

La catena respiratoria consiste in quattro complessi : tre pompe protoniche e un collegamento fisico con il ciclo dell'acido citrico (1)

- ✚ Gli elettroni sono trasferiti dal **NADH** all' O_2 mediante una catena di tre grandi complessi proteici:
 - ✚ NADH-Q ossidoreduttasi
 - ✚ Q-citocromo C ossido-reduttasi
 - ✚ citocromo C ossidasi.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22505/>

La catena respiratoria consiste di quattro complessi: tre pompe protoniche e un collegamento fisico con il ciclo dell'acido citrico (2)

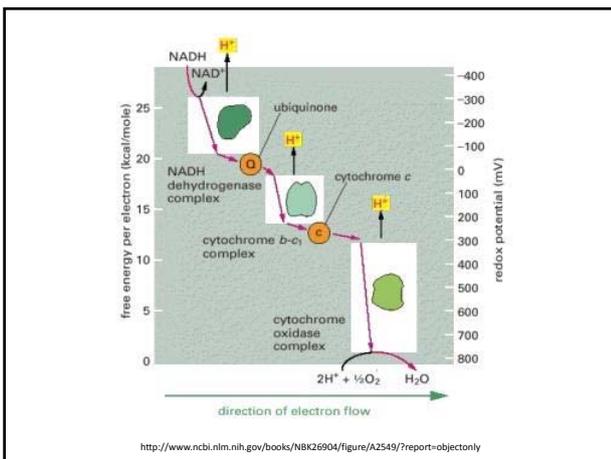
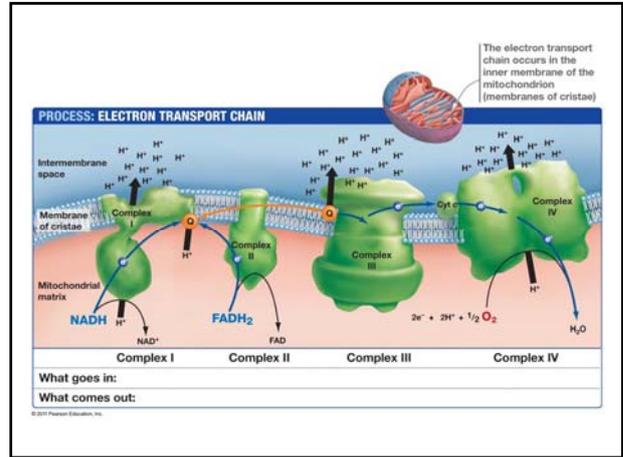
- ✚ L'**ubichinone** è un chinone **solubile nei lipidi** che diffonde rapidamente all'interno della membrana mitocondriale interna.
- ✚ L'ubichinone trasporta gli **elettroni dal $FADH_2$** , generati dalla succinato deidrogenasi nel ciclo dell'acido citrico, alla Q-citocromo C ossidoreduttasi, generata mediante la succinato Q-reduttasi.
- ✚ Il **citocromo C**, una piccola proteina **solubile nei lipidi**, fa da navetta per gli elettroni dalla Q-citocromo C ossidoreduttasi alla citocromo C ossidasi, la **componente finale della catena**, che **catalizza la riduzione dell' O_2 ad H_2O** .

La catena respiratoria consiste di quattro complessi: tre pompe protoniche e un collegamento fisico con il ciclo dell'acido citrico (3)

- ✚ La NADH-Q ossidoreduttasi, la succinato-Q reductasi, la Q-citocromo c ossidoreduttasi e la citocromo c ossidasi sono anche noti come **Complessi I, II, III e IV**, rispettivamente.
- ✚ La succinato-Q reductasi (complesso II), a differenza degli altri complessi, **non pompa elettroni**.

TABELLA 10.2 Potenziali standard di riduzione delle coppie redox di importanza biologica*

Coppia redox (forma ossidata → forma ridotta)	N. di elettroni	E_0' (V)
Acetato → piruvato	2	-0.70
Succinato → α-chetoglutarato	2	-0.67
Acetato → acetaldeide	2	-0.60
3-fosfoglicerato → gliceraldeide-3-P	2	-0.55
α-chetoglutarato → isocitrato	2	-0.38
NAD ⁺ → NADH	2	-0.32
FMN → FMNH ₂	2	-0.30
1,3-bisfosfoglicerato → gliceraldeide-3-P	2	-0.29
Acetaldeide → etanolo	2	-0.20
Piruvato → lattato	2	-0.19
FAD → FADH ₂	2	-0.18
Ossalacetato → malato	2	-0.17
Fumarato → succinato	2	-0.03
2H ⁺ → H ₂	2	0.00**
CuQ → CuQH ₂	2	-0.04
Citocromo b (Fe ³⁺ → Fe ²⁺)	1	-0.07
Citocromo c (Fe ³⁺ → Fe ²⁺)	1	-0.25
Citocromo a (Fe ³⁺ → Fe ²⁺)	1	-0.29
Citocromo a ₃ (Fe ³⁺ → Fe ²⁺)	1	-0.55
Fe ³⁺ → Fe ²⁺ (ferro inorganico)	1	-0.77
1/2 O ₂ → H ₂ O	2	-0.816



Mentre gli elettroni si muovono lungo la catena respiratoria, l'energia viene immagazzinata sotto forma di gradiente protonico attraverso la membrana interna (1)

- ⚡ La **fosforilazione ossidativa** è possibile dato che i trasportatori di elettroni sono strettamente associati a molecole proteiche.
- ⚡ Le proteine orientano gli elettroni lungo la catena respiratoria in modo tale che essi si muovano in sequenza da un complesso enzimatico al successivo.
- ⚡ Il trasferimento degli elettroni è accoppiato:
 - alla captazione e rilascio orientati di H⁺.
 - a modificazioni allosteriche nelle pompe protoniche coinvolte nella conversione di energia.
- ⚡ Il risultato complessivo finale è il **pompaggio di H⁺ attraverso la membrana interna** – dalla matrice allo spazio intermembrane – pilotato dal flusso energeticamente favorevole di elettroni.

