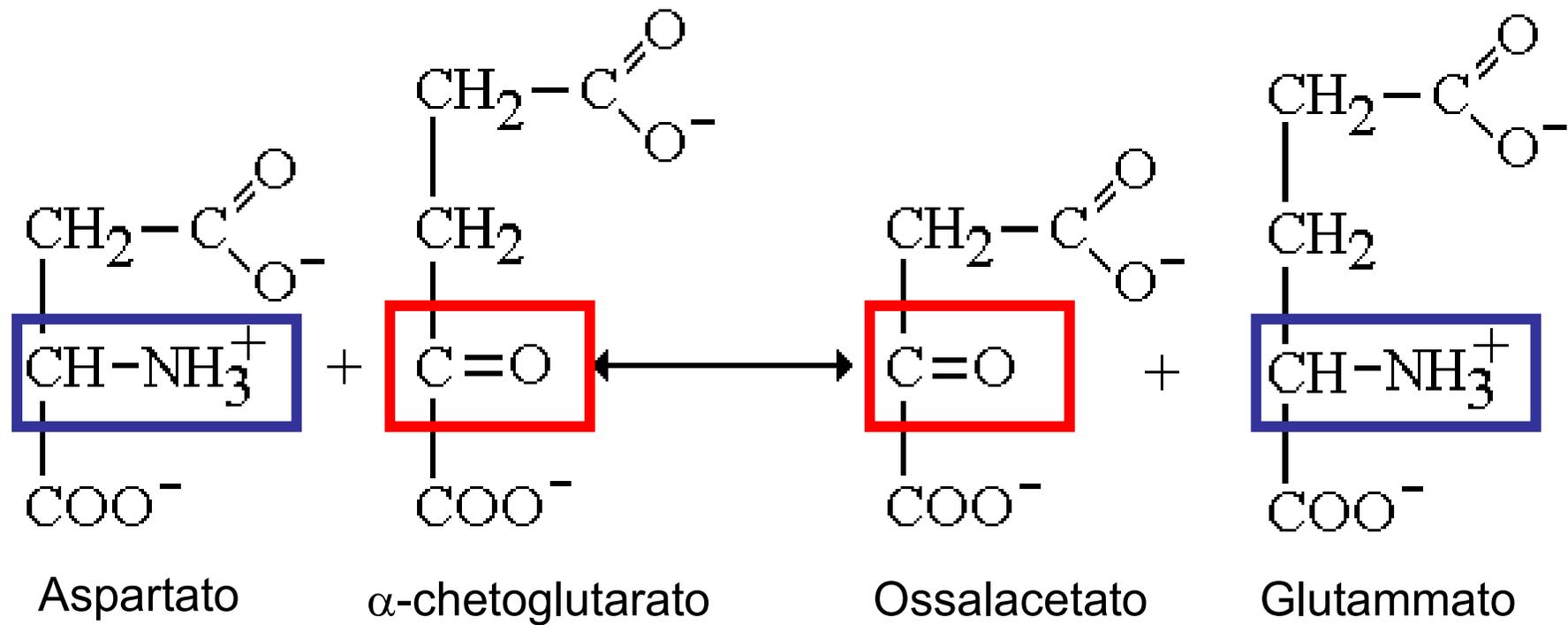
a) Glutammato

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

Reazione catalizzata dalle Amminotransferasi (Transaminasi)



TRANSAMINAZIONE



Il sistema navetta del malato-aspartato

