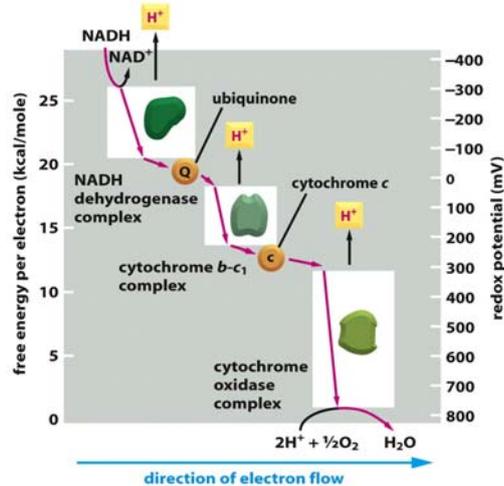


**La catena respiratoria consiste in quattro complessi :
tre pompe protoniche e un collegamento fisico
con il ciclo dell'acido citrico – [1]**

✚ Gli elettroni sono trasferiti dal **NADH** all' O_2 mediante una catena di tre grandi complessi proteici:

- ✚ NADH-Q ossidoreduttasi (NADH-deidrogenasi)
- ✚ Q-citocromo C ossidoreduttasi
- ✚ citocromo C ossidasi.



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

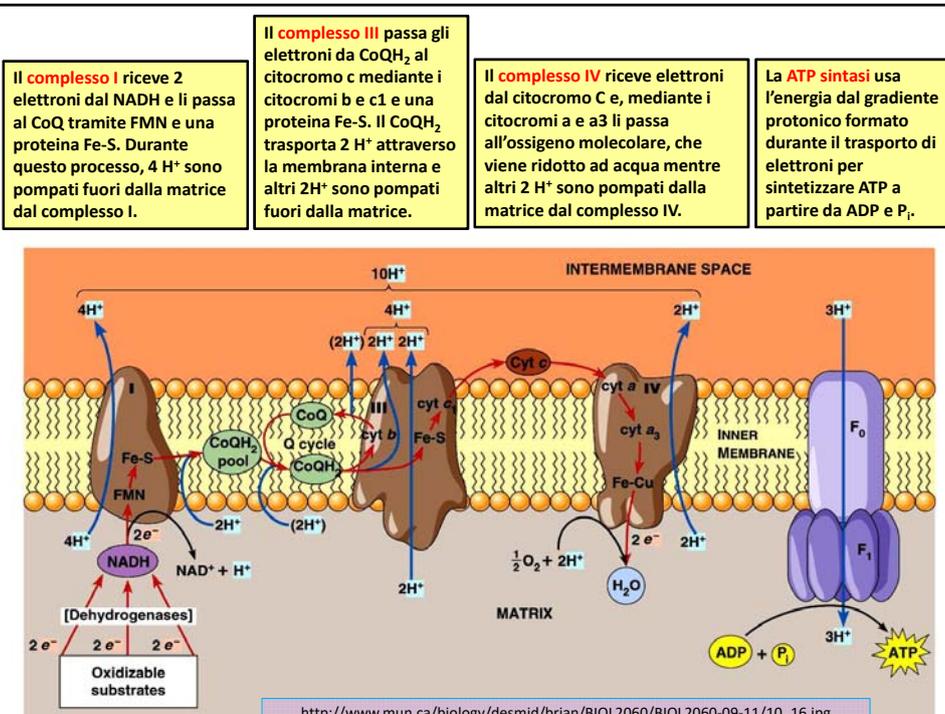
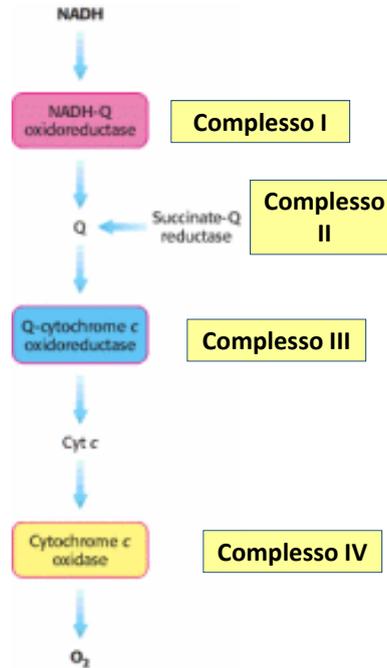
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/figure/A2549/?report=objectonly>

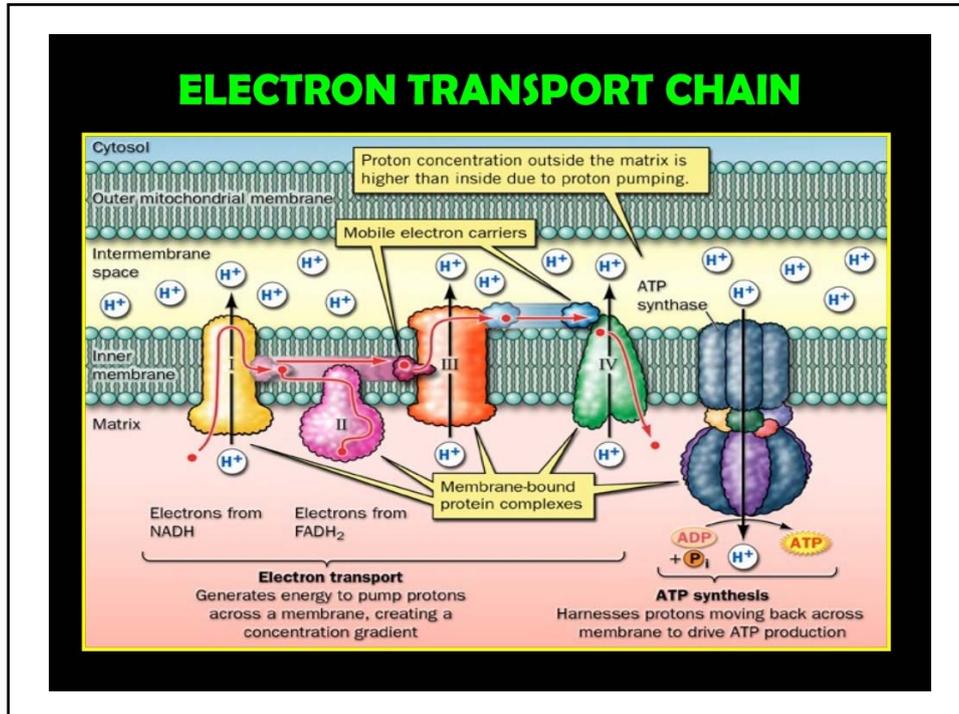
**La catena respiratoria consiste di quattro complessi:
tre pompe protoniche e un collegamento fisico
con il ciclo dell'acido citrico – [2]**

- ✚ L'**ubichinone** è un chinone **solubile nei lipidi** che diffonde rapidamente all'interno della membrana mitocondriale interna.
- ✚ L'ubichinone trasporta gli **elettroni dal FADH₂**, 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'O₂ ad H₂O**.

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**.