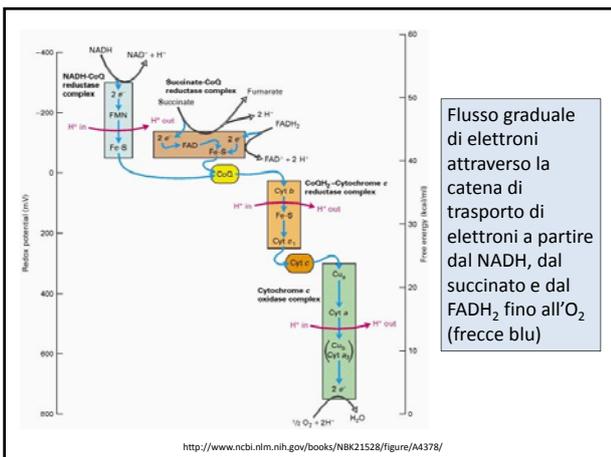
Mentre gli elettroni si muovono lungo la catena respiratoria, l'energia viene immagazzinata sotto forma di gradiente protonico attraverso la membrana interna (2)

Il movimento dell'H⁺ ha due conseguenze principali:

- Genera un **gradiente di pH** attraverso la membrana interna, con pH maggiore nella matrice rispetto allo spazio intermembrana (e al citosol, dato che la membrana esterna è permeabile).
- Genera un **gradiente di voltaggio** (potenziale di membrana) attraverso la membrana interna, in cui l'interno è negativo e l'esterno positivo (come risultato del flusso netto di ioni positivi).

Mentre gli elettroni si muovono lungo la catena respiratoria, l'energia viene immagazzinata sotto forma di gradiente protonico attraverso la membrana interna (3)

- Il gradiente di pH (ΔpH) pilota il ritorno degli H⁺ verso la matrice, così rinforzando l'effetto del potenziale di membrana (ΔV), che agisce per attrarre qualsiasi ione positivo verso la matrice e quindi per spingere gli ioni negativi fuori.
- Completivamente, il ΔpH e il ΔV costituiscono un **gradiente elettrochimico protonico**.
- Il gradiente elettrochimico protonico esercita una **forza proton-motrice** (misurata in millivolts, mV).



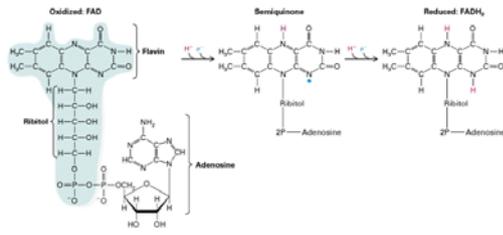
Tipi di trasportatori di elettroni nella catena respiratoria

1. Flavoproteine
 2. Proteine Ferro-Zolfo
 3. Citocromi
 4. Citocromi contenenti Rame
 5. Chinone: Coenzima Q
- All'eccezione del **coenzima Q**, tutti i trasportatori sono **proteine con speciali gruppi prostetici che vengono reversibilmente ridotti e ossidati**.

Seminario

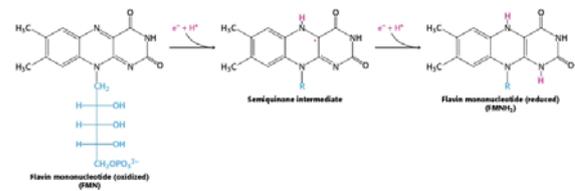
Flavoproteine - 1

- Utilizzano il flavina adenina dinucleotide (**FAD**) o flavina mononucleotide (**FMN**) come gruppo prostetico.
- Trasferiscono sia elettroni che protoni quando vengono reversibilmente ossidate o ridotte.



Seminario

Flavoproteine - 2



La riduzione della flavina mononucleotide (FMN) a FMNH₂ procede mediante un intermediario semichinonico.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22505/figure/A2508/?report=objectonly>

Seminario

Proteine Ferro – Zolfo (non-eme ferro proteine)

- Contengono **centri Ferro-Zolfo**: **atomi di Ferro e di Zolfo formando complessi di coordinazione con gruppi di cisteina** della proteina.
- I veri trasportatori di elettroni sono gli atomi di Ferro, che si alternano tra lo stato ossidato (Fe³⁺) e lo stato ridotto (Fe²⁺), durante il trasporto degli elettroni, che coinvolge un solo elettrone alla volta e nessun protone.

Seminario

Centri Ferro - Zolfo

- Sono gruppi prostetici contenenti Ferro, che **non è** legato al gruppo eme.
- Gli atomi di Ferro sono legati sia ad atomi di Zolfo (S) inorganico che ad atomi di Zolfo di residui di cisteina di una proteina.
- Alcuni atomi di Fe nel centro portano una carica +2, altri hanno una carica +3.
- Tuttavia, la carica netta di ogni atomo di Fe è in realtà tra +2 e +3 dato che gli elettroni delle loro orbitali più esterne insieme agli elettroni extra consegnati nella catena di trasporto di elettroni sono dispersi fra gli atomi di Fe e si muovono rapidamente da un atomo all'altro.

Seminario

Strutture di due tipi di centri Ferro-Zolfo (Fe-S)

(A) Un centro di tipo 2Fe-2S.
 (B) Centro di tipo 4Fe-4S.

Nonostante contengano molteplici atomi di Ferro, ogni centro Fe-S può trasportare soltanto un elettrone alla volta. Ci sono più di sette diversi centri Fe-S nella catena respiratoria..

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/figure/A2536/?report=objectonly>

Seminario

I **centri Fe-S** nelle proteine Ferro-Zolfo (dette anche proteine a ferro non-emo) giocano un ruolo chiave in una gran diversità di reazioni biologiche di riduzione.

La NADH-Q ossidoreduttasi contiene clusters di tipo 2Fe-2S e di tipo 4Fe-4S.

Gli atomi di ferro di questi complessi passano ciclicamente fra stati Fe²⁺ (ridotto) o Fe³⁺ (ossidati).

Al contrario dei chinoni e delle flavine, i centri Fe-S di solito subiscono ossidazione-riduzione senza rilasciare o legare protoni.

Gli elettroni dei centri Fe-S della NADH-Q ossidoreduttasi sono convogliati al coenzima Q portando al pompaggio di quattro ioni di idrogeno dalla matrice del mitocondrio.

Seminario

Seminario

Citocromi

Anche i citocromi contengono Ferro, ma come parte di un gruppo prostetico porfirinico – EME.

Esistono almeno cinque tipi diversi di citocromi nella catena di trasporto di elettroni: **b, c, c₁, a, a₃**.

E' l'atomo di ferro che funge da trasportatore di elettroni: trasportatore di un singolo elettrone, non di un protone.

Citocromi **b, c₁, a e a₃**: **proteine integrali** di membrana.

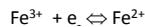
Citocromo **c**:

- proteina periferica di membrana**, associata alla superficie esterna della membrana mitocondriale interna.
- Non fa parte di un grande complesso proteico ma invece **può diffondere rapidamente nel piano della membrana**: proprietà fondamentale per il trasporto di elettroni tra i complessi proteici.

