

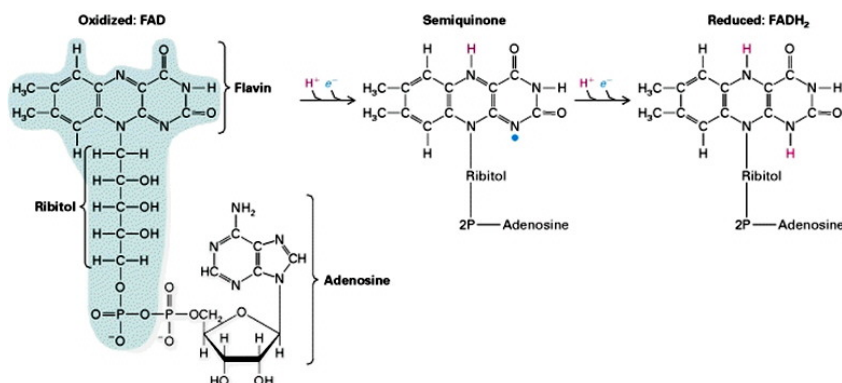
Tipi di trasportatori di elettroni nella catena respiratoria

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

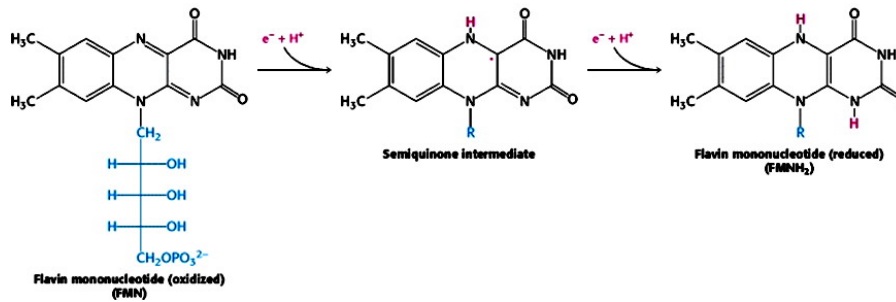
Flavoproteine – [1]

- ✚ 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)

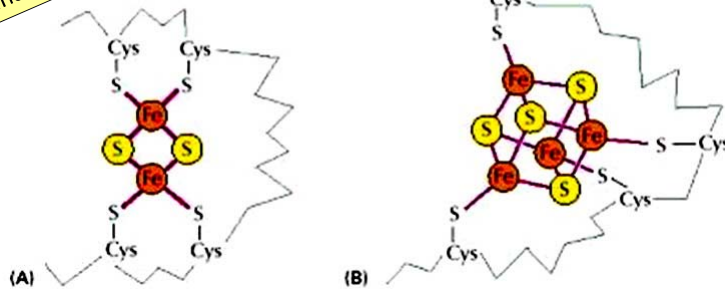
- Contengono **centri Ferro-Zolfo**: atomi di Ferro e di Zolfo formando complessi di coordinazione con gruppi di cisteina della proteina.
- I veri trasportatori di elettroni sono gli atomi di **Ferro**, che si alternano tra lo stato ossidato (Fe³⁺) e lo stato ridotto (Fe²⁺), durante il trasporto degli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

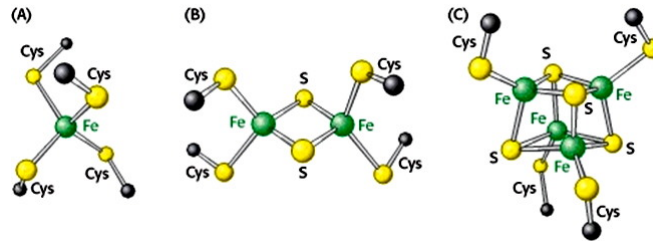
- (A) Un centro di tipo $2\text{Fe}2\text{S}$.
 (B) Centro di tipo $4\text{Fe}4\text{S}$.

