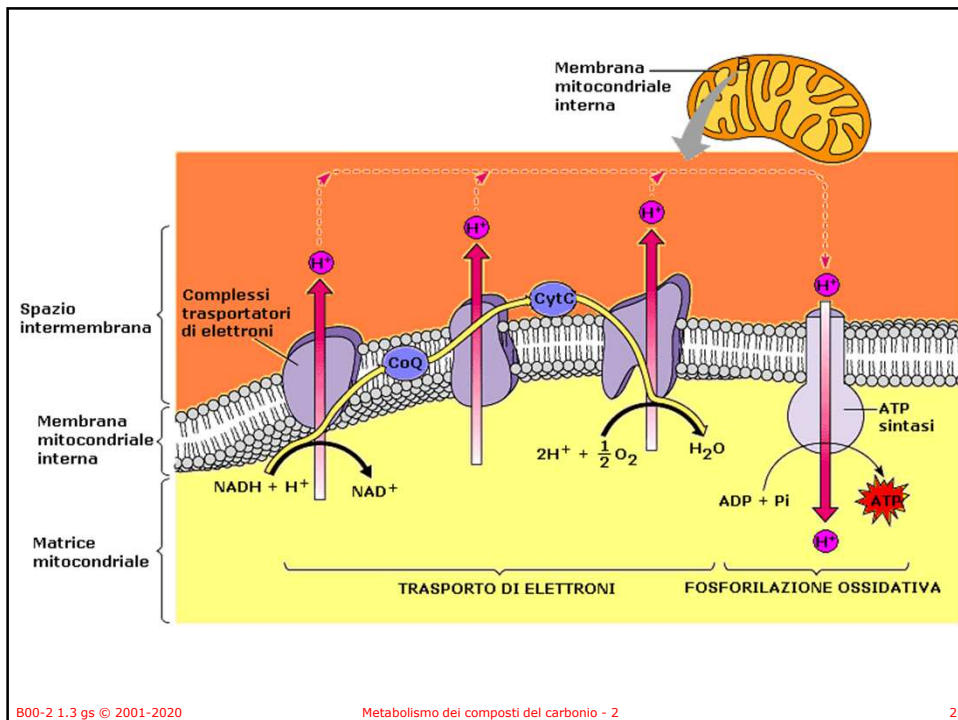
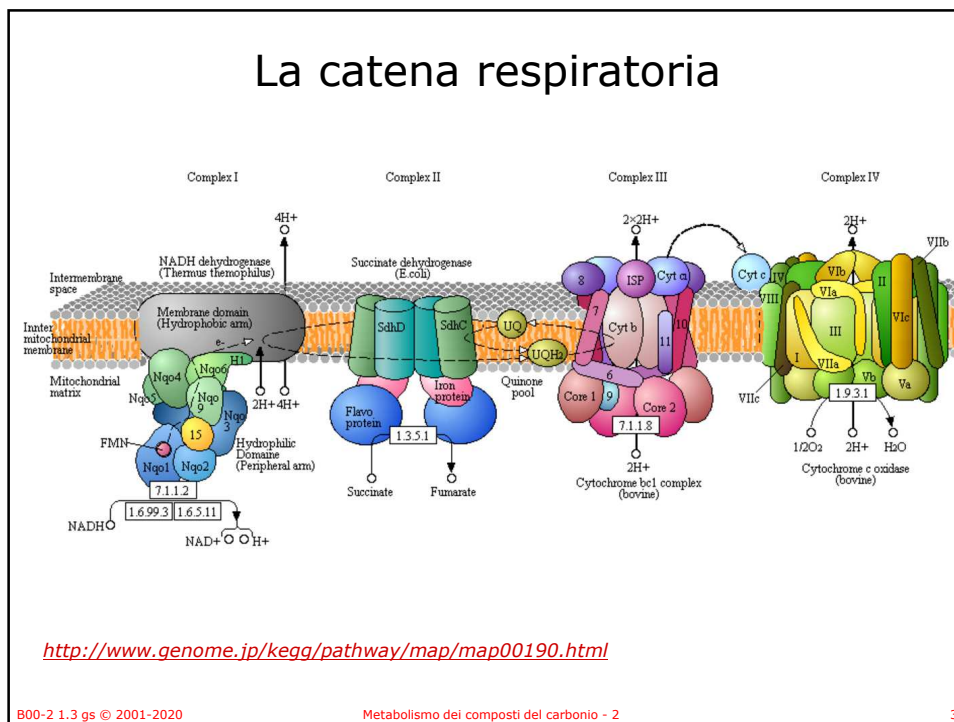




1



2



3

Trasporto di elettroni

- In una reazione di ossidoriduzione

$$A_{ox} + B_{red} \rightleftharpoons B_{ox} + A_{red}$$
- A_{ox} è la forma ossidata di A (ossidante)
- B_{red} è la forma ridotta di B (riducente).
- Per questo trasferimento di elettroni si possono considerare le reazioni di semicella:

$$A_{ox} + ne^- \rightleftharpoons A_{red} \quad Fe^{+++} + 1e^- \rightleftharpoons Fe^{++}$$

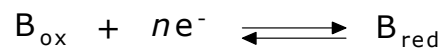
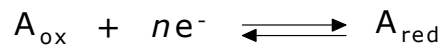
$$B_{ox} + ne^- \rightleftharpoons B_{red}$$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 4

4

Trasporto di elettroni

- Per ogni semireazione vale



- quando $[A_{\text{red}}] = [A_{\text{ox}}]$, $E = E^{\circ}$
- E° è il potenziale redox di semireazione, è il potenziale quando la concentrazione delle specie ossidate e ridotte sono uguali.

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{Specie ridotta}]}{[\text{Specie ossidata}]}$$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

5

5

Trasporto di elettroni

- Per un trasferimento di elettroni:

$$\Delta E^{\circ} = E^{\circ}_{(\text{ossidante})} - E^{\circ}_{(\text{riducente})} = E^{\circ}_{(\text{accettore})} - E^{\circ}_{(\text{donatore})}$$

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

- Un trasferimento di elettroni è spontaneo (ΔG negativo) se il potenziale (E°) del donatore è più negativo del potenziale (E°) dell'accettore.
- Se ΔE° è positivo la reazione è spontanea.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

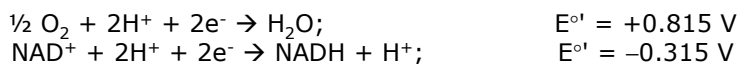
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

6

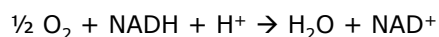
6

Trasporto di elettroni

- Consideriamo il trasferimento di due elettroni dal NADH all'ossigeno:



- Sottraendo la seconda dalla prima:



$$\Delta E^{\circ'} = +1.13 \text{ V}$$

$$\Delta G = -nF\Delta E^{\circ'} = -2(96494)(1.13) = -218 \text{ kJ/mol}$$

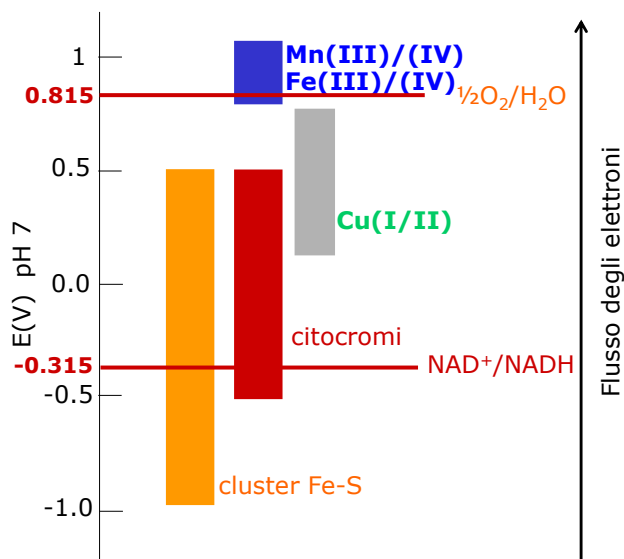
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