Seminario

Eme e citocromi (1)

- Diversi tipi di **eme**, un gruppo prostetico contenente **ferro** simile a quello che si trova nell'emoglobina e nella mioglobina, **sono strettamente legati** (covalentemente o non covalentemente) **ad un insieme di proteine mitocondriali chiamate citocromi**.
- Ogni citocromo è designato con una lettera: **a, b, c o c1**.
- Il flusso di elettroni lungo i citocromi si svolge per ossidazione e riduzione dell'atomo di ferro nel centro della molecola di eme:

Lodish et al., 7^a ed.

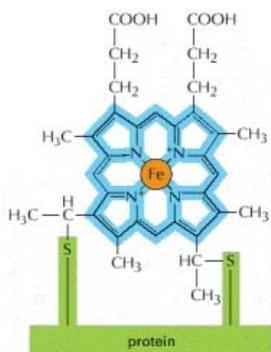
Seminario

Eme e citocromi (2)

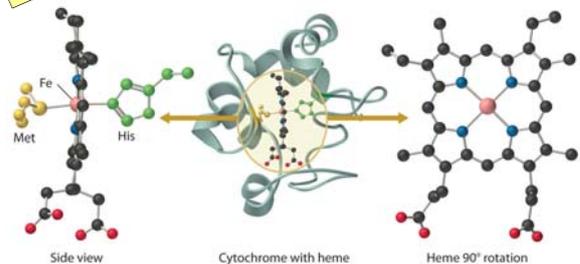
- Poiché l'anello eme dei citocromi consiste in atomi legati alternativamente da legami doppi e singoli, possono esistere un gran numero di **forme di risonanza ibride**. Ciò permette all'elettrone extra consegnato al citocromo di venire delocalizzato fra gli atomi di carbonio e di azoto del gruppo eme nonché sull'ione Ferro.
- I diversi **citocromi** hanno **gruppi eme** e **atomi vicini (legami assiali) leggermente diversi**, il che crea ambienti diversi per l'ione Fe. Perciò **ogni citocromo ha un potenziale di riduzione diverso**.

Lodish et al., 7^a ed.

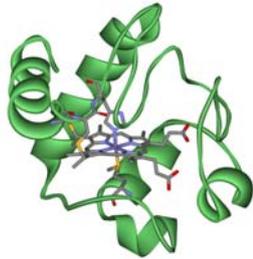
Seminario


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/figure/A2535/>

Seminario


http://chemwiki.ucdavis.edu/Inorganic_Chemistry/Descriptive_Chemistry/d-Block_Elements/23.6_Transition_Metals_in_Biology

Struttura del Citocromo c di cuore di cavallo



I citocromi sono **emoproteine legate a membrane** che contengono gruppi eme e che sono coinvolte nel trasporto di elettroni

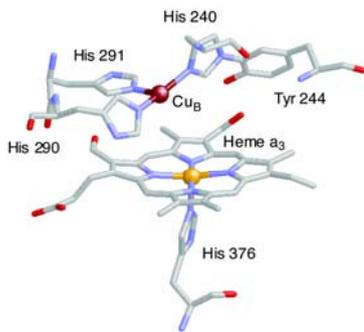
<http://en.wikipedia.org/wiki/Cytochrome>

Seminario

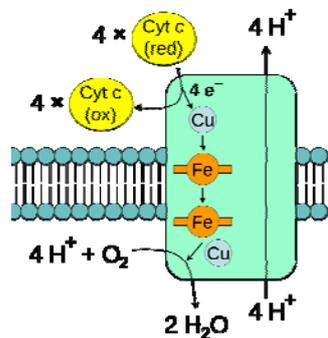
Citocromi contenenti Rame

- Oltre agli atomi di Ferro, i citocromi a e a_3 contengono anche un singolo atomo di Rame legato al gruppo eme del citocromo, dove si associa a un atomo di Ferro formando un **centro bimetallico Ferro-Rame (Fe/Cu)**.
- Anche gli ioni **Rame** possono passare reversibilmente dalla **forma ossidata** (Cu^{2+}) a quella **ridotta** (Cu^{1+}), accettando o donando singoli elettroni.
- Il centro Fe/Cu svolge un ruolo fondamentale per mantenere una molecola di O_2 legata al complesso della citocromo ossidasi finché essa non ha prelevato i quattro elettroni necessari: a questo punto gli atomi di ossigeno sono rilasciato sotto forma di due molecole di acqua.

Structure of the fully reduced (FeIII---CuII) bovine cytochrome c oxidase structure, Cu---Fe = 5.1 Å.



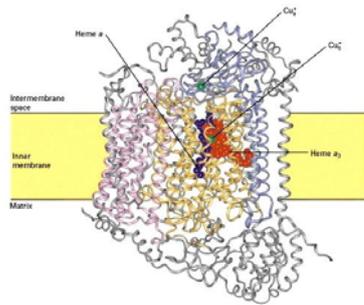
<http://www.pnas.org/content/100/7/3623/F1.expansion.html>



Meccanismo di azione della citocromo c ossidasi nella membrana mitocondriale interna

http://en.wikipedia.org/wiki/Copper_deficiency

Struttura molecolare della zona interna del complesso della citocromo ossidasi nella membrana mitocondriale interna



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21528/figure/A4394/>

Seminario

Coenzima Q (ubichinone) - 1

- ⚡ Unico **componente non proteico** della catena di trasporto degli elettroni.
- ⚡ Non fa parte di alcun complesso respiratorio
- ⚡ La **riduzione si svolge in due tappe successive** a singolo elettrone, dalla forma chetonica (CoQ), passando attraverso la forma semichinonica (CoQH), a quella diidrochinonica (CoQH₂).
- ⚡ Sia CoQ che CoQH₂ sono solubili nei fosfolipidi e diffondono liberamente nel centro idrofobico della membrana mitocondriale o della membrana plasmatica dei batteri
- ⚡ **Più abbondante trasportatore di elettroni della catena di trasporto.**
- ⚡ Serve come punti di raccolta di elettroni provenienti dai gruppi prostetici ridotti delle deidrogenasi di membrana FMN- o FAD-dipendenti.

Seminario

Coenzima Q (ubichinone) - 2

- ⚡ Il CoQ accetta non solo elettroni ma anche protoni quando viene ridotto, rilasciandoli quando viene ossidato.
- ⚡ Ruolo fondamentale nel pompaggio di protoni attraverso la membrana mitocondriale interna
- ⚡ Ognivolta che il CoQ viene ridotto a CoQH₂ esso accetta protoni da un lato della membrana e poi diffonde verso la superficie esterna dove viene ossidato a CoQ, espellendo i protoni dall'altra parte della membrana.