Nonostante contengano moleplici 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>

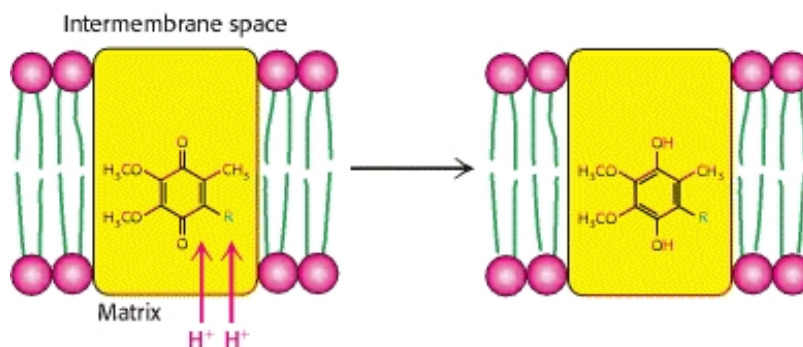
Seminario

- I **centri Fe-S** nelle **proteine Ferro-Zolfo** (dette anche proteine a ferro non-emico) 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 Fe^{2+} (ridotto) o Fe^{3+} (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

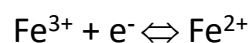
Citocromi

- ✚ Anche i **citocromi contengono Ferro**, ma come parte di un gruppo prostetico porfirinico – **gruppo 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° ed.

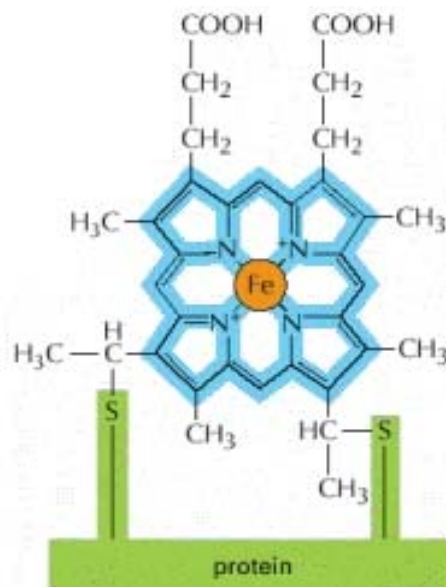
Seminario

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 nonchè 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 un potenziale di riduzione diverso**.

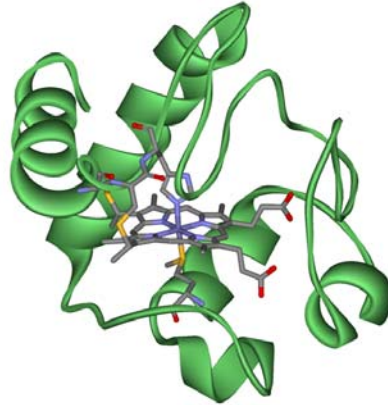
Lodish et al., 7° ed.

Seminario



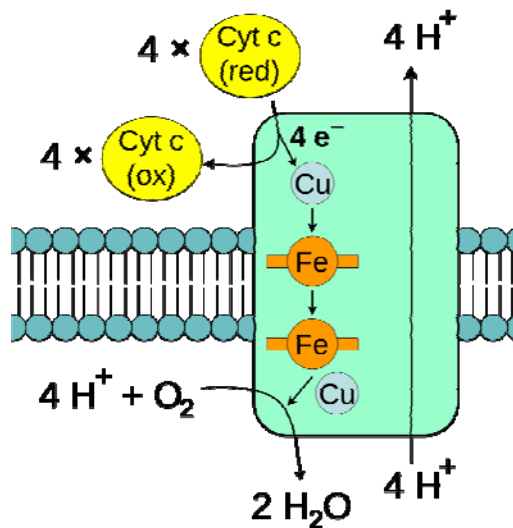
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26904/figure/A2535/>