7

7

Potenziale

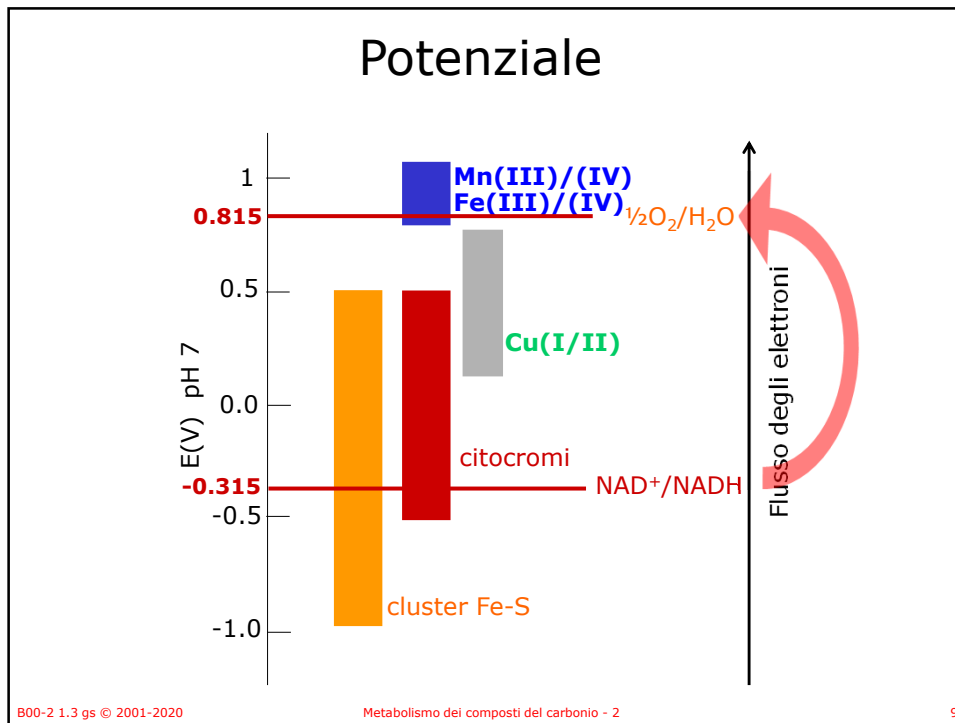


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

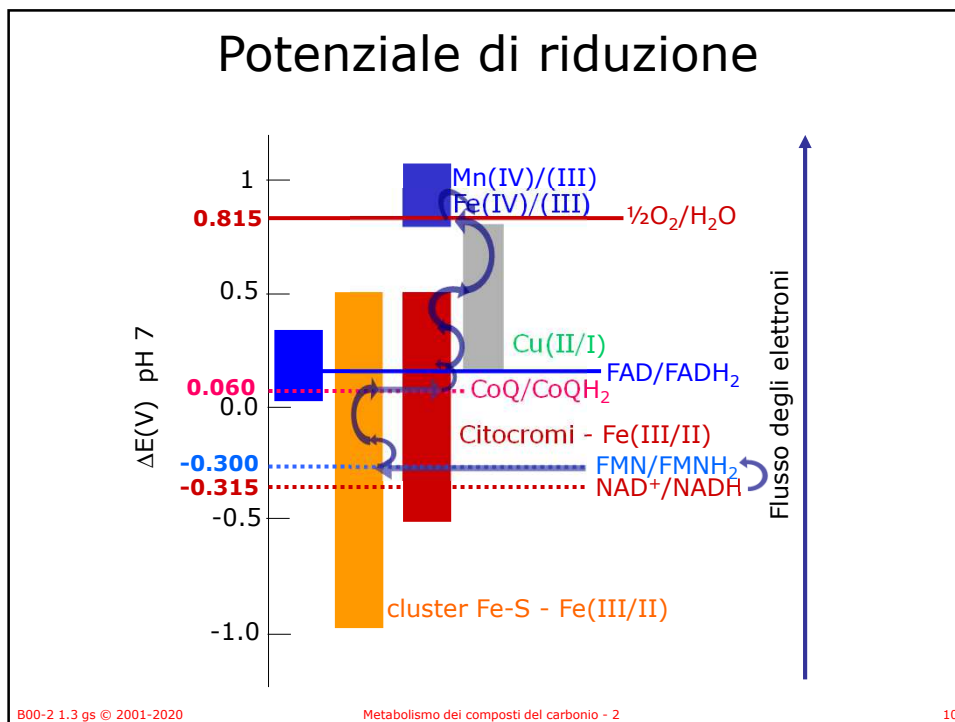
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

8

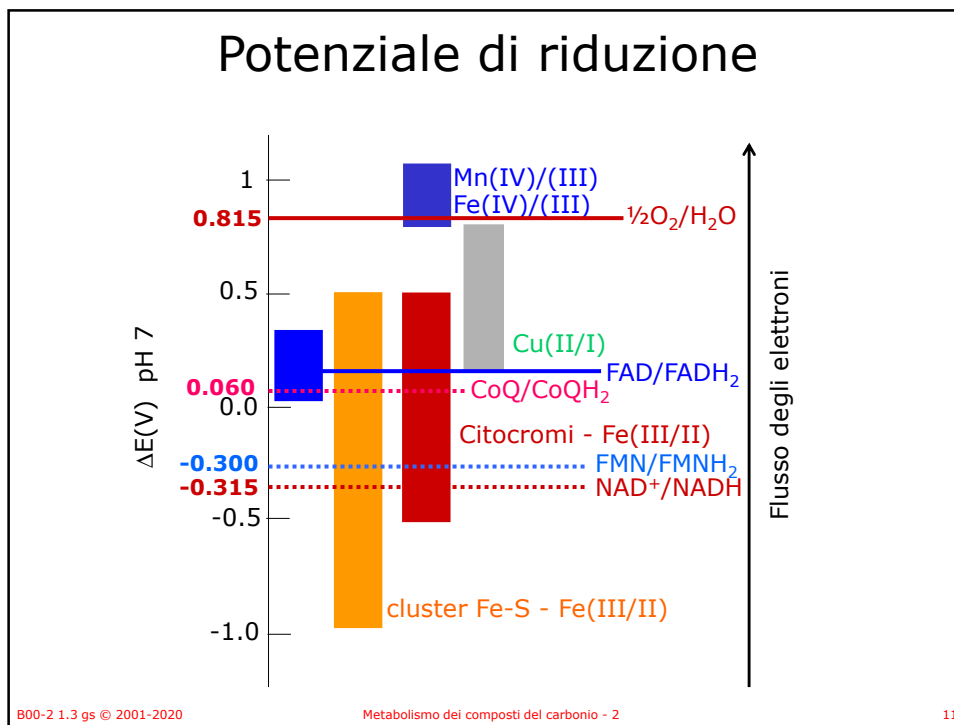
8



9



10



11

Personaggi:

- I trasportatori di elettroni:
 - Nucleotidi:
 - NAD⁺/NADH,
 - FAD/FADH⁺/FADH₂,
 - FMN/FMNH⁺/FMNH₂
 - Trasportatori mobili:
 - Coenzima Q,
 - Citocromo c
 - Composti ionici:
 - Fe⁺⁺⁺/Fe⁺⁺ nei:
 - citocromi a, b, c e
 - nei centri ferro-zolfo

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 12

12

Personaggi:

- **Complessi enzimatici:**
 - Complesso I:
 - NADH-CoezimaQ ossidoreduttasi (EC 1.6.5.3)
 - Complesso II:
 - Succinato-CoQ reduttasi ossidoreduttasi (EC 1.3.5.1)
 - Complesso III:
 - CoQ-cyt c reduttasi ossidoreduttasi (EC EC 1.10.2.2)
 - Complesso IV:
 - Citocromo ossidasi (EC 1.9.3.1)
 - Complesso V: ATP sintasi

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

13

13

Trasportatori di elettroni

- Delle coppie NAD^+/NADH e FAD/FADH_2 abbiamo già visto.
- FMN (Flavin MonoNucleotide) è il gruppo prostetico di alcune flavo proteine.
- La struttura è simile al FAD, ma manca la parte adeninucleotidica.
- In soluzione il FMN (come il FAD) può accettare due elettroni e due H^+ per formare FMNH_2 .

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

14

14

I complessi

Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt b _{560r} , 3 Fe-S
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b _H , cyt b _L , cyt c1, Fe-S _{Rieske}
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt a ₃ , Cu _A , Cu _B

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

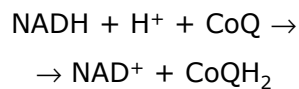
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

15

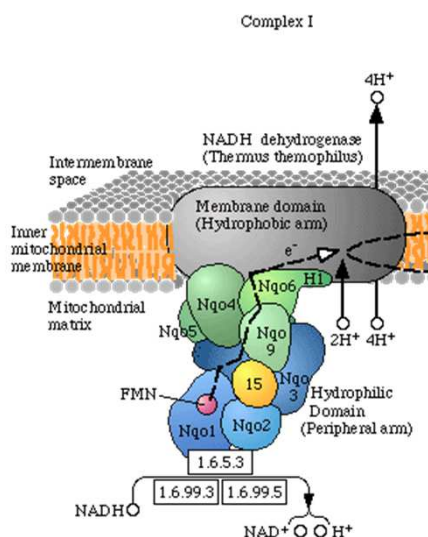
15

Complesso I

- Il Complesso I catalizza l'ossidazione del NADH con riduzione del CoQ:



- La struttura ad alta risoluzione non è ancora disponibile, si ha una struttura al microscopio elettronico.
- Il complesso ha forma di L.