Seminario

Chinoni - 1

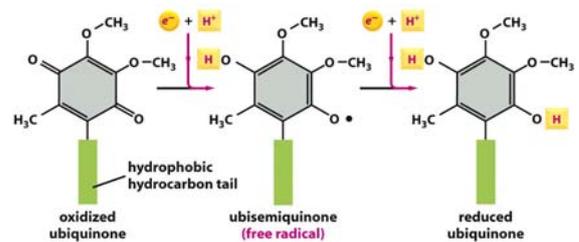


Figure 14-24 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

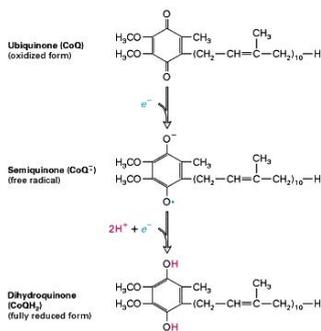
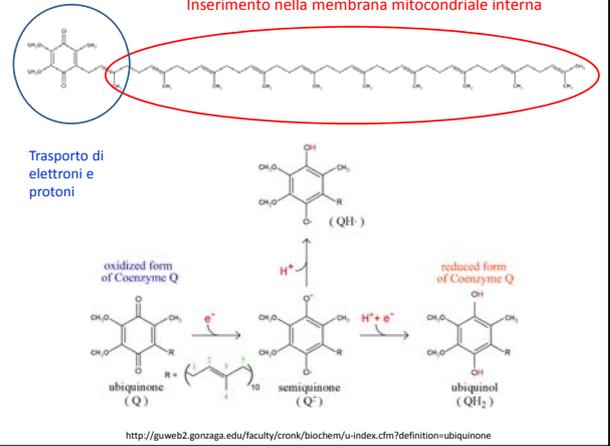
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK28380/figure/A3520/>

Seminario

Chinoni – didascalia figura precedente -2

- Ciascuno dei trasportatori di elettroni della catena respiratoria cattura un H⁺ dall'ambiente acquoso per ogni elettrone che accetta, e può trasportare sia uno che due elettroni come parte di un atomo di idrogeno (giallo).
- Quando a sua volta dona i suoi elettroni al trasportatore successivo, questi protoni vengono rilasciati.
- Nei mitocondri il chinone è l'**ubichinone (coenzima Q)**; **la sua lunga coda idrofobica**, che confina l'ubichinone nella membrana, consiste in 6-10 unità isopreniliche con 5 atomi di carbonio, a seconda dell'organismo.
- Il trasportatore di elettroni corrispondente nelle piante è il plastochinone, che è quasi identico.

Inserimento nella membrana mitocondriale interna

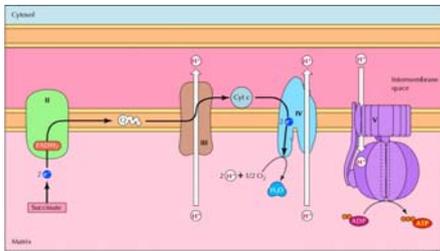


Struttura del **coenzima Q (CoQ)** o **ubichinone**, illustrante la sua capacità di trasportare due protoni e due elettroni.

Seminario

Il diidrobichinone è il punto di ingresso degli elettroni del FADH₂ delle flavoproteine

- L'enzima del ciclo dell'acido citrico **succinato deidrogenasi**, che genera FADH₂ con l'ossidazione del succinato in fumarato, fa parte del complesso succinato-Q reductasi (**complesso II**) una proteina integrale della membrana mitocondriale interna.
- Il FADH₂ non lascia il complesso [gruppo prostetico]; invece gli elettroni sono trasferiti a centri Fe-S e successivamente al Q per dare entrata nella catena di trasporto degli elettroni.
- Il complesso succinato-Q reductasi, e altri enzimi che trasferiscono gli elettroni del FADH₂ a Q, al contrario della NADH-Q ossidoreductasi, non trasportano protoni.
- Perciò, **si forma meno ATP dall'ossidazione del FADH₂ che non del NADH**.



Trasporto di elettroni dal FADH₂

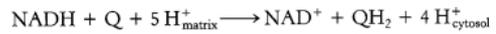
Gli elettroni del succinato entrano nella catena di trasporto degli elettroni mediante il FADH₂ a livello del complesso II. Da lì sono trasferiti al coenzima Q e trasportati attraverso il resto della catena di trasporto degli elettroni. Il trasferimento di elettroni dal FADH₂ al coenzima Q non è associato ad un significativo calo di energia libera, e perciò non vengono pompati protoni attraverso la membrana nel complesso II.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9885/figure/A1645/?report=objectonly>

Seminario

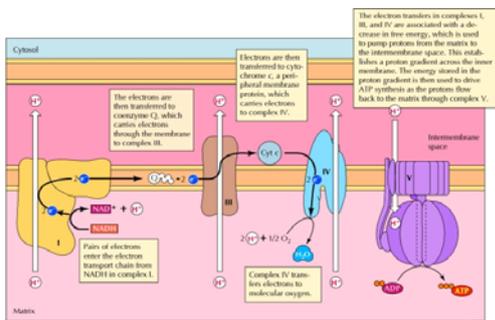
Gli elettroni ad elevato potenziale del NADH entrano nella catena respiratoria a livello della NADH-Q ossidoreduttasi

- Gli elettroni del NADH entrano nella catena a livello della NADH-Q ossidoreduttasi (NADH deidrogenasi), un enorme enzima /pompa protonica con almeno 34 catene polipeptidiche.
- La reazione catalizzata da questo enzima sembra essere:



- Il passo iniziale è il legame di NADH e il trasferimento dei suoi due elettroni ad elevata energia al gruppo prostetico FMN (flavina mononucleotide) di questo complesso per dare la forma ridotta FMNH₂.
- Come i chinoni, anche il FMN può accettare un elettrone invece che due per formare un radicale semichinonico.
- L'accettore di elettroni del FMN, l'anello isoalloxazinico, è identico a quello del FAD.
- Gli elettroni vengono allora trasferiti dal FMNH₂ ad una serie di centri Fe-S, il secondo tipo di gruppi prostetici della NADH-Q ossidoreduttasi.