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>



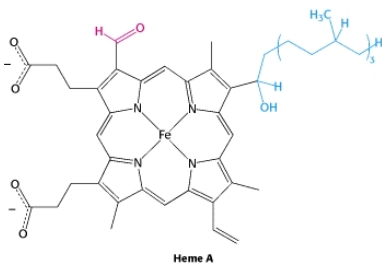
Meccanismo di azione della citocromo c ossidasi nella membrana mitocondriale interna

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

Seminario

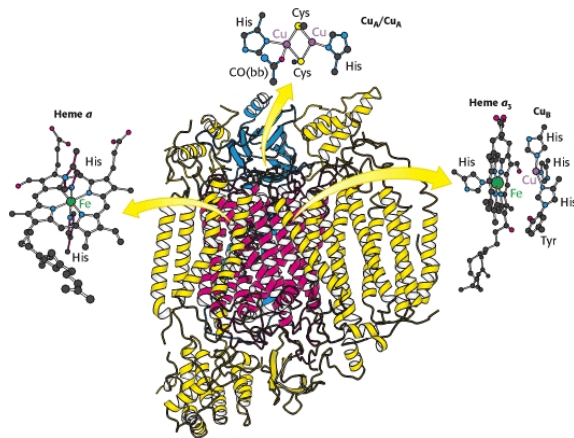
La citocromo c ossidasi catalizza la riduzione dell'ossigeno molecolare ad acqua

- ✚ Lo stadio finale è l'**ossidazione del citocromo c ridotto** generato dal complesso III, che è **accoppiata alla riduzione di O_2 a due molecole di H_2O** , 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 C_{15} sostituisce uno dei gruppi vinilici ; (3) l'eme non è covalentemente legato alla proteina.



- ✚ **Le due molecole di eme a e eme a_3 hanno proprietà diverse** perché sono localizzate in diversi microambienti all'interno della citocromo c ossidasi.

- ✚ L'eme a porta elettroni dal Cu_A/Cu_A mentre l'eme a_3 passa gli elettroni a Cu_B al quale è direttamente adiacente.
- ✚ Complessivamente, l'eme a_3 e Cu_B formano il centro attivo dove l' O_2 è ridotto ad H_2O .



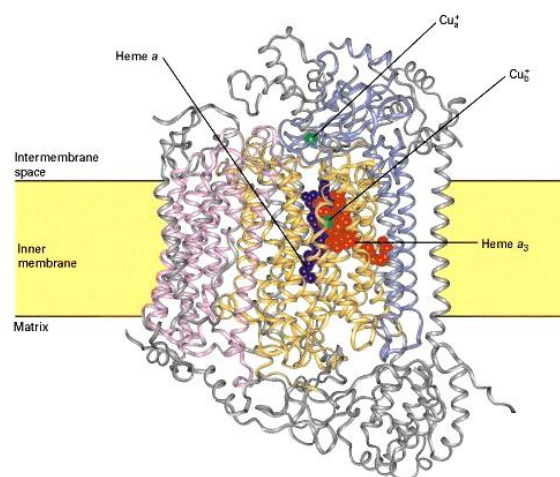
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK22505/figure/A2518/?report=objectonly>