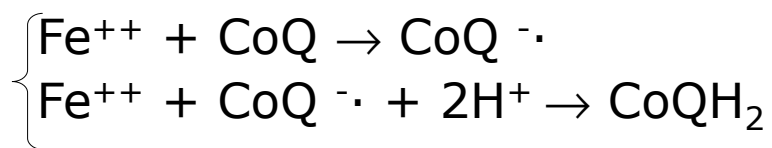
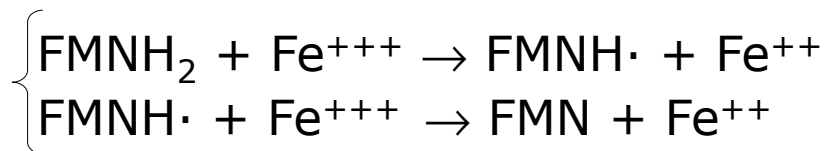
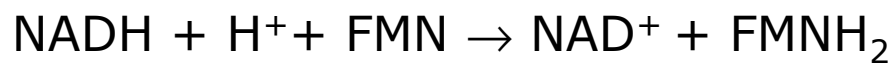
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

16

16

Complesso I



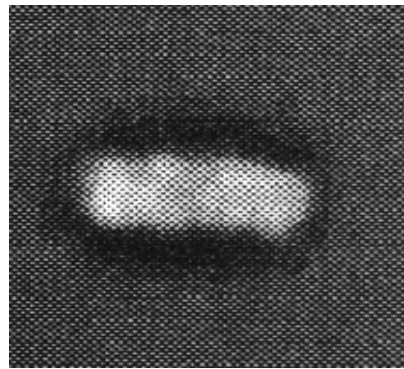
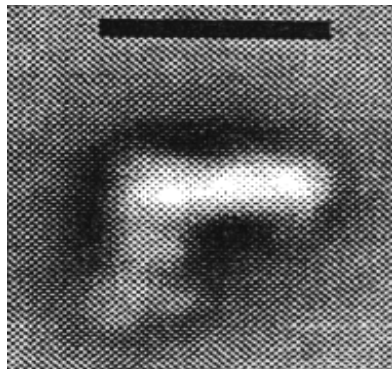
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

17

17

Complesso I



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

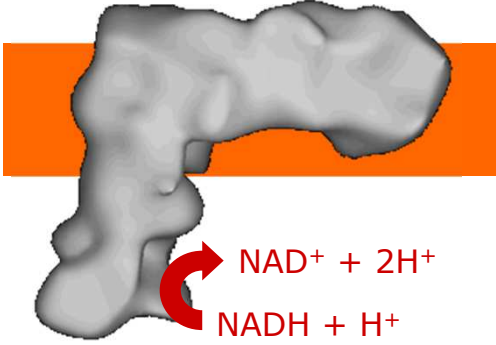
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

18

18

Complesso I

- Il dominio dove si lega il NADH protrude nella matrice mitocondriale.
- Il CoQ si lega nel dominio di membrana.
- I centri Fe-S sono localizzati nel dominio che lega il NADH e nel dominio che lo connette alla membrana.

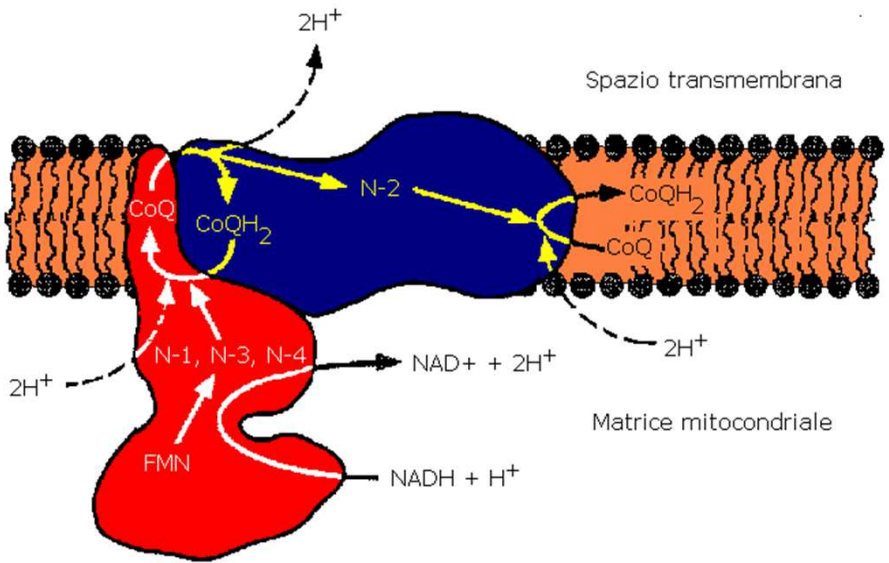


$NAD^+ + 2H^+$
 $NADH + H^+$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 19

19

Complesso I



$2H^+$
 Spazio transmembrana
 CoQ $CoQH_2$ $N-2$ $CoQH_2$ CoQ
 $2H^+$ $N-1, N-3, N-4$ $NAD^+ + 2H^+$ $2H^+$
 Matrice mitocondriale
 FMN $NADH + H^+$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 20

20

NATURE | Vol 465 | 27 May 2010 NEWS & VIEWS

Figure 1 | Indirect coupling of electron transfer to proton pumping in complex I. Complex I, an enzyme found in mitochondrial and bacterial membranes, converts energy by coupling electron transfer to proton pumping. Sazanov and colleagues' crystal structures of bacterial complex I reveal that the transmembrane NuoL subunit of the enzyme projects a long α -helix through the adjacent NuoM and NuoN subunits. They suggest the following mechanism to explain how electron transfer drives proton pumping. **a**, Pairs of electrons from the metabolic intermediate NADH are transferred to a cofactor (flavin mononucleotide, FMN) and then passed along a chain of iron-sulphur clusters in the extramembrane region of complex I, eventually reaching a quinone cofactor; blue arrows indicate the electron-transfer pathway. This allows a proton (H^+) to pass through complex I at the interface of the extra- and intramembrane regions. Protons can also enter channels in NuoL, NuoM and NuoN from the cytoplasm, but cannot pass through. White circles with minus signs represent negatively charged amino acids, which are key to proton transport. **b**, Conformational changes in the NuoA/J/K subunits push the long α -helix towards the other transmembrane subunits. This tilts three other helices in NuoL, NuoM and NuoN, causing the reorientation of certain residues in the subunits' channels. These local conformational changes allow protons in the channels to pass through the channels and enter the periplasm (the space between the inner and outer bacterial membranes).

The architecture of respiratory complex I

Rouslan G. Efremov*, Rozbeh Baradaran* & Leonid A. Sazanov 21

21

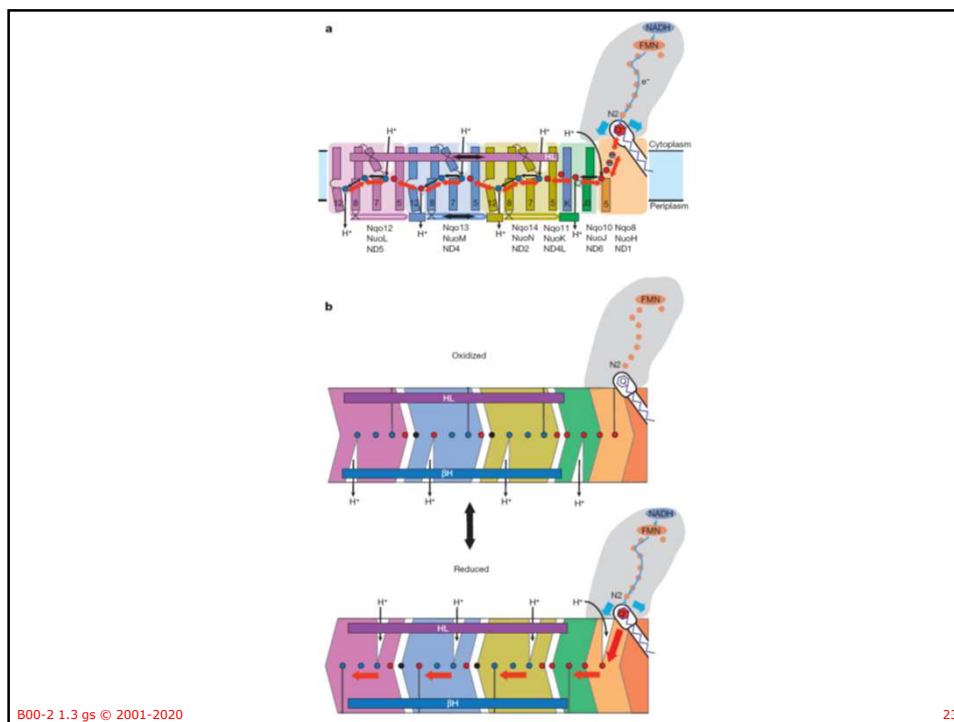
Figure 1 | Structure of the entire complex I from *T. thermophilus*.

Figure 3 | E-channel and central hydrophilic axis.

Crystal structure of the entire respiratory complex I

Rozbeh Baradaran¹, John M. Berrisford^{1,†}, Gurdeep S. Minhas¹ & Leonid A. Sazanov¹
 444 | NATURE | VOL 494 | 28 FEBRUARY 2013
 BUO-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 22

22



23

Complesso I

- Ossidazione del NADH

$$\text{NADH} + \text{H}^+ + \text{FMN} \rightarrow \text{NAD}^+ + \text{FMNH}_2$$

$$\text{FMNH}_2 + (\text{Fe-S})_{\text{ox}} \rightarrow \text{FMNH}\cdot + (\text{Fe-S})_{\text{red}} + \text{H}^+$$
- Dopo che il centro Fe-S è riossidato per trasferimento di un elettrone al successivo, può accettare il secondo elettrone dal FMNH·

$$\text{FMNH}\cdot + (\text{Fe-S})_{\text{ox}} \rightarrow \text{FMN} + (\text{Fe-S})_{\text{red}} + \text{H}^+$$
- Gli elettroni passano da una serie di sette centri Fe-S fino al CoQ
- Il CoQ accetta 2 e⁻, uno alla volta, e preleva 2 H⁺ per formare il CoQH₂ completamente ridotto.