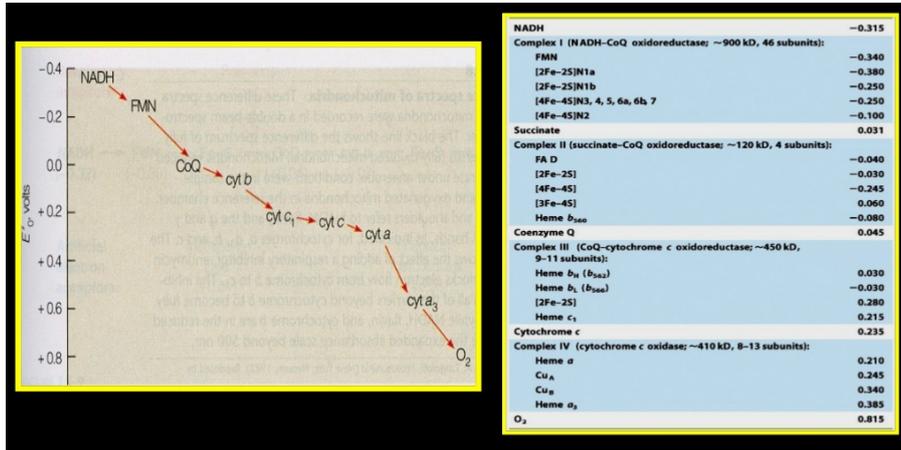




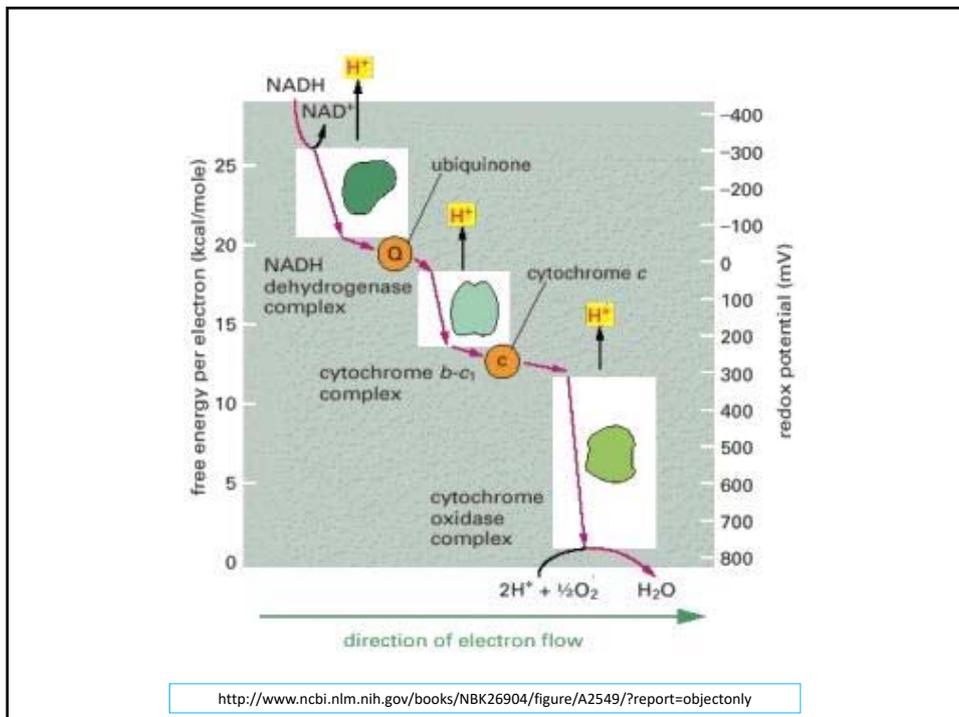
- ✚ **Potenziale redox:** Potenziale di trasferimento di elettroni in un sistema (E_0'): E' una misura dell'affinità verso gli elettroni.
- ✚ **Basso potenziale redox:** Bassa affinità verso gli elettroni.
 - ✚ Quanto più negativo (o basso) è il potenziale redox tanto maggiore è la tendenza a perdere elettroni.
- ✚ **Alto potenziale redox:** elevata affinità verso gli elettroni.
 - ✚ Quanto più positivo (o altro) è il potenziale redox tanto maggiore è la tendenza ad accettare elettroni.
- ✚ **Catena di trasporto degli elettroni:** catena di complessi proteici e coenzimi di potenziale redox progressivamente crescenti.

<http://www.slideshare.net/UDDent/biological-oxidation-34632618>

Gli elettroni fluiscono attraverso la catena di trasporto di elettroni in passi che partono dal componente più elettronegativo (basso potenziale redox) al componente più elettropositivo (alto potenziale redox).



<http://www.slideshare.net/UDdent/biological-oxidation-34632618>



<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/figure/A2549/?report=objectonly>

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**
CoQ → CoQH 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
$\frac{1}{2}$ O ₂ → H ₂ O	2	+0,816

I protoni si muovono in modo insolitamente facile – [1]

- Nonostante i **protoni** somiglino ad altri ioni positivi, quali Na⁺ e K⁺ nel loro movimento attraverso le membrane, in alcuni aspetti essi sono unici.
- Gli **atomi di idrogeno** sono assolutamente il tipo **più abbondante** di **atomo degli organismi viventi**; sono abbondanti non solo in tutte le molecole biologiche contenenti carbonio, ma anche nelle molecole di acqua che le circondano.
- I protoni dell'acqua sono altamente mobili**, saltellando fra la rete mediata da legami di dirogeno, rapidamente dissociandosi da una molecola di acqua per associarsi alla sua vicina.
- Si pensa che **i protoni si muovano attraverso una pompa proteica inserita in un bilayer lipidico** in modo simile: essi vengono trasferiti da un aminoacido ad un altro, seguendo un canale speciale lungo la proteina.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/>

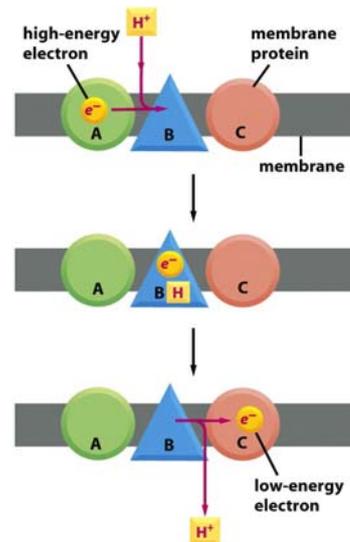
I protoni si muovono in modo insolitamente facile – [2]

- I protoni sono inoltre speciali riguardo al trasporto di elettroni.
- Ogni volta che una **molecola viene ridotta** acquisendo un elettrone, l'elettrone (e^-), porta con se una carica negativa.
- In molti casi, questa carica è rapidamente neutralizzata dall'aggiunta di un protone (H^+) dall'acqua, in modo tale che l'effetto netto della riduzione è il trasferimento di un intero atomo di idrogeno, $H^+ + e^-$.
- Allo stesso modo, quando una **molecola è ossidata**, un atomo di idrogeno da essa rimosso può rapidamente dissociarsi nei suoi protoni ed elettroni costituenti – permettendo all'elettrone di essere trasferito separatamente ad una molecola che accetta elettroni, mentre il protone è passato all'acqua.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/>

I protoni si muovono in modo insolitamente facile – [3]

- Perciò, in una membrana in cui **degli elettroni si muovono lungo una catena di trasporto di elettroni**, il **pompaggio di protoni da un lato all'altro** può essere relativamente semplice.
- Il trasportatore di elettroni ha bisogno semplicemente di essere disposto nella membrana in modo da prendere un protone da un lato della membrana quando accetta un elettrone, e di rilasciare il protone dall'altro lato della membrana mentre l'elettrone è passato al trasportatore seguente della catena.