Seminario

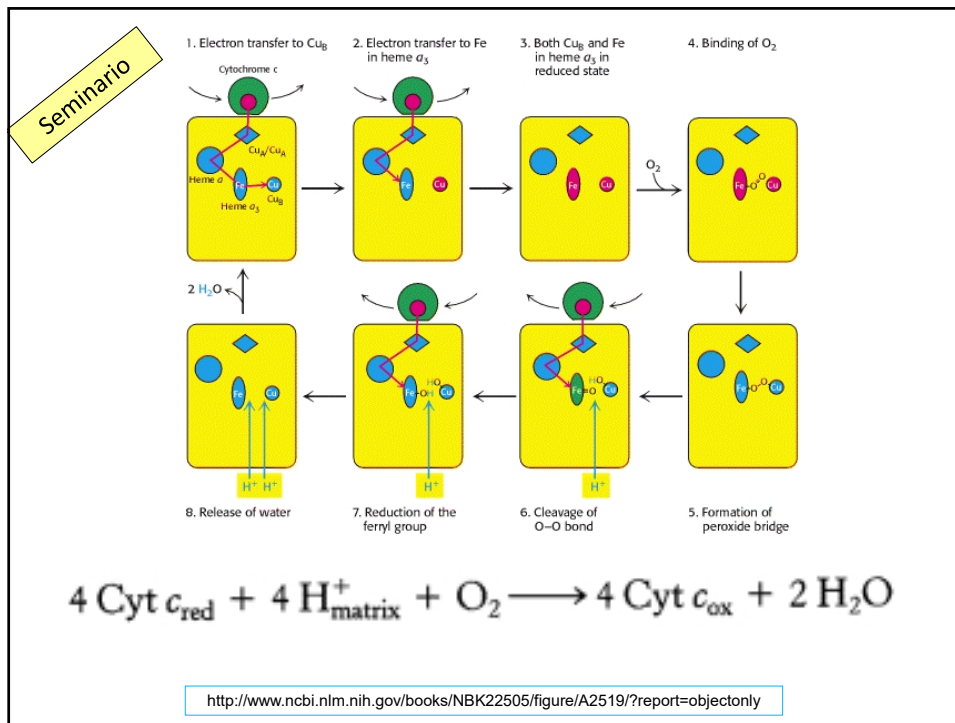
Citocromi contenenti Rame

- 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 rilasciati sotto forma di due molecole di acqua.

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

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:

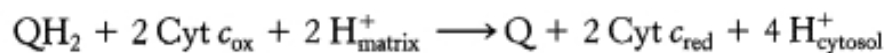
$$\text{NADH} + \text{Q} + 5 \text{H}^+_{\text{matrix}} \longrightarrow \text{NAD}^+ + \text{QH}_2 + 4 \text{H}^+_{\text{cytosol}}$$

- ✚ 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 FMNH_2 .
- ✚ 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 FMNH_2 ad una serie di centri Fe-S, il secondo tipo di gruppi prostetici della NADH-Q ossidoreduttasi.

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 (Fe^{2+}) e uno stato ossidato ferrico (Fe^{3+}) durante il trasporto degli elettroni.
- La funzione della Q-citocromo C ossidoreduttasi è quella di catalizzare sia la **trasferita di elettroni** dal **QH₂ al citocromo c ossidato (Cyt c)**, una proteina solubile in acqua, che, concomitaneamente, **pompare protoni fuori dalla matrice mitocondriale**.