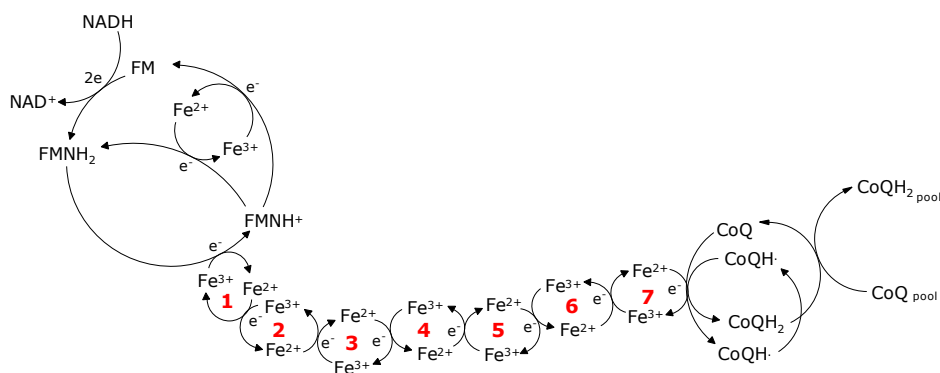
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

24

24

Complesso I – ossidazione del NADH



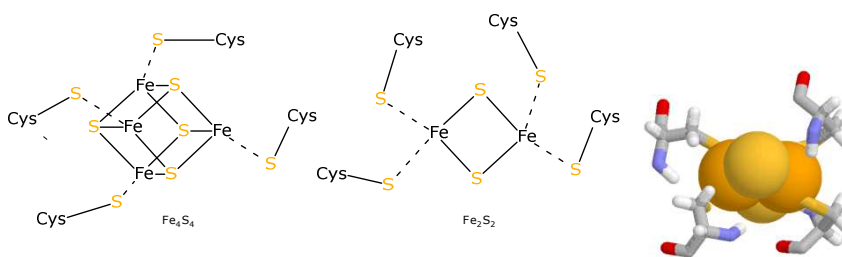
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

25

25

Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S



- I centri ferro-zolfo (Fe-S) sono gruppi prostetici che contengono ione Fe (da uno a quattro) complessati con atomi di zolfo elementare o di Cys.
- Le proteine trasportatrici di elettroni possono contenere più centri Fe-S.

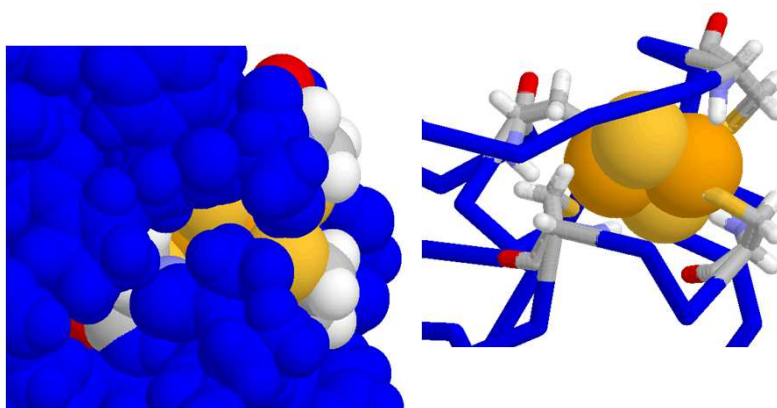
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

26

26

Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

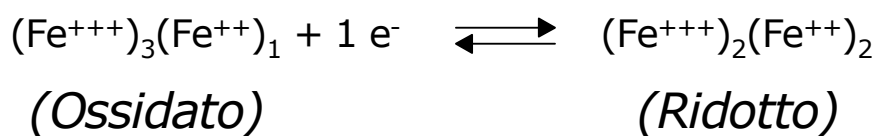
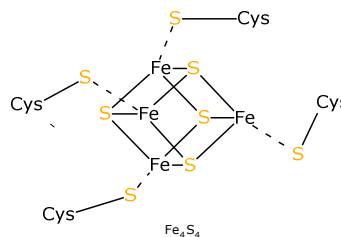
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

27

27

Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S

- I centri Fe-S trasferiscono un solo elettrone per volta tra gli ioni Fe a causa della vicinanza degli ioni.
- Il numero di ossidazione del ferro varia da +3 a +2.

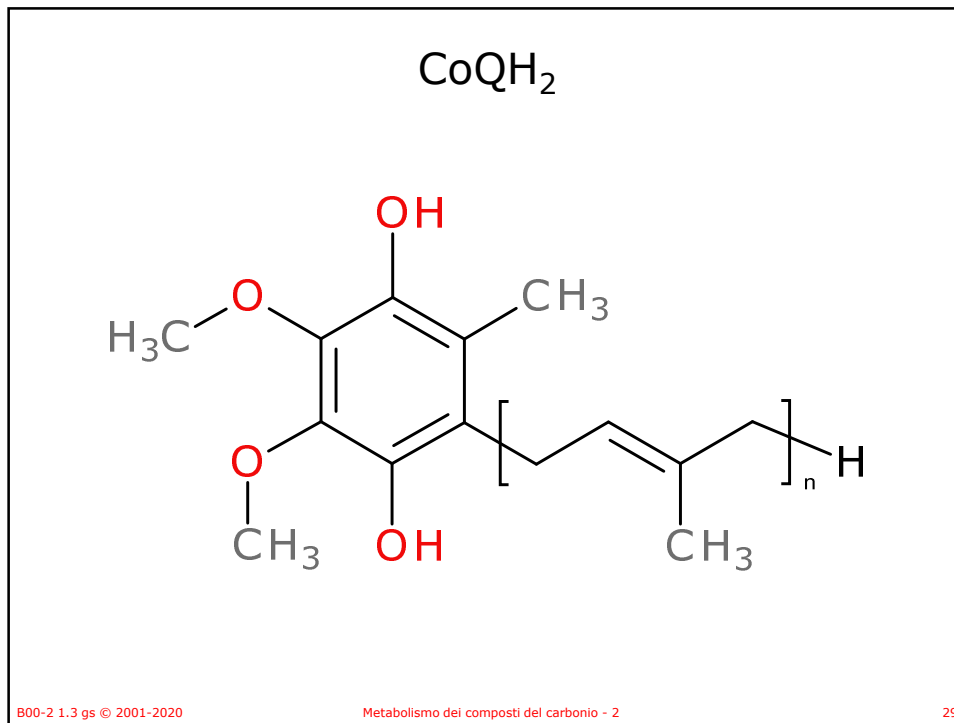


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

28

28



29

I complessi

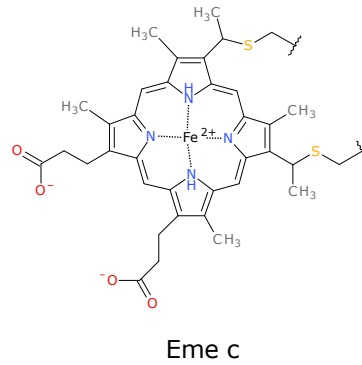
Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt b₅₆₀, 3 Fe-S
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b _H , cyt b _L , cyt c ₁ , Fe-S _{Rieske}
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt a ₃ , Cu _A , Cu _B

B00-2 1.3 gs © 2001-2020
Metabolismo dei composti del carbonio - 2
30

30

Trasportatori di elettroni: gruppo Eme

- Il gruppo eme è il gruppo prostetico dei citocromi.
- Contiene uno ione Ferro coordinato con quattro atomi di azoto di un anello porfirinico.
- Nelle tre classi di citocromi (a, b, c) il gruppo eme si differenzia leggermente per i sostituenti dell'anello porfirinico
- Sono comuni le due catene di propionato
- Solo il gruppo eme c è legato covalentemente alla proteina attraverso legami tioestere con residui Cys.



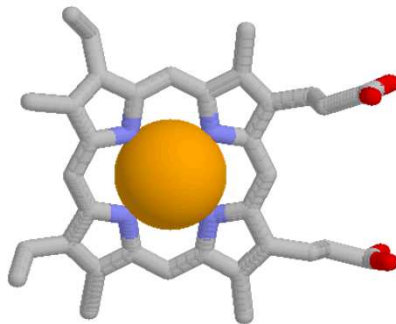
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

31

31

Trasportatori di elettroni: gruppo Eme



- Lo ione Ferro nel gruppo eme può subire reazioni di ossidoriduzioni con un elettrone tra lo stato ferroso (Fe^{2+}) e ferrico (Fe^{3+}):



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

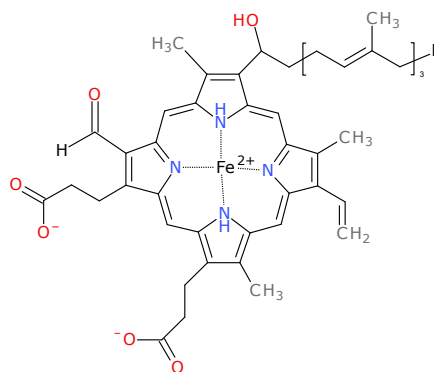
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

32

32

Trasportatori di elettroni: Gruppo Eme a

- Il gruppo eme a possiede una catena farnesilica (tre unità isoprenoidi) che ne conferiscono una certa idrofobicità.