Trasporto di elettroni dal NADH

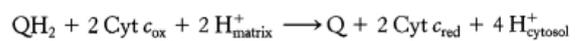


<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9885/figure/A1644/?report=objectonly>

Seminario

Gli elettroni fluiscono dall'ubichinolo al citocromo C tramite la Q-citocromo C ossidoreduttasi

- La seconda delle tre pompe protoniche della catena respiratoria è la Q-citocromo c ossidoreduttasi (**Complesso III** o **citocromo ossidasi**).
- Un **citocromo** è una **proteina che contiene un gruppo prostetico eme e** che trasferisce elettroni.
- Il ferro del gruppo prostetico alterna fra uno stadio ridotto ferroso (Fe²⁺) e uno stato ossidato ferrico (Fe³⁺) durante il trasporto degli elettroni.
- La funzione della Q-citocromo C ossidoreduttasi è quella di catalizzare sia la **trasferta di elettroni dal QH₂ al citocromo c ossidato (Cyt c)**, una proteina solubile in acqua, che, concomitantemente, **pompate protoni fuori dalla matrice mitocondriale**.



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22505/>

Seminario

Trasporto di protoni transmembrana: il ciclo Q

➤ **Ciclo Q:** meccanismo per l'accoppiamento del trasporto elettronico da Q al citocromo c con il trasporto transmembrana dei protoni.

I due elettroni di un QH₂ legato sono trasferiti, uno al citocromo c e l'altro a Q legato per formare il semichinone Q[•]. Il Q formato si dissocia e viene sostituito da un secondo QH₂, che anche esso dà i suoi elettroni, uno ad una seconda molecola di citocromo c e l'altro per ridurre Q[•] a QH₂. Questo secondo trasferimento di elettroni porta alla captazione di due protoni dalla matrice. I gruppi prostetici sono illustrati nelle loro forme ossidate in blu e forme ridotte in rosso.

Seminario

La citocromo c ossidasi catalizza la riduzione dell'ossigeno molecolare ad acqua (1)

➤ Lo stadio finale è l'ossidazione del citocromo c ridotto generato dal complesso III, che è accoppiata alla riduzione di O₂ a due molecole di H₂O, catalizzata dalla citocromo c ossidasi (complesso IV).

➤ La citocromo c ossidasi bovina consiste di 13 subunità, di cui 3 (subunità I, II e III) sono codificate dal genoma mitocondriale.

- Contiene due gruppi eme A e tre ioni rame (Cu), disposti come due centri di rame, designati A e B.
- Uno dei centri, Cu_A/Cu_A contiene due ioni rame legati da due residui ponti di cisteina. Questo centro accetta inizialmente elettroni dal citocromo c ridotto.
- Il rimanente ione rame, Cu_B, è coordinato da tre residui di istidina, uno dei quali è modificato mediante legame covalente a un residuo di tirosina.
- L'eme A differisce dall'eme del citocromo C e C1 in tre modi: (1) un gruppo formile sostituisce un gruppo metile; (2) una catena idrocarburica C₁₅ sostituisce uno dei gruppi vinilici; (3) l'eme non è covalentemente legato alla proteina.

➤ Le due molecole di eme a e eme a₃ hanno proprietà diverse perchè sono localizzate in diversi microambienti all'interno della citocromo c ossidasi.

➤ L'eme a porta elettroni dal Cu_A/Cu_A mentre l'eme a₃ passa gli elettroni a Cu_B al quale è direttamente adiacente.

➤ Complessivamente, l'eme a₃ e Cu_B formano il centro attivo dove l'O₂ è ridotto ad H₂O.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22505/figure/A2518/?report=objectonly>

Seminario

1. Electron transfer to Cu_B
 2. Electron transfer to Fe in heme a₃
 3. Both Cu_B and Fe in heme a₃ in reduced state
 4. Binding of O₂
 5. Formation of peroxide bridge
 6. Cleavage of O-O bond
 7. Reduction of the heme group
 8. Release of water

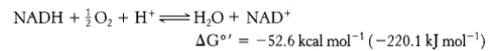
$$4 \text{ Cyt } c_{\text{red}} + 4 \text{ H}^+_{\text{matrix}} + \text{O}_2 \longrightarrow 4 \text{ Cyt } c_{\text{ox}} + 2 \text{ H}_2\text{O}$$

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22505/figure/A2519/?report=objectonly>

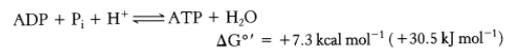
Mitocondri

SINTESI DELL'ATP**Un gradiente protonico fornisce l'energia per la sintesi dell' ATP (1)**

- Il flusso di elettroni dal NADH all'O₂ è un processo esergonico:



- Questo processo è accoppiato alla sintesi di ATP, un processo endergonico:



- La sintesi dell'ATP è svolta da un complesso molecolare presente nella membrana mitocondriale interna:

- Noto precedentemente come *F₁F₀ATPase* perchè è stato scoperto mediante la sua catalisi del processo inverso, l'idrolisi dell'ATP.
- ATP sintasi* è il nome preferibile perchè enfatizza il suo ruolo reale nel
- Viene anche chiamato **Complesso V**.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22388/>

Un gradiente protonico fornisce l'energia per la sintesi dell' ATP (2)

- In 1961, Peter Mitchell propose che il **trasporto degli elettroni** e la **sintesi dell'ATP** fossero **accoppiati** mediante un **gradiente protonico attraverso la membrana mitocondriale interna**, piuttosto che mediante un intermediario covalente ad alta energia.
- Nel suo modello, il **trasferimento di elettroni lungo la catena respiratoria portava al pompaggio di protoni dalla matrice allo spazio fra la membrana mitocondriale interna e quella esterna**.
- La concentrazione di H⁺ diventa minore nella matrice, generando un campo elettrico in cui il lato della matrice è negativo rispetto allo spazio intermembrane [*n*^o protoni inferiore rispetto allo spazio intermembrane].