<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/figure/A2530/?report=objectonly>

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

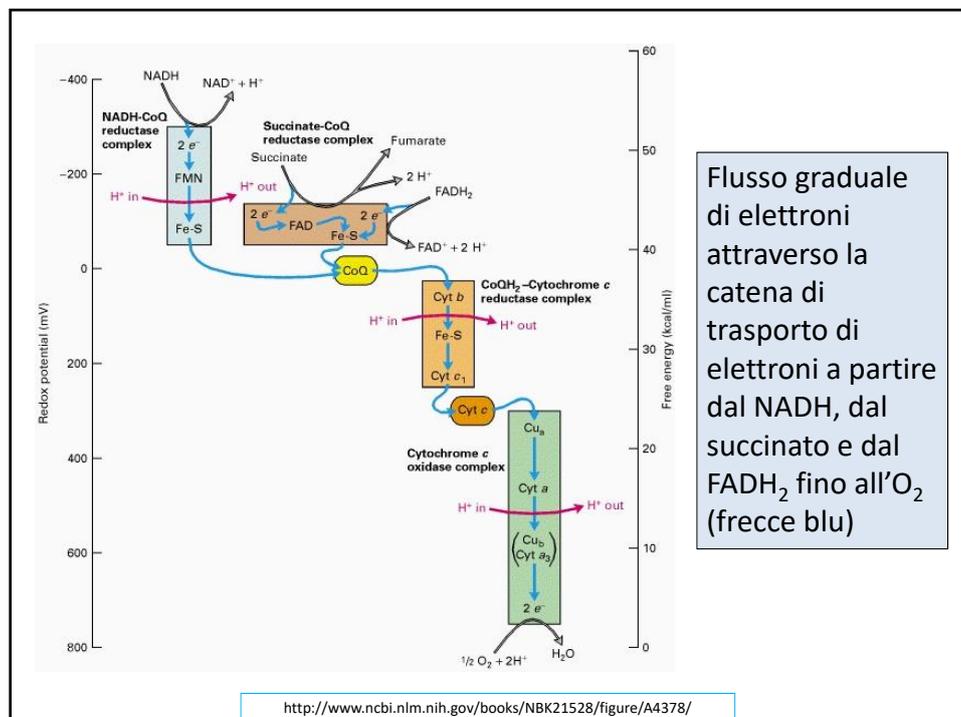
- ✚ La **fosforilazione ossidativa** è possibile dato che **i trasportatori di elettroni sono strettamente associati a molecole proteiche.**
- ✚ **Le proteine orientano gli elettroni lungo la catena respiratoria in modo tale che essi si muovono in sequenza da un complesso enzimatico al successivo.**
- ✚ 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 .**

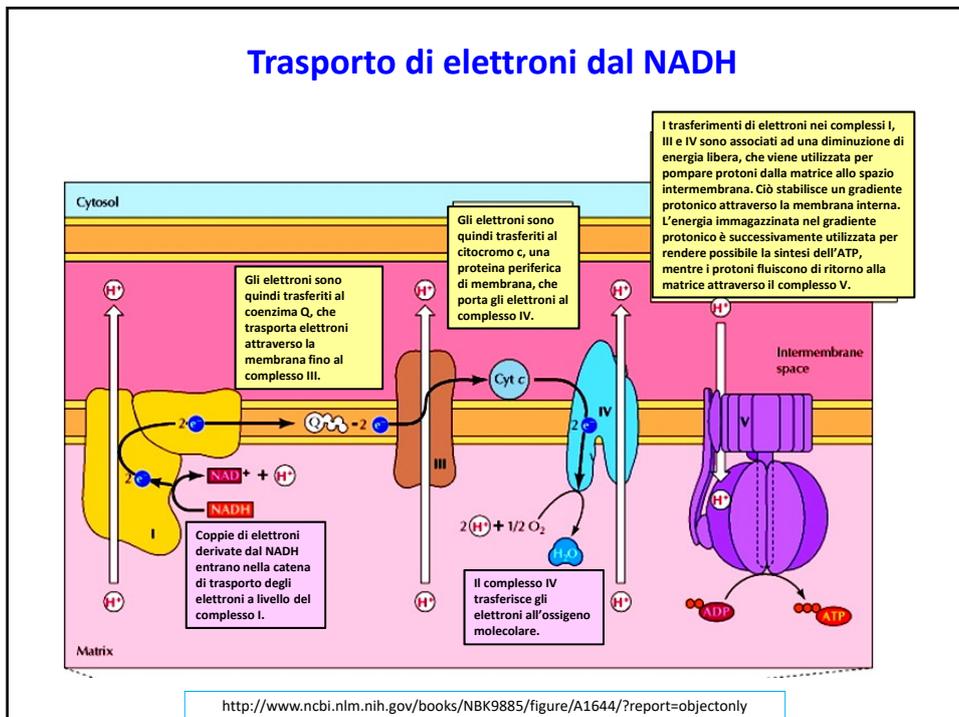
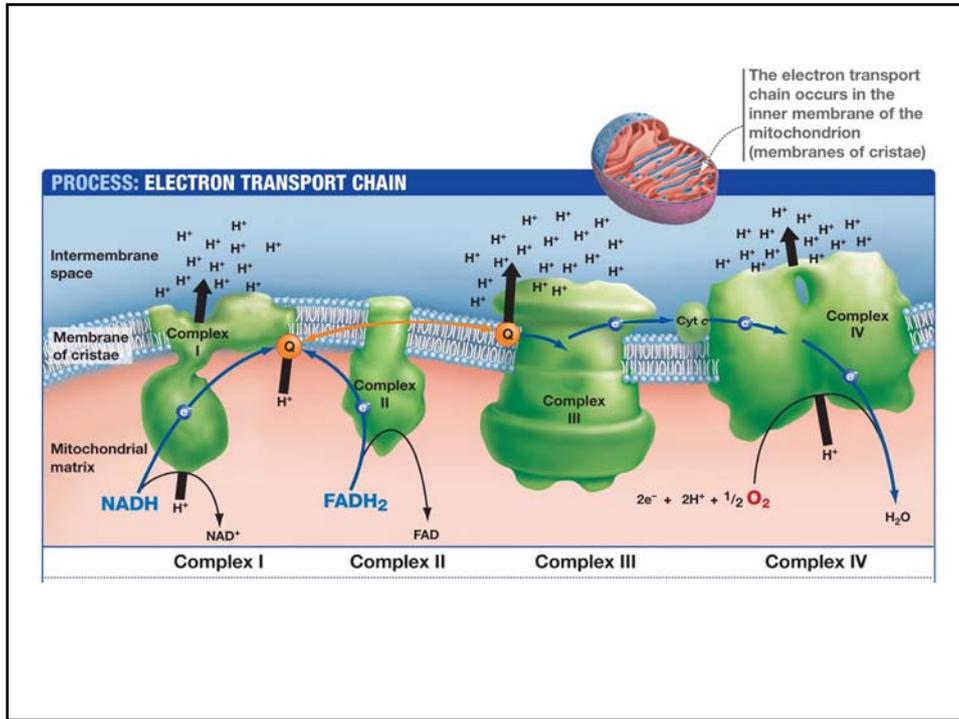
Mentre gli elettroni si muovono lungo la catena respiratoria, l'energia viene immagazzinata sotto forma di gradiente protonico attraverso la membrana interna – [2]

- ✚ 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 («drives») 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.
- Complessivamente, il ΔpH e il ΔV costituiscono un **gradiente elettrochimico protonico**.
- Il gradiente elettrochimico protonico esercita una **forza proton-motrice** (misurata in millivolts, mV).