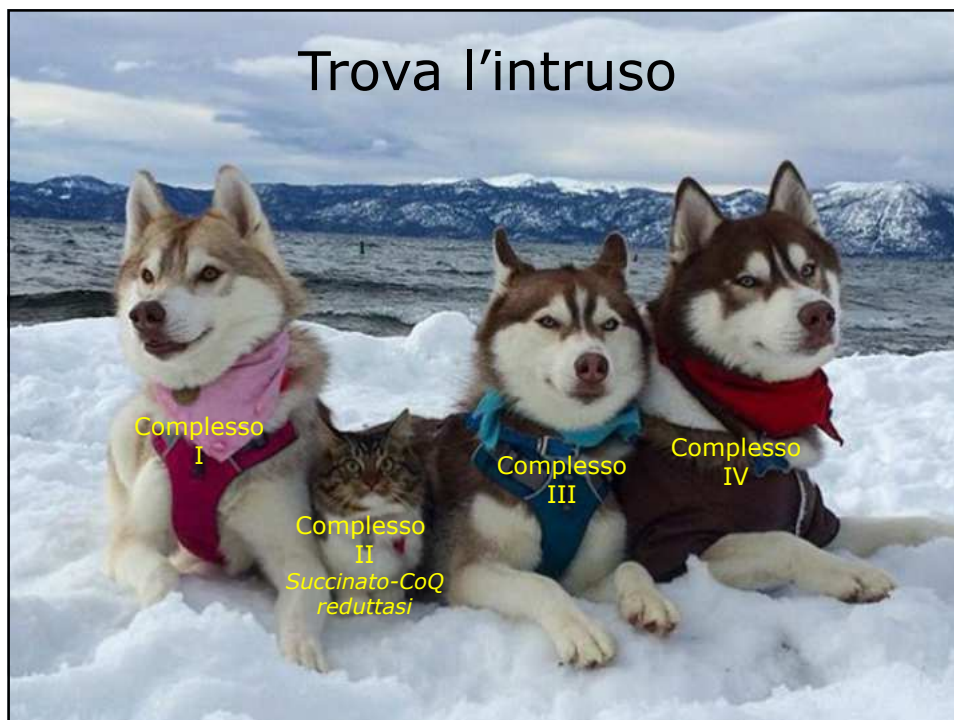
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

33

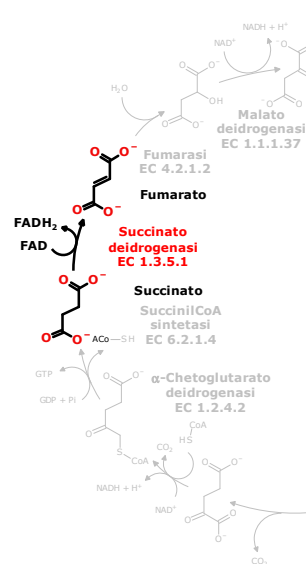
33

Trova l'intruso



34

Complesso II



- La succinato deidrogenasi del ciclo di Krebs è anche chiamata complesso II o succinato-CoQ riduttasi.
- Il FAD è il recettore iniziale degli elettroni,
- è ridotto a FADH₂ durante l'ossidazione del succinato a fumarato.
- Il FADH₂ è quindi riossidato per trasferimento di elettroni ad una serie di centri Fe-S fino al CoQ per produrre CoQH₂.

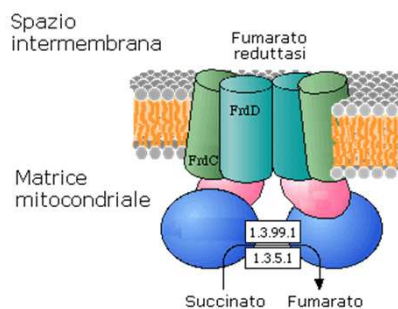
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

35

35

Complesso II



- La succinato deidrogenasi (fumarato reduttasi) del ciclo di Krebs è anche chiamata complesso II o succinato-CoQ riduttasi.
- Il FAD è l'accettore iniziale degli elettroni,
- è ridotto a FADH₂ durante l'ossidazione del succinato a fumarato.

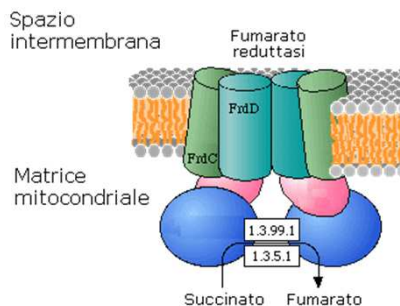
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

36

36

Complesso II



- Il FADH_2 è quindi riossidato per trasferimento di elettroni ad una serie di centri Fe-S fino al CoQ per produrre CoQH_2 .
- Contrariamente agli altri tre complessi della catena respiratoria il complesso II NON trasporta H^+ tra la matrice e lo spazio intermembrana.

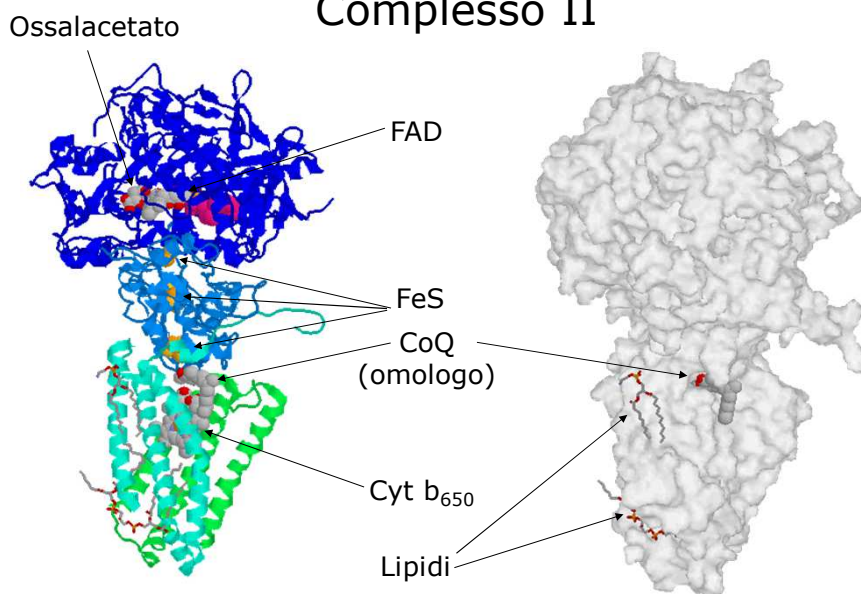
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