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22388/>

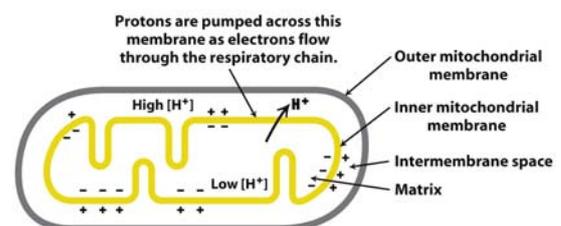


Figure 18.22
Biochemistry, Seventh Edition
© 2012 W. H. Freeman and Company

http://oregonstate.edu/instruct/bb-451/spring13/stryer7/CH18/figure_18_22.jpg



 The Official Web Site of the Nobel Prize

The Nobel Prize in Chemistry 1978

Peter Mitchell

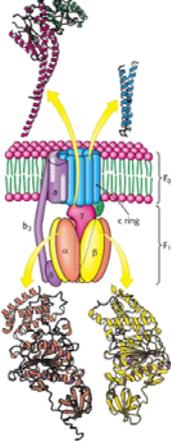


Peter D. Mitchell

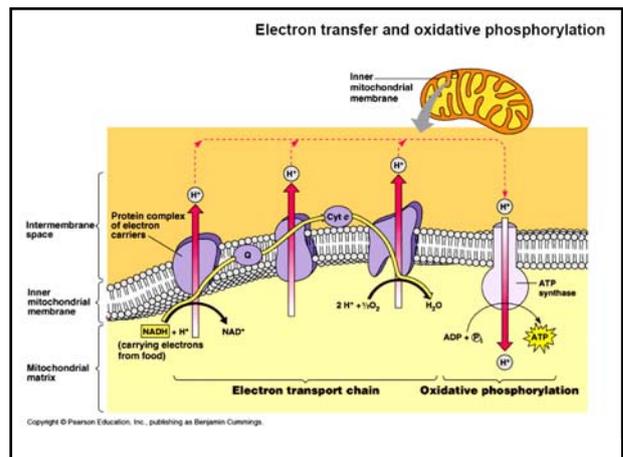
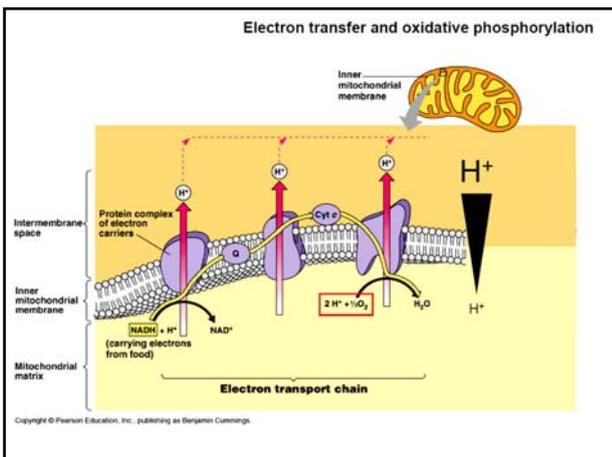
The Nobel Prize in Chemistry 1978 was awarded to Peter Mitchell "for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory".

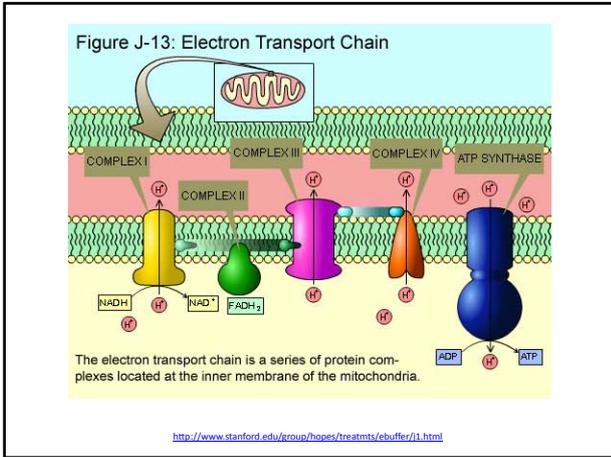
http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1978/

Struttura della ATP Sintasi



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22388/figure/A2532/?report=object-only>

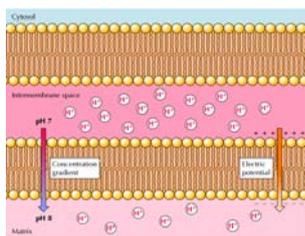




Il gradiente protonico pilota la sintesi dell'ATP (1)

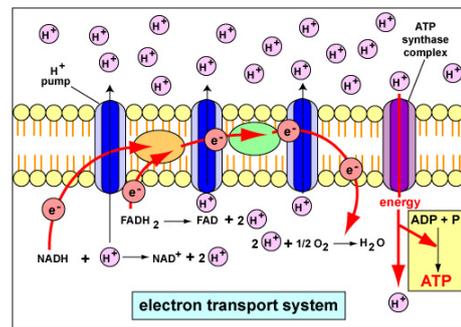
- Il **gradiente elettrochimico protonico attraverso la membrana mitocondriale interna** è il processo fondamentale della **fosforilazione ossidativa**.
- Questa è svolta mediante un enzima legato alla membrana interna, **l'ATP sintasi**.
- L'ATP sintasi crea una **via idrofila attraverso la membrana interna che permette il flusso di protoni lungo il loro gradiente elettrochimico**.
- Mentre i protoni si incanalano lungo l'ATP sintasi, essi sono usati per pilotare la reazione energeticamente sfavorevole fra l'ADP e il P_i che permette il ripristino dell'ATP.

Natura elettrochimica del gradiente protonico



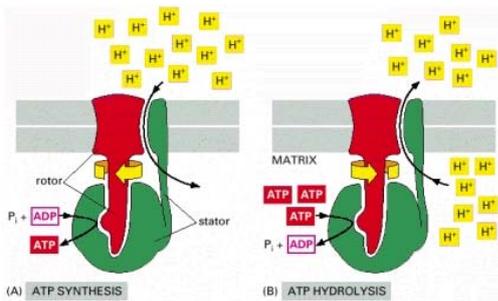
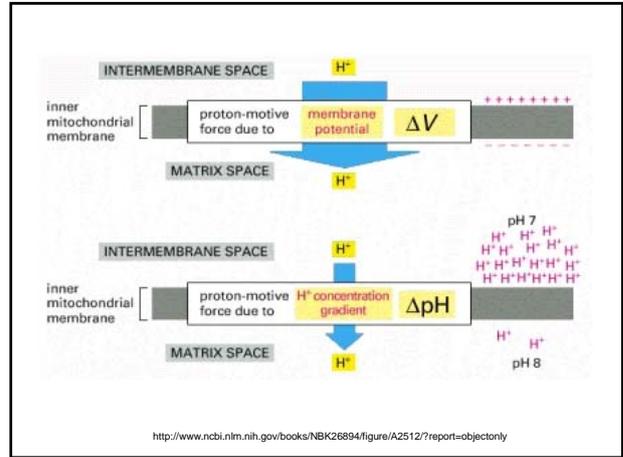
Dato che i protoni sono carichi positivamente, il **gradiente protonico** stabilito attraverso la membrana mitocondriale interna ha **componenti sia chimiche che elettriche**. La **componente chimica** è la **concentrazione di protoni**, o gradiente protonico, che corrisponde ad una concentrazione circa dieci volte superiore di protoni nel versante citosolico della membrana mitocondriale interna (differenza di una unità di pH). Inoltre, vi è un **potenziale elettrico** attraverso la membrana, **che deriva dall'aumento netto di cariche positive sul versante citosolico**.