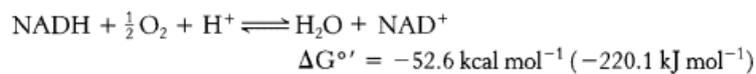
Trasporto di elettroni dal FADH₂

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**.

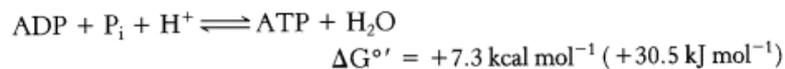
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9885/figure/A1645/?report=objectonly>

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 *F₁F₀ATPasi* 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 mitcondriale 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° protoni inferiore rispetto allo spazio intermembrane].

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

 **Nobelprize.org**
The Official Web Site of the Nobel Prize

The Nobel Prize in Chemistry 1978 Peter Mitchell

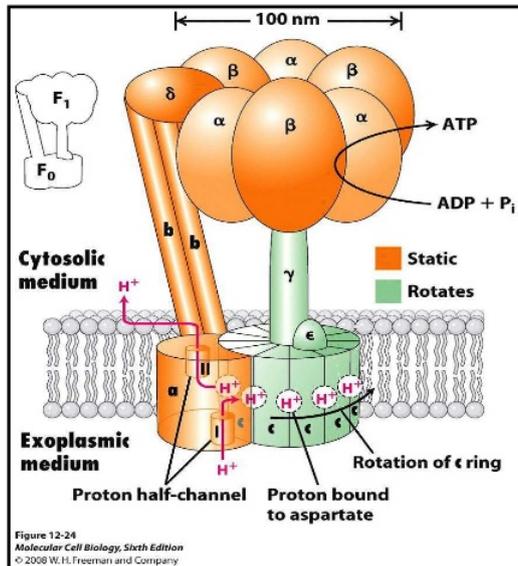


Peter D. Mitchell

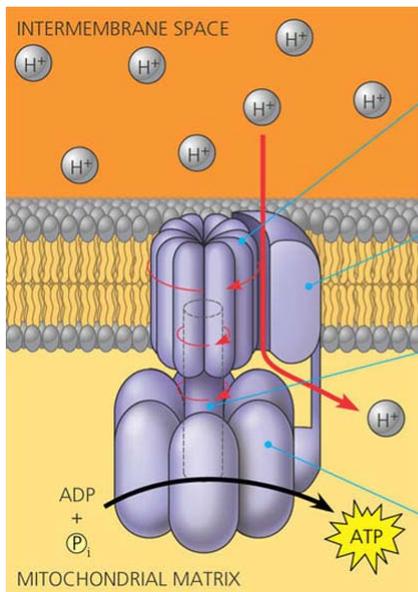
The Nobel Prize in Chemistry 1978 was awarded to Peter Mitchell *"for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory"*.

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

Struttura della ATP Sintasi



<http://image.slidesharecdn.com/atpsynthase-151218065415/95/atp-synthase-7-638.jpg?cb=1450421687>



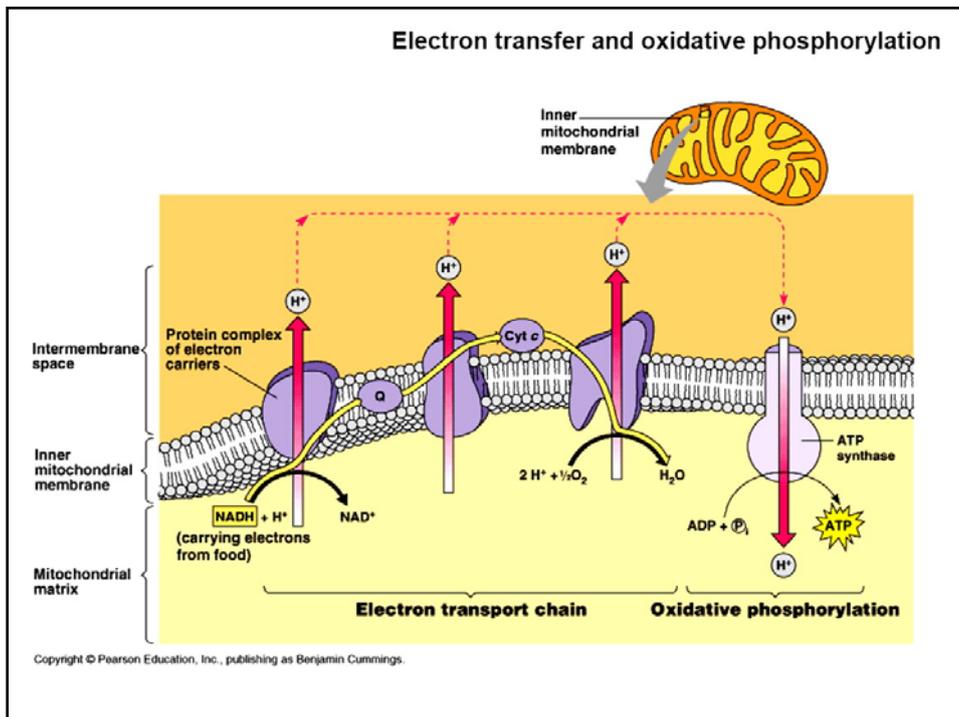
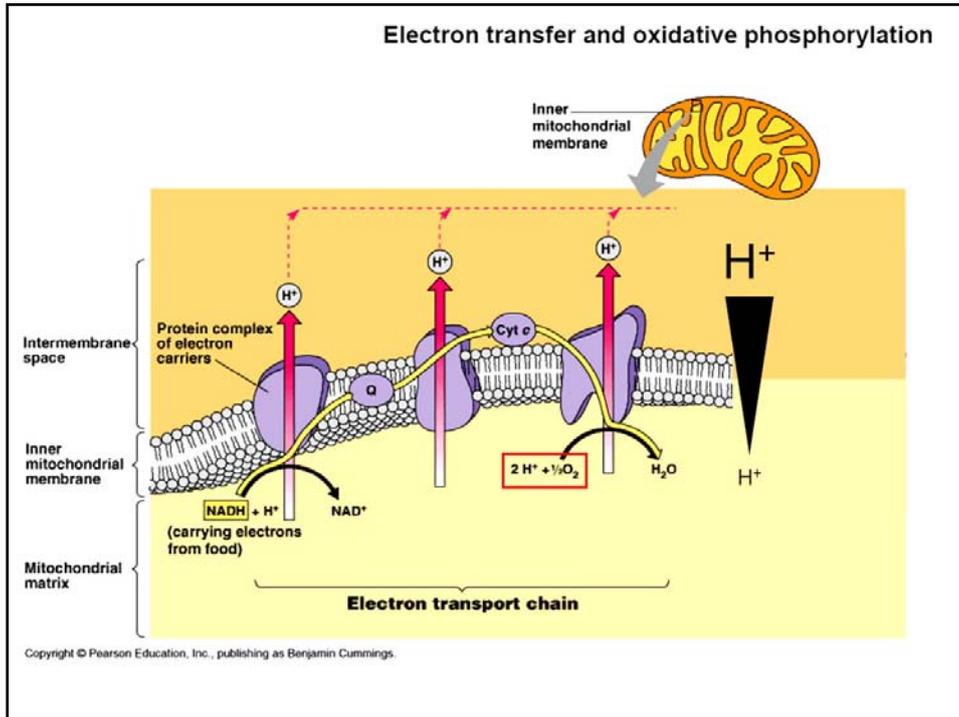
Un rotore all'interno della membrana gira in senso orario quando il H⁺ fluisce lungo il suo gradiente elettrochimico