37

37

Complesso II

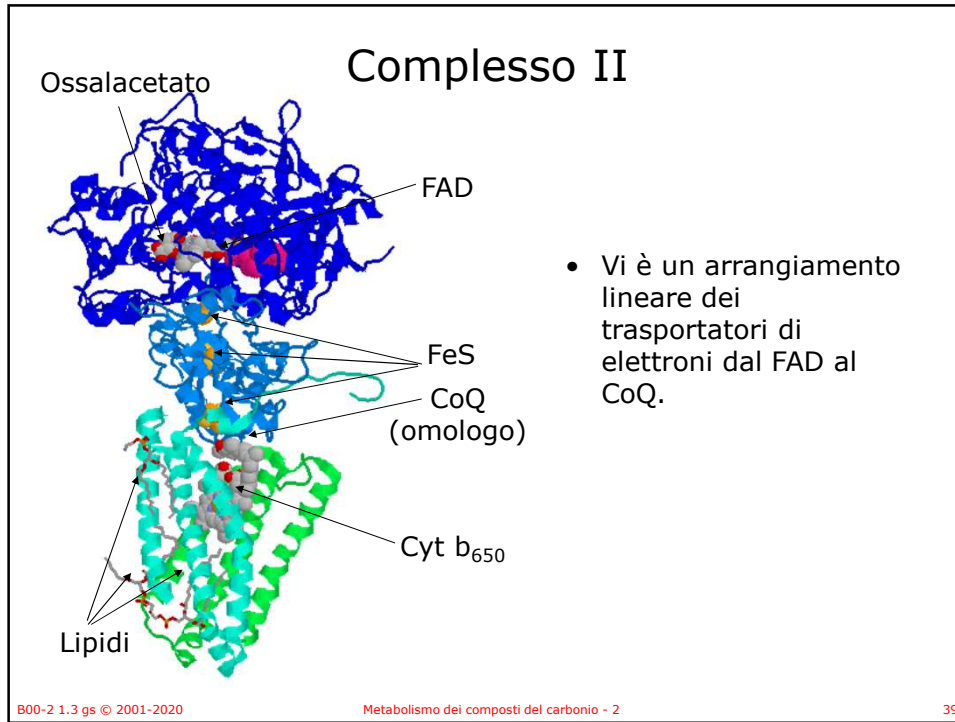


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

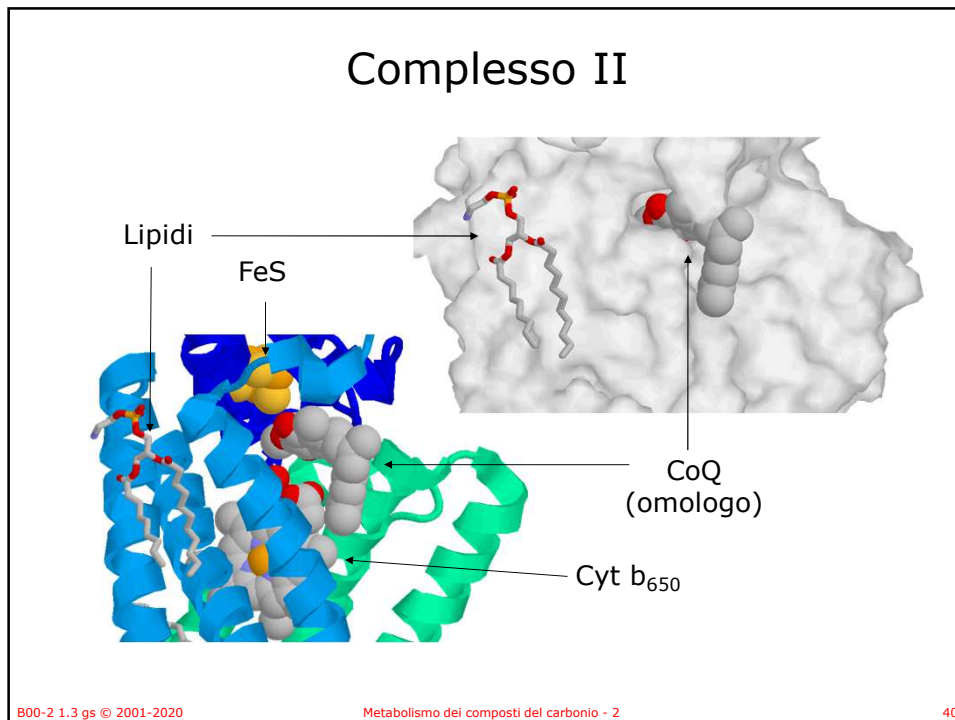
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

38

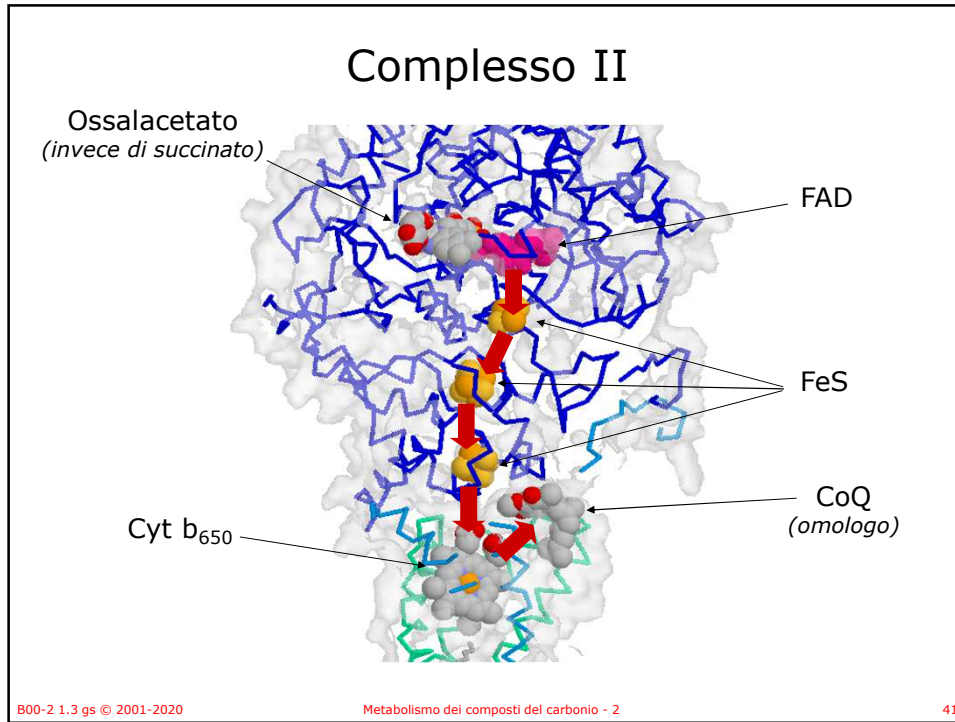
38



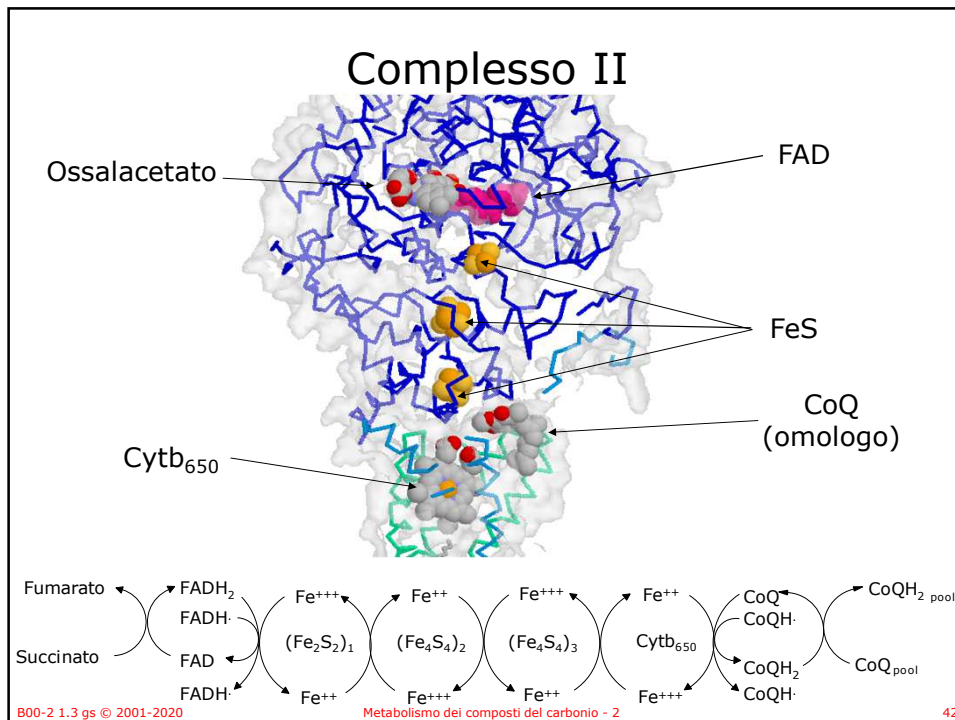
39



40



41



42

I complessi

Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt b _{560r} , 3 Fe-S
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b_{Hr}, cyt b_{Lr}, cyt c1, Fe-S_{Rieske}
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt a ₃ , Cu _A , Cu _B

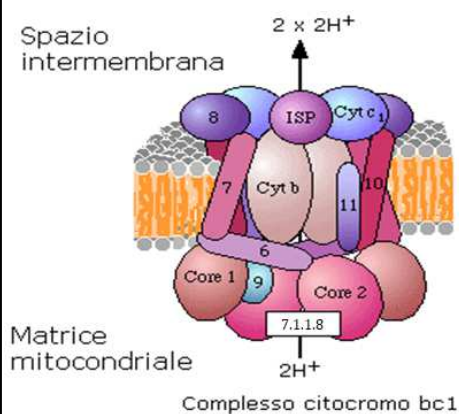
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

43

43

Complesso III



- Complesso citocromo bc₁
- Il complesso III accetta elettroni dal CoQH₂ generato a livello dei complessi I e II.
- Il trasporto dei H⁺ nel complesso III coinvolge il CoQ.

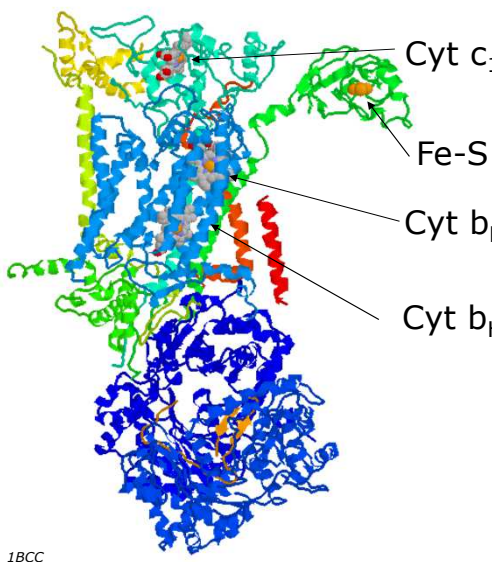
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