CHEMIOSMOSI (1)



CHEMIOSMOSI (2)

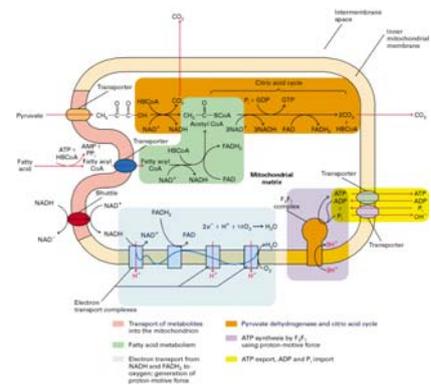
Il NADH e il $FADH_2$ trasportano protoni (H^+) ed elettroni (e^-) alla catena di trasporto di elettroni localizzata sulla membrana mitocondriale interna. L'energia del **trasferimento di elettroni lungo la catena** permette il **trasporto dei protoni attraverso la membrana**, creando un gradiente elettrochimico. I protoni che si accumulano nello spazio intermembrane seguono il gradiente elettrochimico per ritornare alla matrice lungo il complesso dell'ATP sintasi della membrana, fornendo l'energia per sintetizzare ATP a partire dall'ADP e fosfato. Alla fine del processo di trasporto di elettroni, due protoni, due elettroni e una metà di una molecola di ossigeno si combinano per formare acqua. Poichè l'ossigeno è l'accettore finale degli elettroni, il processo è detto **respirazione aerobica**.



La ATP sintasi è un dispositivo di accoppiamento reversibile che può convertire l'energia di un gradiente protonico elettrochimico nell'energia di un legame chimico e vice-versa.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26894/figure/A2525/?report=objectonly>

Riassunto dell'ossidazione aerobica del piruvato nei mitocondri (1)



Riassunto dell'ossidazione aerobica del piruvato nei mitocondri (2)

- Proteine specifiche di trasporto (ovali) sulla membrana interna importano il piruvato (ocra), l'ADP (verde) e il P_i (viola) verso la matrice ed esportano l'ATP.
- Il **NADH generato nel citosol non** viene trasportato direttamente verso la matrice perché la membrana interna è impermeabile al NAD^+ e al NADH; invece, **un sistema navetta** ("shuttle" (ovale rosso) trasporta gli elettroni del NADH citosolico al NAD^+ della matrice mitocondriale. L' O_2 diffonde verso la matrice e il CO_2 diffonde verso l'esterno.
- HSCoA: coenzima A libero (CoA)
- SCoA: CoA esterificato.

Riassunto dell'ossidazione aerobica del piruvato nei mitocondri (3)

- Gli **acidi grassi** vengono legati al CoA sulla membrana mitocondriale esterna. In seguito, il gruppo acilico grasso è rimosso dal CoA, legato ad un trasportatore (la carnitina) che lo fa attraversare la membrana mitocondriale interna; a questo punto l'acido grasso viene riattaccato ad un CoA presente dal lato rivolto verso la matrice della membrana interna (ovale blu).

Riassunto dell'ossidazione aerobica del piruvato nei mitocondri (4)

- L'ossidazione del piruvato nel ciclo dell'acido citrico genera **NADH** e **FADH₂**.
- Gli elettroni di questi coenzimi ridotti sono trasferiti mediante quattro **complessi di trasporto degli elettroni** (rettangoli blu) all' O_2 concomitantemente con il trasporto di ioni H^+ dalla matrice allo spazio intermembranoso, generando una forza proton-motrice.
- Il complesso F_0F_1 (arancio) allora sfrutta la forza proton-motrice per **sintetizzare ATP**.

Le frecce blu indicano il flusso degli elettroni; le frecce rosse il movimento transmembrana di metaboliti.
 Lodish et al.: Molecular Cell Biology 16. Cellular Energetics: Glycolysis, Aerobic Oxidation, and Photosynthesis 16.1. Oxidation of Glucose and Fatty Acids to CO_2

Il gradiente protonico pilota il trasporto accoppiato attraverso la membrana interna (1)

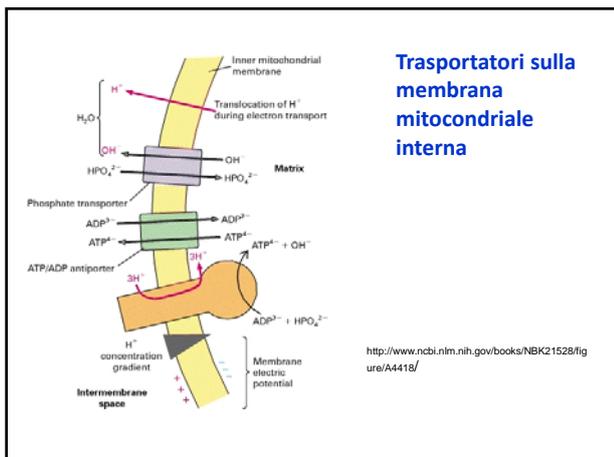
- Il gradiente protonico pilota altri processi oltre che la sintesi dell'ATP.
- Molte molecole di piccole dimensioni cariche, quali il piruvato, l'ADP, e il P_i sono pompate verso la matrice dal citosol.
- Altre, quali l'ATP, devono essere spostate in senso opposto.
- I trasportatori che legano tali molecole/ioni possono **accoppiare il loro trasporto al flusso energeticamente favorevole di H^+ verso la matrice mitocondriale**.
- Perciò ad es. il piruvato e il fosfato inorganico (P_i) sono c-trasportati verso l'interno con il H^+ quando esso si muove verso la matrice-

Il gradiente protonico pilota il trasporto accoppiato attraverso la membrana interna (2)

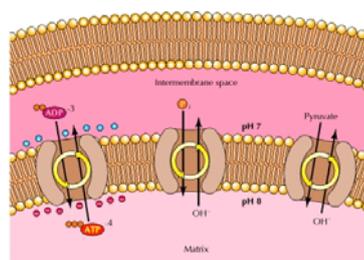
- ✚ L'ADP e l'ATP sono co-trasportati in direzioni opposte (**antiporto**) mediante una singola proteina trasportatrice.
- Dato che la molecola di ATP ha una carica negativa in più rispetto all'ADP ogni scambio di nucleotidi ha come conseguenza il fatto che una carica negativa sia trasportata al di fuori del mitocondrio.
- Quindi, la differenza di potenziale attraverso la membrana interna pilota il co-trasportatore ADP-ATP

Mitocondri

TRASPORTATORI E NAVETTE SULLE MEMBRANE MITOCONDRIALI



Trasporto di metaboliti attraverso la membrana mitocondriale interna (1)



Seminario

Trasporto di metaboliti attraverso la membrana mitocondriale interna (2)

Il trasporto di piccole molecole attraverso la membrana interna è mediato da proteine di trasporto che attraversano la membrana guidata dal gradiente elettrochimico.