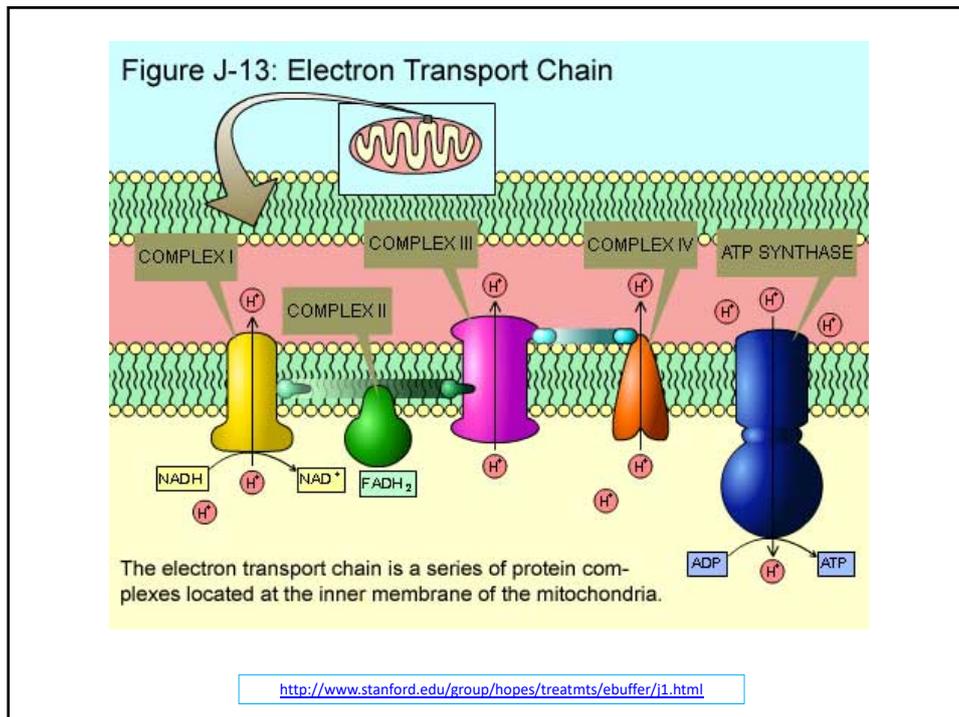
Uno statore ancorato alla membrana trattiene fermo il pomello

Un bastoncino (o peduncolo) si estende verso il pomello e ruota, attivando i siti catalitici del pomello

Tre siti catalitici nel pomello stazionario aggiungono fosfato inorganico all'ADP per formare ATP

http://biology-forums.com/gallery/2056_04_05_12_9_47_21.jpeg

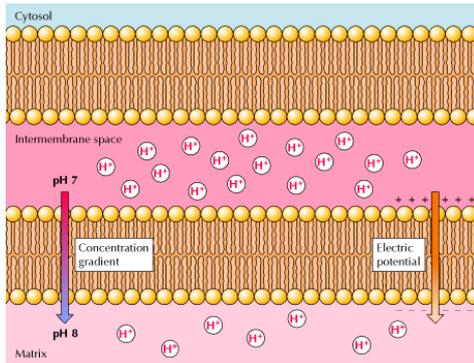




Il gradiente protonico pilota («drives») la sintesi dell'ATP - [1]

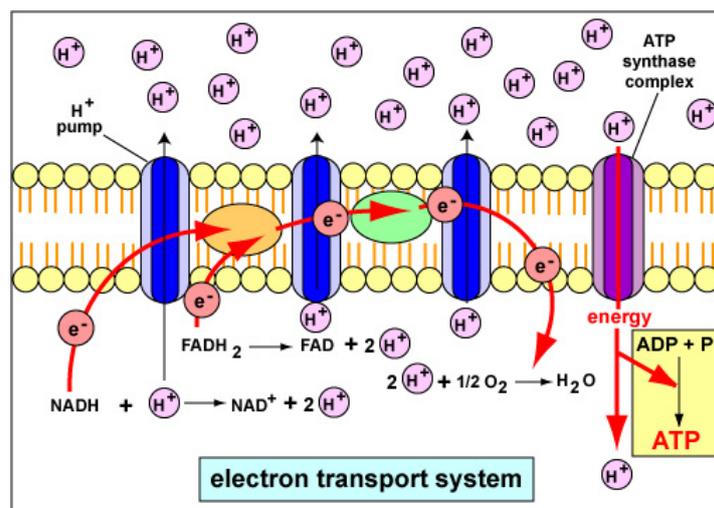
- ✚ Il **gradiente elettrochimico protonico attraverso la membrana mitocondriale interna** è il processo fondamentale della **fosforilazione ossidativa**.
- ✚ Questa è svolta mediante un enzima legato alla membrana interna, **l'ATP sintasi**.
- ✚ L'ATP sintasi crea una **via idrofilica attraverso la 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



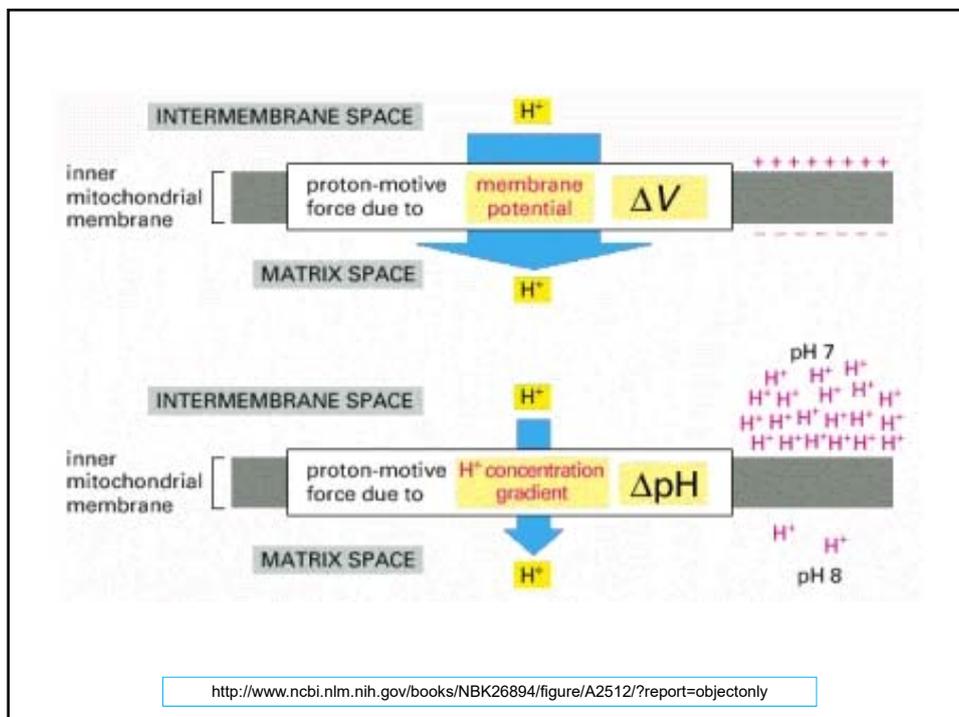
Dato che i protoni sono carichi positivamente, il **gradiente protonico** stabilito attraverso la membrana mitocondriale interna ha **componenti sia chimiche che elettriche**. La **componente chimica è la concentrazione di protoni**, o gradiente protonico, che corrisponde ad una concentrazione circa 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**.