44

44

Complesso III

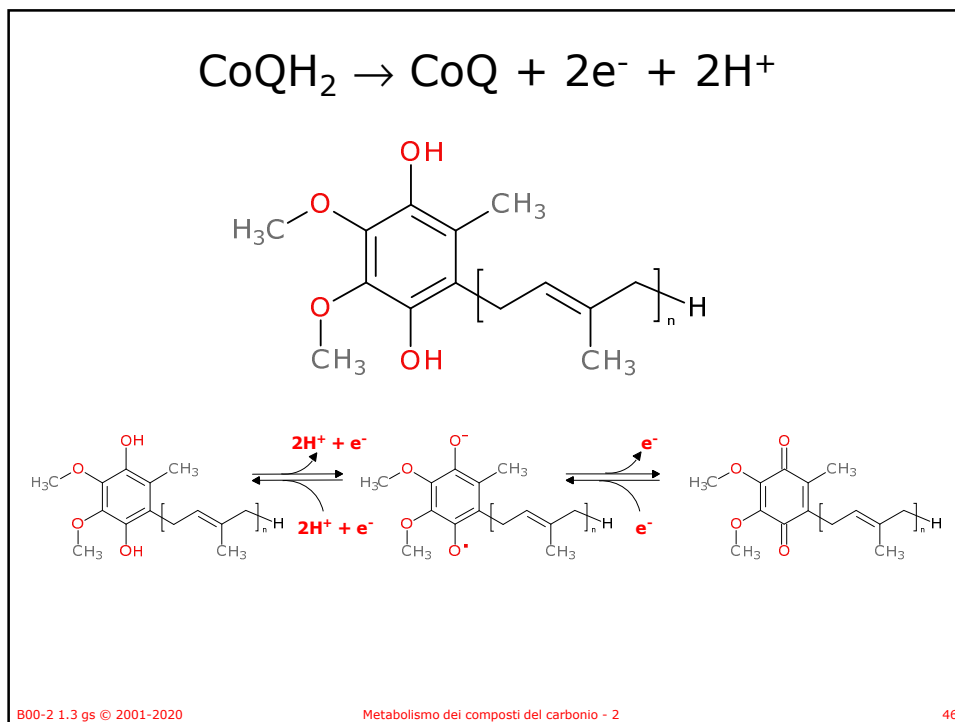


- Ha:
 - un sito di legame del CoQH₂
 - un sito di legame del CoQ
- Gruppi prostetici:
 - Una coppia di citocromi b (cit b_H e cit b_L)
 - Un citocromo c (cit c₁)
 - Un centro Ferro Zolfo (Fe₂S₂)

1BCC

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 45

45



46

Q cycle

- Il "Q cycle" è il meccanismo con il quale avviene la ossidoriduzione del CoQ e dipende da:
 - La mobilità del CoQ nella membrana
 - L'esistenza di un sito di legame che stabilizza il radicale semichinonico CoQ•-

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 47

47

Q cycle

1

- Il CoQH₂ è legato al proprio sito nella proteina.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 48

48

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. It shows the intermembrane space (SPAZIO INTERMEMBRANA) at the top and the matrix (MATRICE) at the bottom. The cycle involves the following steps:

- Electron transfer from $\text{Cyt } b_L$ to $\text{Cyt } b_H$.
- Electron transfer from $\text{Cyt } b_H$ to the Fe-S center, which then transfers it to $\text{Cyt } c_1$.
- Electron transfer from $\text{Cyt } b_H$ to the semichinone radical.
- Electron transfer from the semichinone radical to the reduced ubiquinone (CoQ).
- Proton pumping: 2H^+ are pumped from the matrix to the intermembrane space.

Chemical structures of ubiquinone and semichinone are shown, along with the redox states of the heme groups and the Fe-S center.

- Il CoQH_2 cede un e^- al Fe^{+++} dell'eme b_L
- Si forma il semichinone carico negativamente.
- 2H^+ sono rilasciati nello spazio intermembrana.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 49

49

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. It shows the intermembrane space (SPAZIO INTERMEMBRANA) at the top and the matrix (MATRICE) at the bottom. The cycle involves the following steps:

- Electron transfer from $\text{Cyt } b_H$ to $\text{Cyt } b_L$.
- Electron transfer from $\text{Cyt } b_L$ to the reduced ubiquinone (CoQ), forming a semichinone radical.
- Electron transfer from the semichinone radical to the Fe-S center, which then transfers it to $\text{Cyt } c_1$.
- Electron transfer from the semichinone radical to the oxidized ubiquinone (CoQ).
- Proton pumping: 2H^+ are pumped from the matrix to the intermembrane space.

Chemical structures of ubiquinone and semichinone are shown, along with the redox states of the heme groups and the Fe-S center.

- Un e^- passa dal Fe^{++} del gruppo eme b_H al Fe^{+++} del gruppo eme b_L .
- L' e^- va quindi a ridurre un CoQ ossidato (proveniente dal pool dei chinoni) a semichinone

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 50

50

Q cycle

3b

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. Ubiquinol (UQH₂) is oxidized to ubiquinone (UQ) at the Cyt b_L center, releasing two protons (2H⁺) into the intermembrane space. Electrons (e⁻) from this oxidation are transferred to Cyt b_H, then to an Fe-S cluster, and finally to Cyt c₁. A second ubiquinone molecule is reduced back to ubiquinol at the Cyt b_L center, using electrons from the Cyt b_H center. This second reduction pumps two protons (2H⁺) from the matrix into the intermembrane space. The overall process pumps four protons across the membrane per electron transferred to Cyt c₁.

- Un e⁻ passa dal Fe⁺⁺ del gruppo eme b_H al Fe⁺⁺⁺ del gruppo eme b_L.
- In alternativa (secondo le necessità) l' e⁻ va quindi a ridurre un CoQ^{·-} per riformare il CoQH₂ con due H⁺ provenienti dalla matrice.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020
Metabolismo dei composti del carbonio - 2
51

51

Q cycle

4

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. Ubiquinone (UQ) is reduced to ubiquinol (UQH₂) at the Cyt b_L center, using electrons (e⁻) from the Cyt b_H center. This reduction pumps two protons (2H⁺) from the matrix into the intermembrane space. Electrons from the Cyt b_H center are then transferred to an Fe-S cluster and finally to Cyt c₁. A second ubiquinol molecule is oxidized to ubiquinone at the Cyt b_L center, releasing two protons (2H⁺) into the intermembrane space. The overall process pumps four protons across the membrane per electron transferred to Cyt c₁.

- Il CoQ^{·-}, formato per semiossidazione al passo 2, cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ del complesso Fe-S.
- Si forma il CoQ ossidato che va a confluire nel pool.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020
Metabolismo dei composti del carbonio - 2
52

52

Q cycle

5

SPAZIO INTERMEMBRANA

Cyt c

Cyt c_1

Fe-S

e⁻

Cyt b_H

e⁻

Cyt b_L

e⁻

2H⁺

MATRICE

Compleso III

- Il Fe⁺⁺ del complesso Fe-S cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ del cit c_1 legato alla proteina.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 53

53

Q cycle

6

SPAZIO INTERMEMBRANA

Cyt c

Cyt c_1

Fe-S

e⁻

Cyt b_H

e⁻

Cyt b_L

e⁻

2H⁺

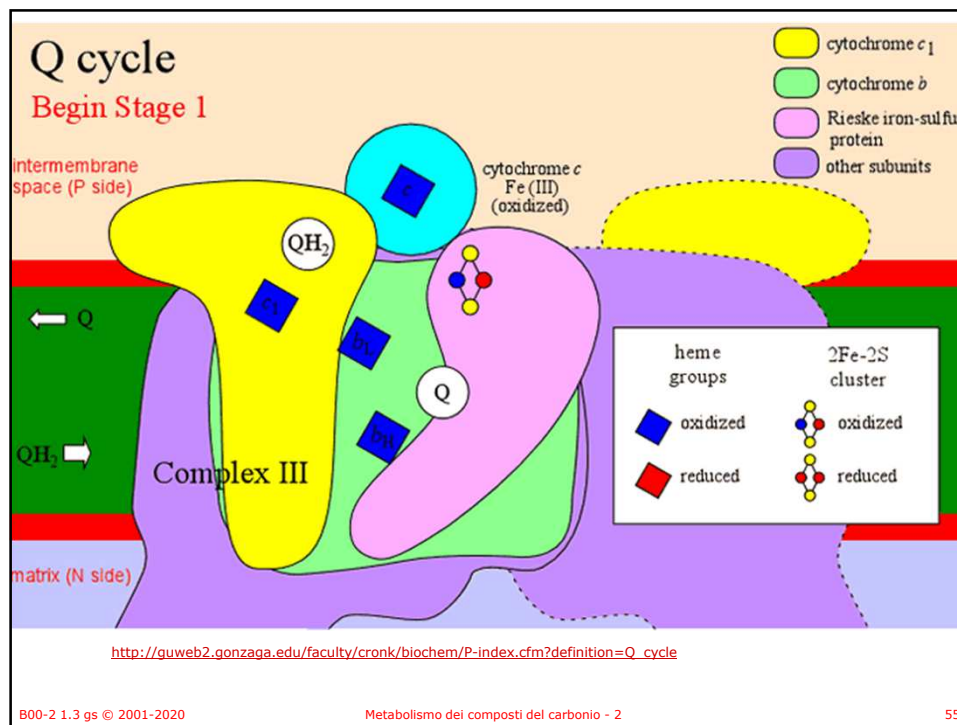
MATRICE

Compleso III

- Il Fe⁺⁺ del cit c_1 legato alla proteina cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ del cit c mobile.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 54

54



55

Complesso III

- Il centro Fe-S (Rieske) è legato al resto del complesso attraverso un braccio flessibile che cambia di posizione durante il trasferimento di elettroni.
- Il centro Fe-S estrae un e^- dal $\text{CoQ}^{\cdot-}$, si muove vicino al gruppo eme c_1 al quale trasferisce l'elettrone.