- Ad esempio, l'ATP viene esportato dai mitocondri verso il citosol da un trasportatore che lo scambia con l'ADP. La componente di voltaggio del gradiente elettrochimico guida questo scambio: l'ATP porta una maggiore carica negativa (-4) dell'ADP (-3), e perciò l'ATP è esportato dalla matrice mitocondriale al citosol mentre l'ADP viene importato verso i mitocondri.
- Viceversa, il trasporto del fosfato (P_i) e del piruvato è accoppiato ad uno scambio con ioni idrossilici (OH^-); in questo caso, la componente di pH del gradiente elettrochimico guida l'esportazione degli ioni idrossilici, accoppiata al trasporto di P_i e piruvato verso i mitocondri.

Seminario

Mitocondri

NAVETTE PER IL NADH FORMATO DURANTE LA GLICOLISI NEL CITOSOL

Seminario

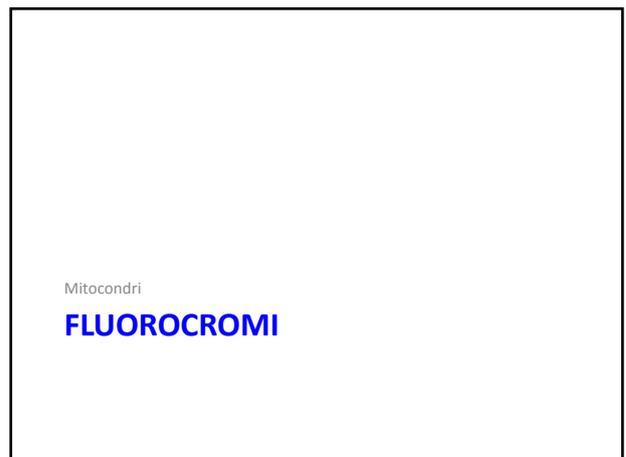
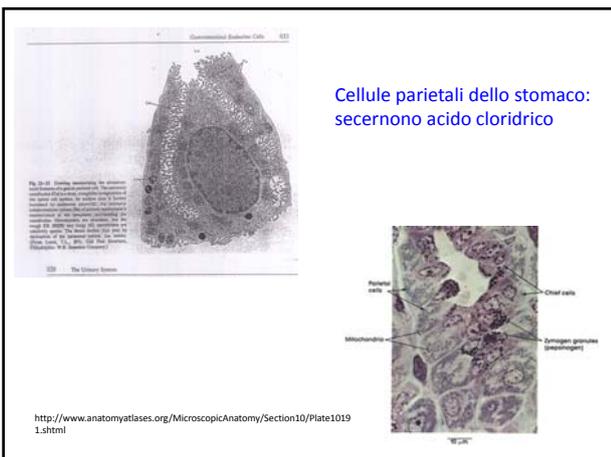
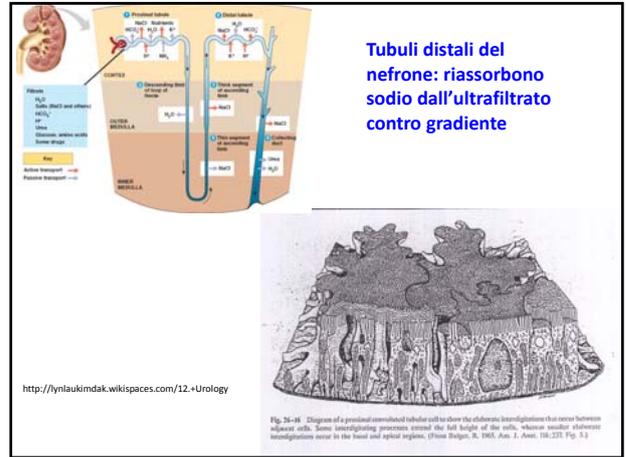
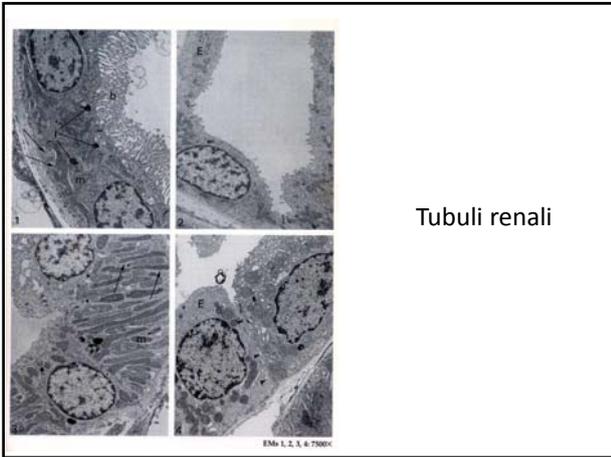
Glycerol 3-Phosphate Shuttle

Electrons from NADH can enter the mitochondrial electron transport chain by being used to reduce dihydroxyacetone phosphate to glycerol 3-phosphate. Glycerol 3-phosphate is reoxidized by electron transfer to an FAD prosthetic group in a membrane-bound glycerol 3-phosphate dehydrogenase. Subsequent electron transfer to Q to form QH_2 allows these electrons to enter the electron-transport chain.

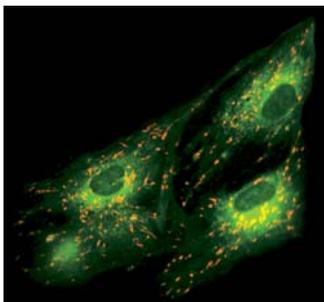
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22470/figure/A2548/>

Mitocondri

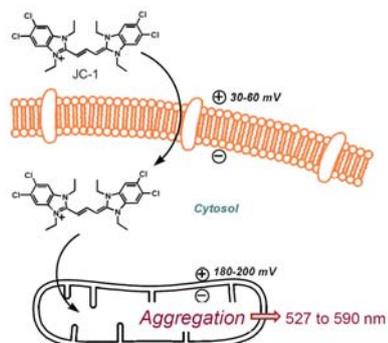
ULTRASTRUTTURA



JC-1 Dye - Mitochondrial Membrane Potential Probe



<http://www.invitrogen.com/site/us/en/home/Products-and-Services/Applications/Cell-Analysis/Flow-Cytometry/Cell-Health-and-Viability-Assays-for-Flow-Cytometry/Apoptosis-Assays-for-Flow-Cytometry/JC-1-Dye-Mitochondrial-Membrane-Potential-Probe.html>



<http://lcbim.epfl.ch/research>