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

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

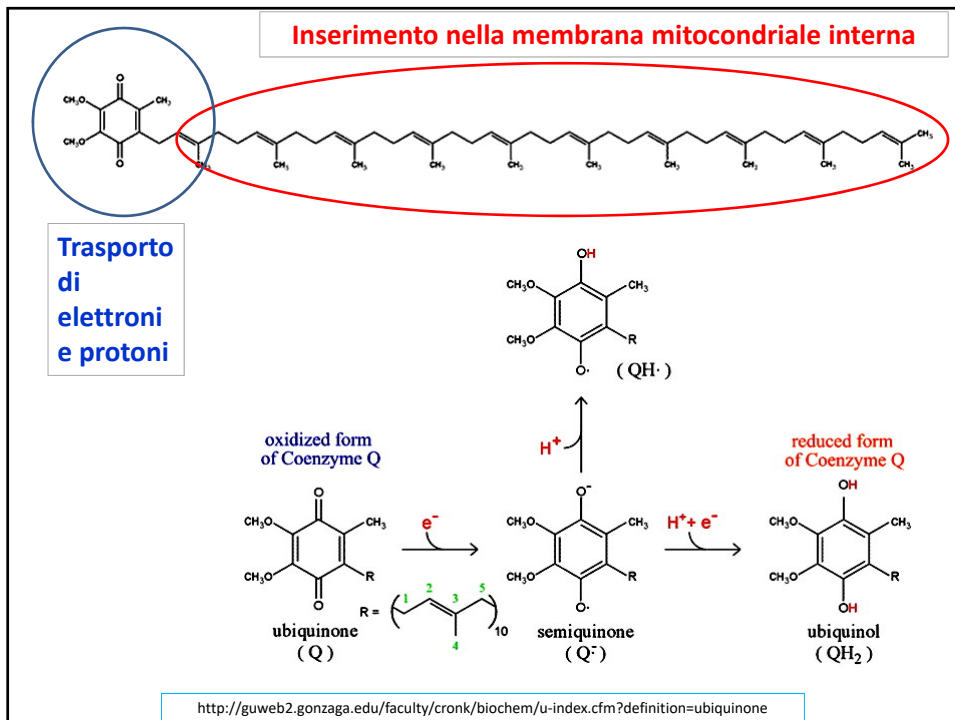
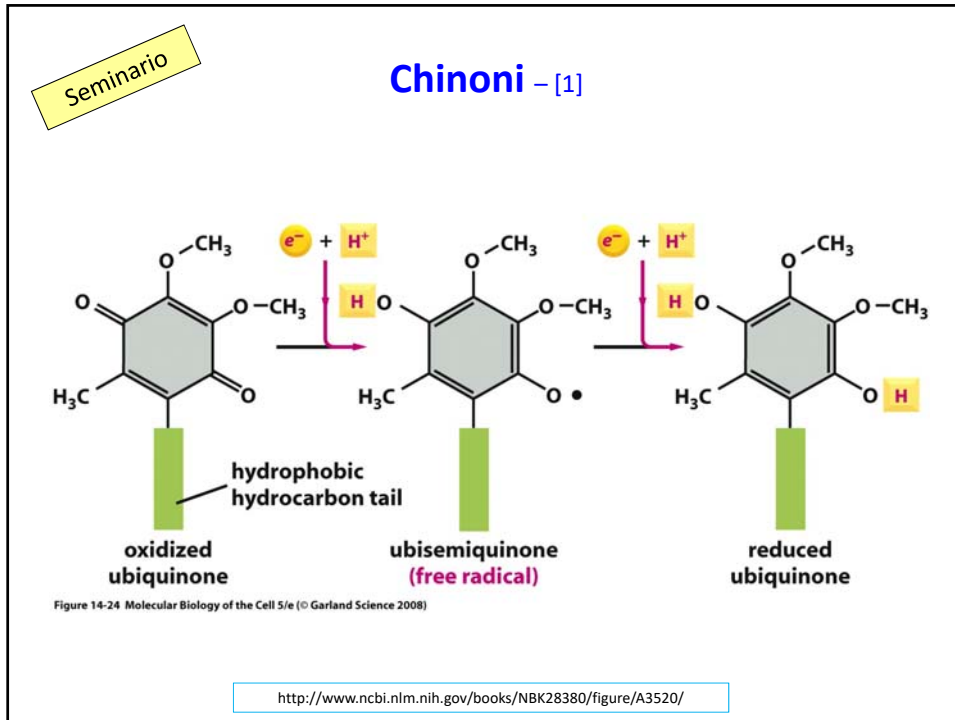
Coenzima Q (ubichinone) – [2]