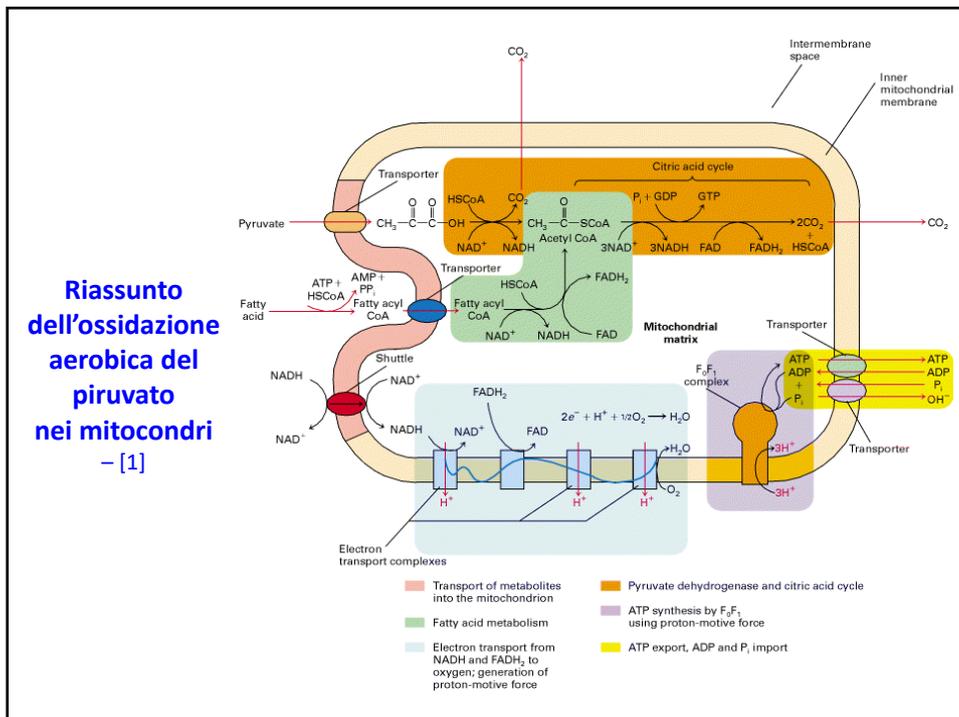
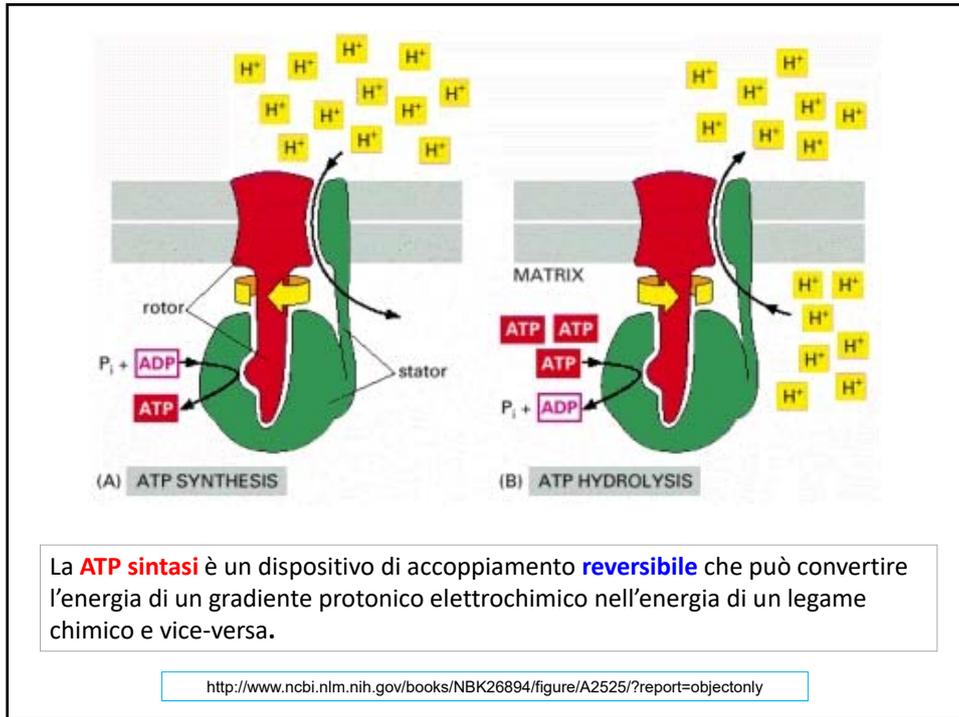
CHEMIOSMOSI - [1]



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**.





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 é 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'O₂ diffonde verso la matrice e il CO₂ diffonde verso l'esterno.
- ✚ HSCoA: coenzima A libero (CoA)
- ✚ SCoA: CoA esterificato.

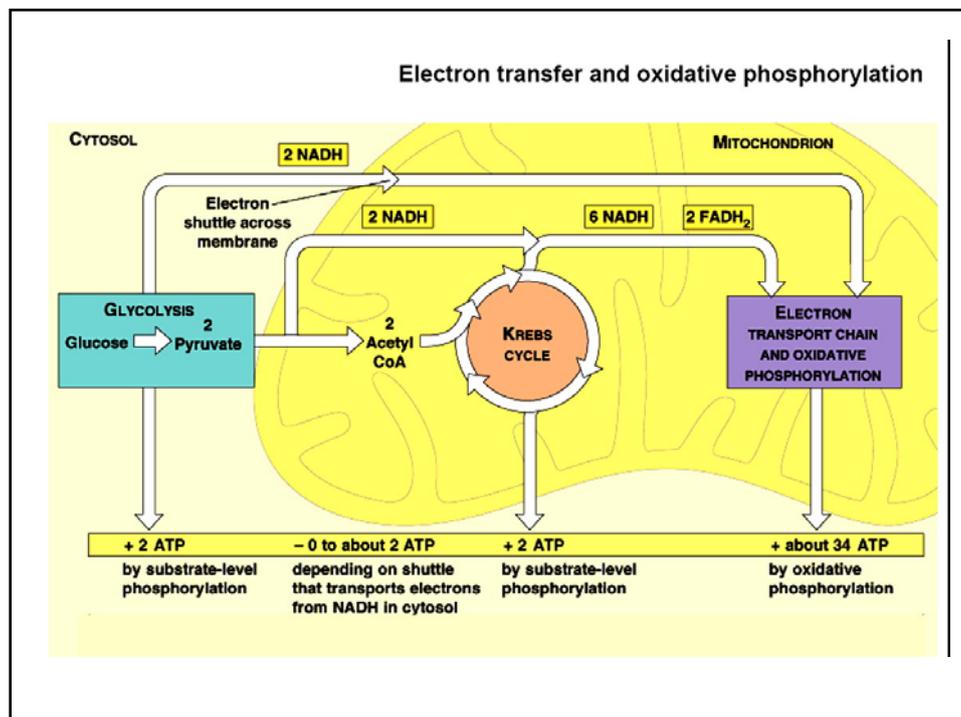
Riassunto dell'ossidazione aerobica del piruvato nei mitocondri – [3]