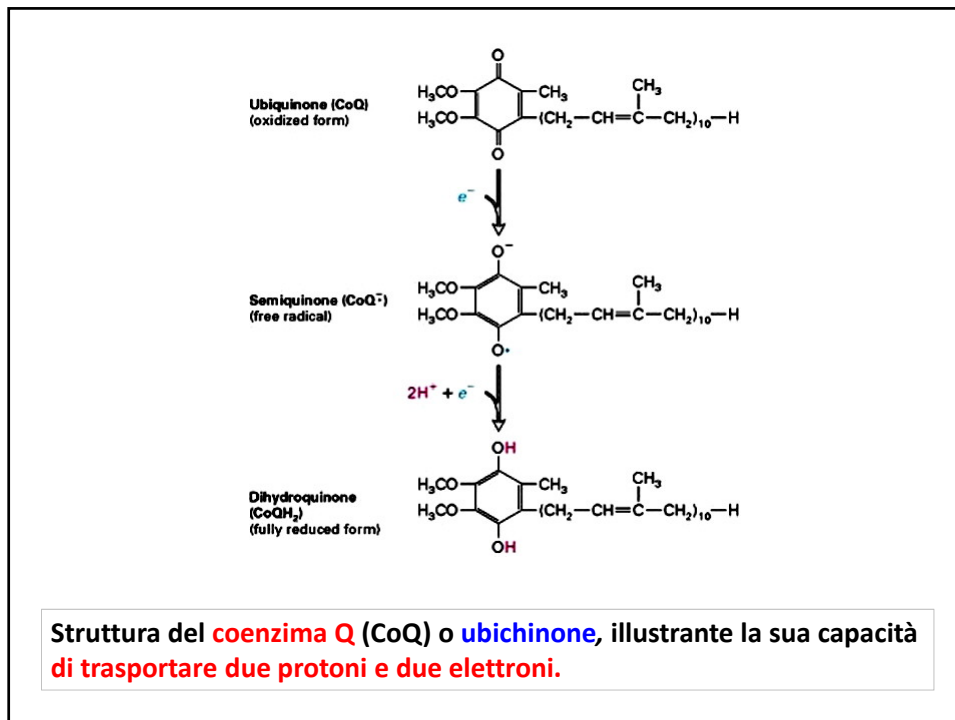
- ✚ Il CoQ accetta non solo elettroni ma anche protoni quando viene ridotto, rilasciandoli quando viene ossidato.
- ✚ Ruolo fondamentale nel pompaggio di protoni attraverso la membrana mitocondriale interna
- ✚ Ognivolta che il CoQ viene ridotto a CoQH_2 esso accetta protoni da un lato della membrana e poi diffonde verso la superficie esterna dove viene ossidato a CoQ, espellendo i protoni dall'altra parte della membrana.

Seminario

Il diidroubichinone è il punto di ingresso degli elettroni del FADH_2 delle flavoproteine

- ✚ L'enzima del ciclo dell'acido citrico **succinato deidrogenasi**, che **genera FADH_2** con l'ossidazione del succinato in fumarato, fa parte del complesso succinato-Q reduttasi (**complesso II**) una proteina integrale della membrana mitocondriale interna.
- ✚ **Il FADH_2 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 reduttasi, e altri enzimi che trasferiscono gli elettroni del FADH_2 a Q, al contrario della NADH-Q ossidoreduttasi, non trasportano protoni.
- ✚ Perciò, **si forma meno ATP dall'ossidazione del FADH_2 che non del NADH.**





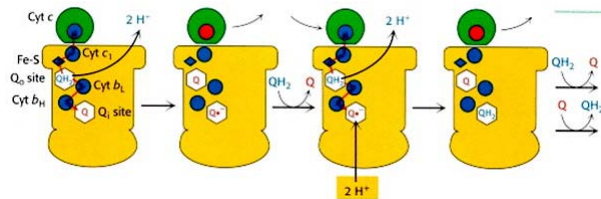
Seminario

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 plastoquinone, che è quasi identico.

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 QH_2 legato sono trasferiti, uno al citocromo c e l'altro a Q legato per formare il semichinone Q^\bullet . Il Q formato si dissocia e viene sostituito da un secondo QH_2 , che anche esso dà i suoi elettroni, uno ad una seconda molecola di citocromo c e l'altro per ridurre Q^\bullet a QH_2 . 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.