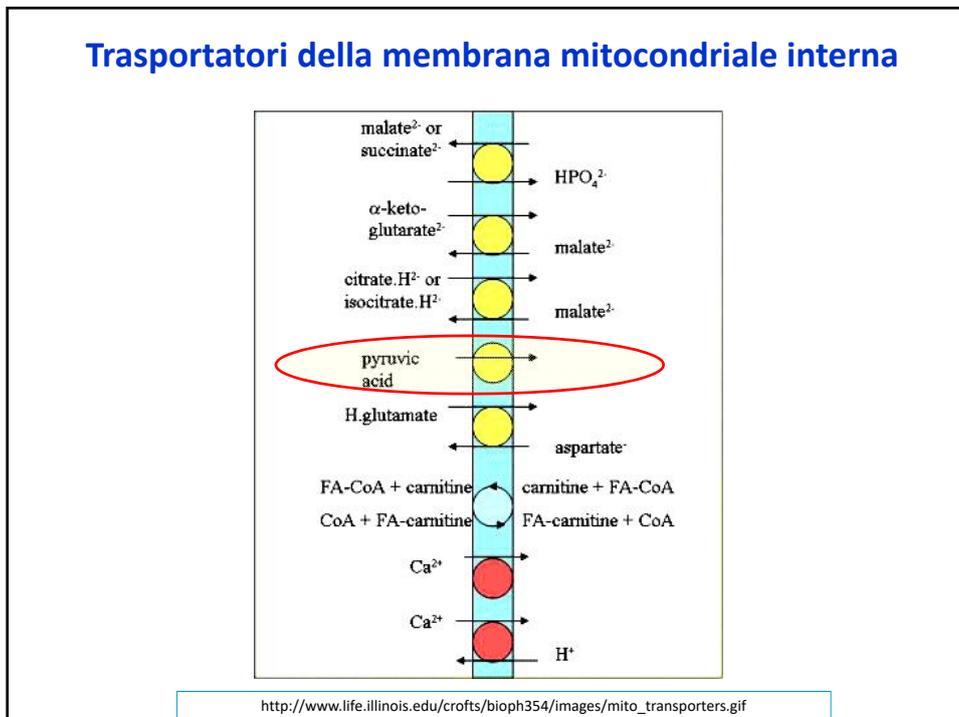
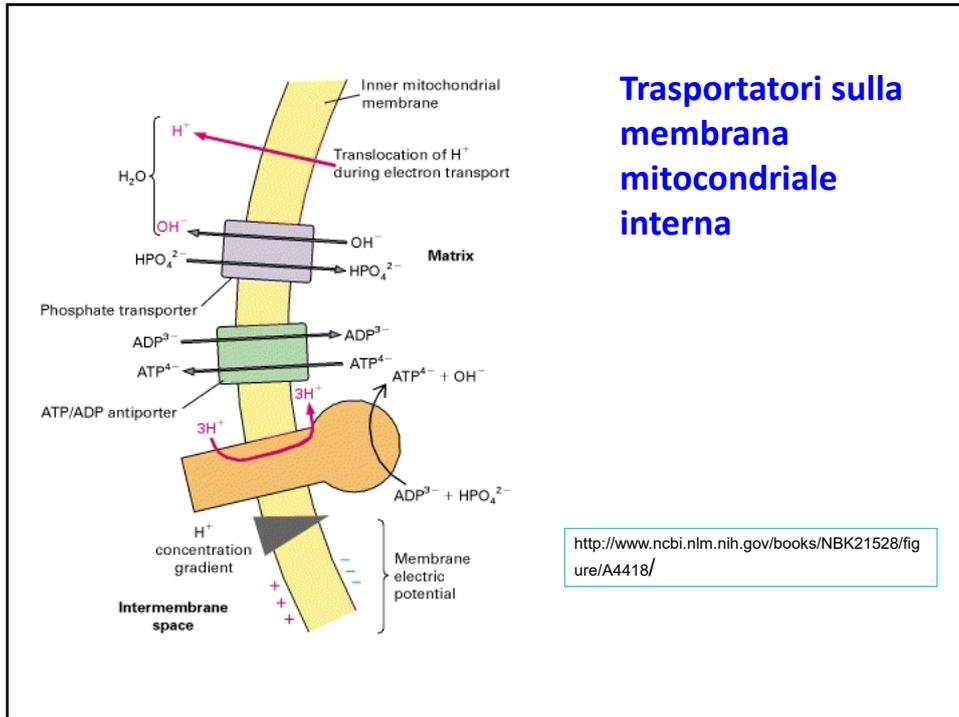
- ✚ Gli **acidi grassi** vengono legati al CoA sulla membrana mitocondriale esterna. In seguito, il gruppo acilico grasso é rimosso dal CoA, legato ad un trasportatore (la carnitina) che lo fa attraversare la membrana mitocondriale interna; a questo punto l'acido grasso viene riattaccato ad un CoA presente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

Riassunto dell'ossidazione aerobica del piruvato nei mitocondri – [4]

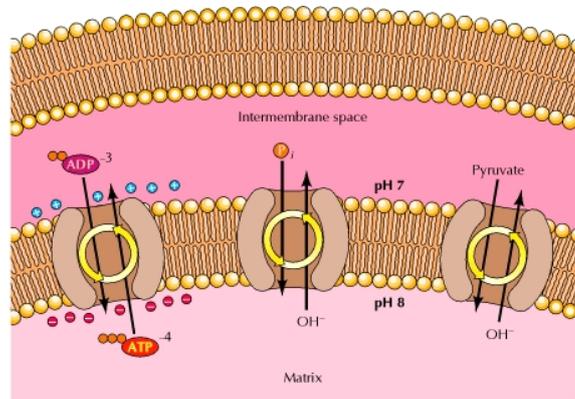
- ✚ **L'ossidazione del piruvato nel ciclo dell'acido citrico** genera **NADH** e **FADH₂**.
- ✚ Gli elettroni di questi coenzimi ridotti sono trasferiti mediante quattro **complessi di trasporto degli elettroni** (rettangoli **blu**) all'O₂ concomitantemente con il trasporto di ioni H⁺ dalla matrice allo spazio intermembranoso, generando una forza proton-motrice.
- ✚ Il complesso F₀F₁ (**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 CO₂





Trasporto di metaboliti attraverso la membrana mitocondriale interna – [1]



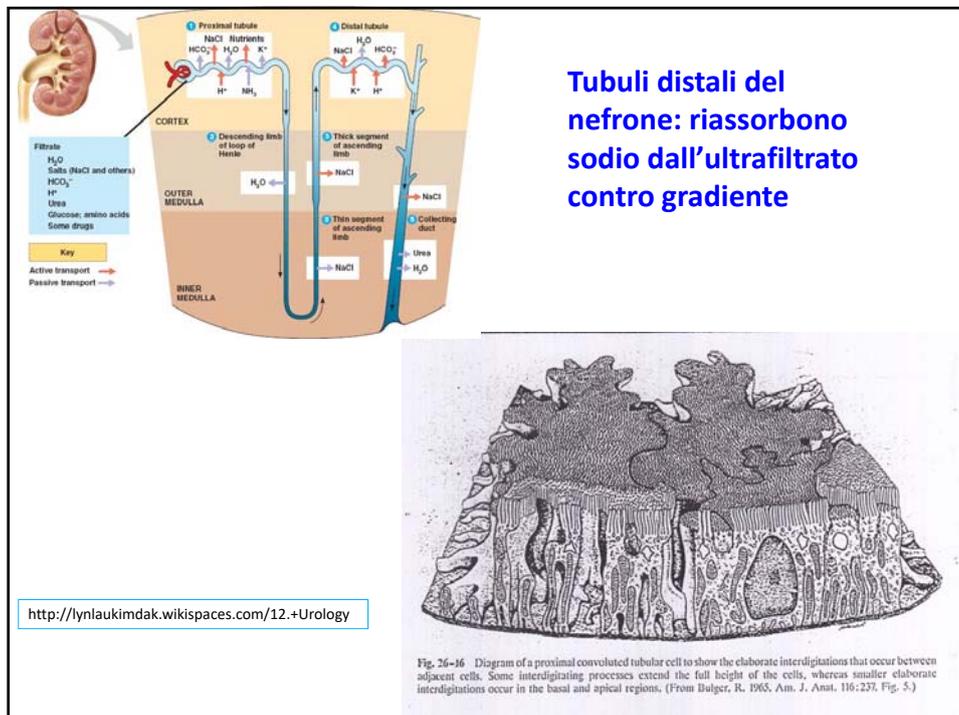
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9885/figure/A1650/>

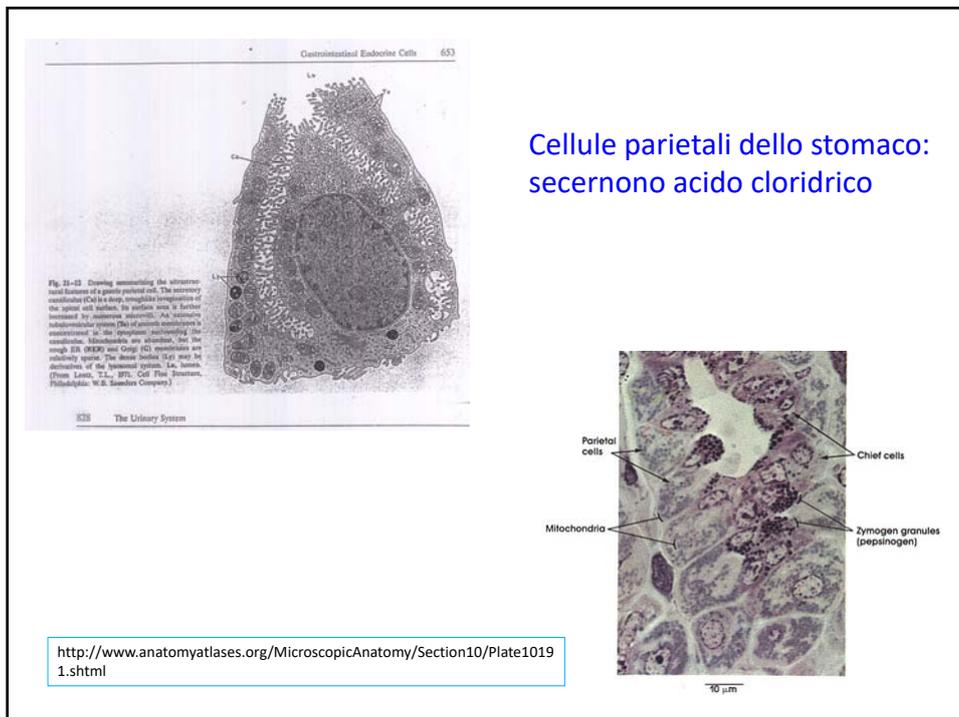
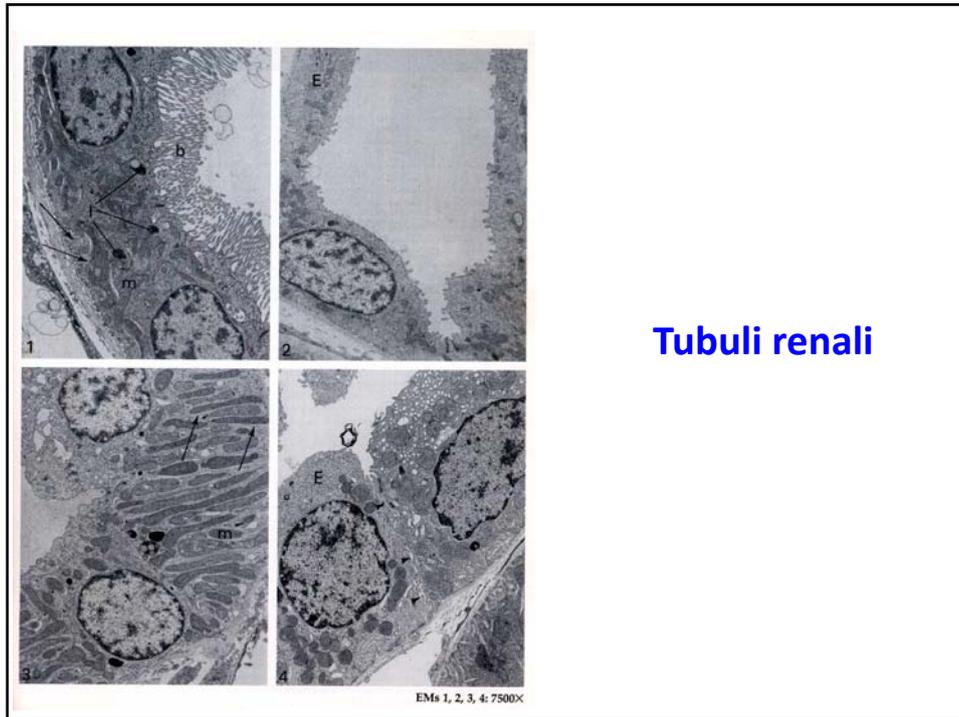
Il gradiente protonico pilota il trasporto accoppiato attraverso la membrana interna – [1]

- ✚ 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-transportati verso l'interno con il H⁺ quando esso si muove verso la matrice.

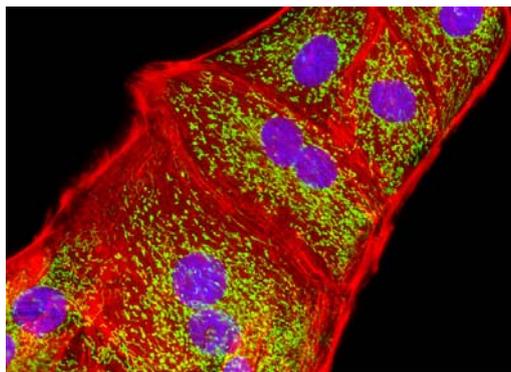
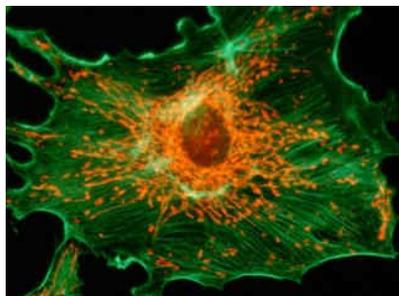
Il gradiente protonico pilota il trasporto accoppiato attraverso la membrana interna - [2]

- ✚ 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





Fluorocromi per mitocondri



<https://www.microscopyu.com/assets/gallery-images/Filter-Combos/Dual/galleryThumbnail2x/dual-fitc-tritc-bpae1.jpg>
<https://micro.magnet.fsu.edu/primer/techniques/fluorescence/gallery/cells/mdck/images/mdckexlarge14.jpg>

JC-1: Fluorocromo per i mitocondri Sensibile al potenziale della membrana mitocondriale interna