Cyt c_1

Fe-S

Cyt b_L

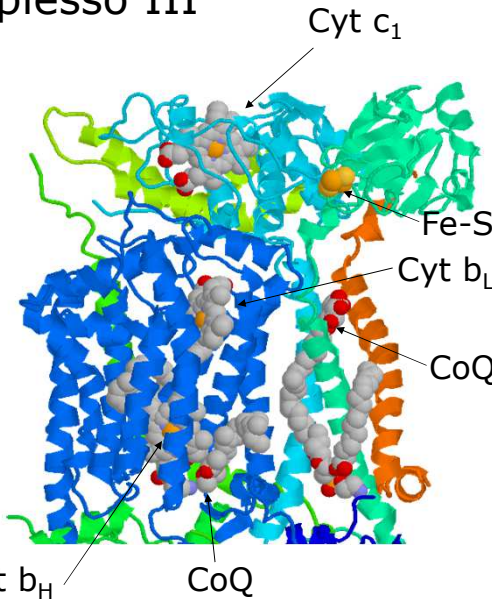
Cyt b_H

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 56

56

Complesso III

- Il centro Fe-S (Rieske) è legato al resto del complesso attraverso un braccio flessibile che cambia di posizione durante il trasferimento di elettroni.
- Il centro Fe-S estrae un e^- dal $\text{CoQ}^{\cdot-}$, si muove vicino al gruppo eme c_1 al quale trasferisce l'elettrone.

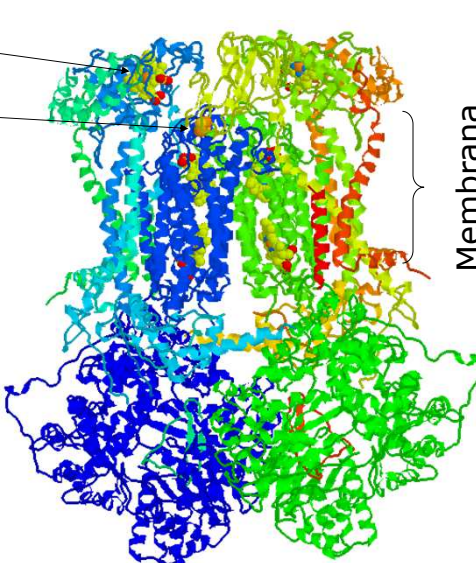


B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 57

57

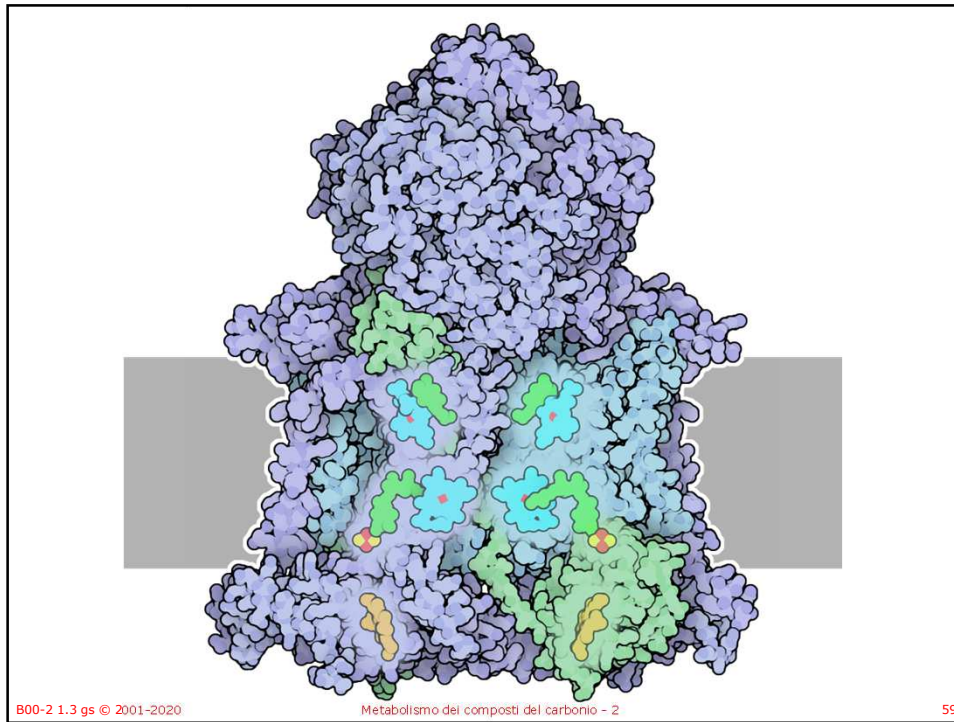
Complesso III

- Il complesso III è un omodimero obbligato.
- Il centro Fe-S di una metà interagisce con il CoQ legato e con il gruppo eme c_1 nell'altra metà del dimero.

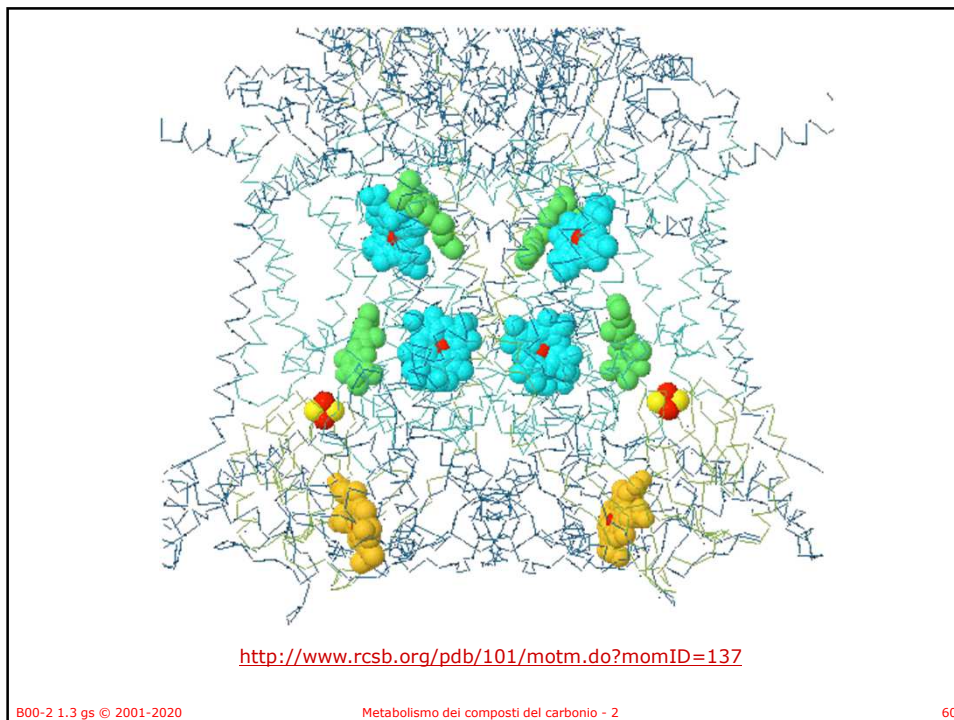


B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 58

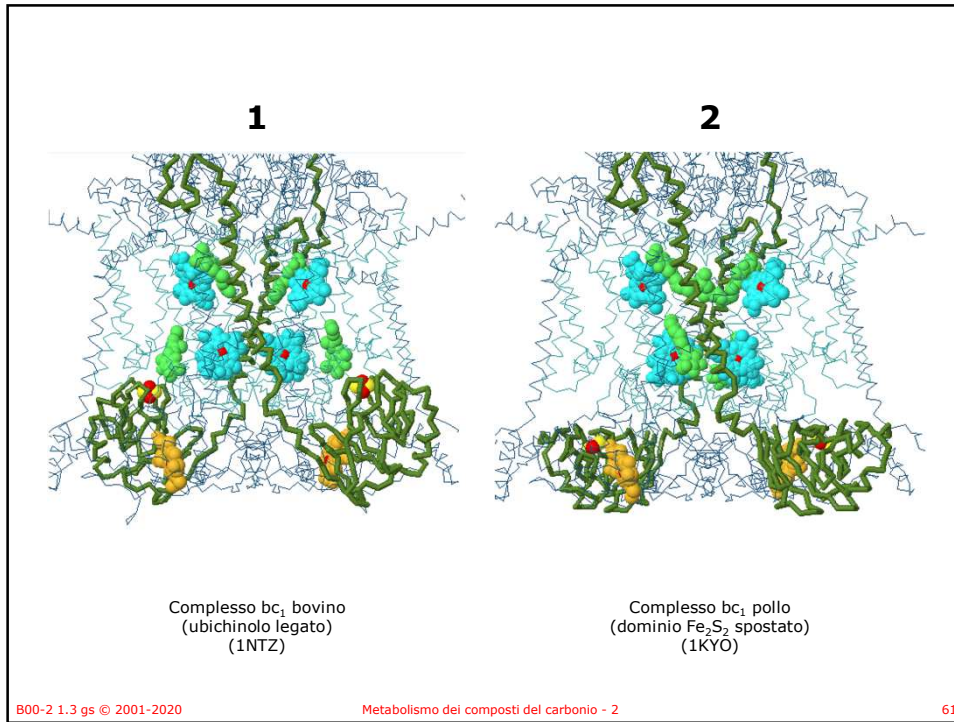
58



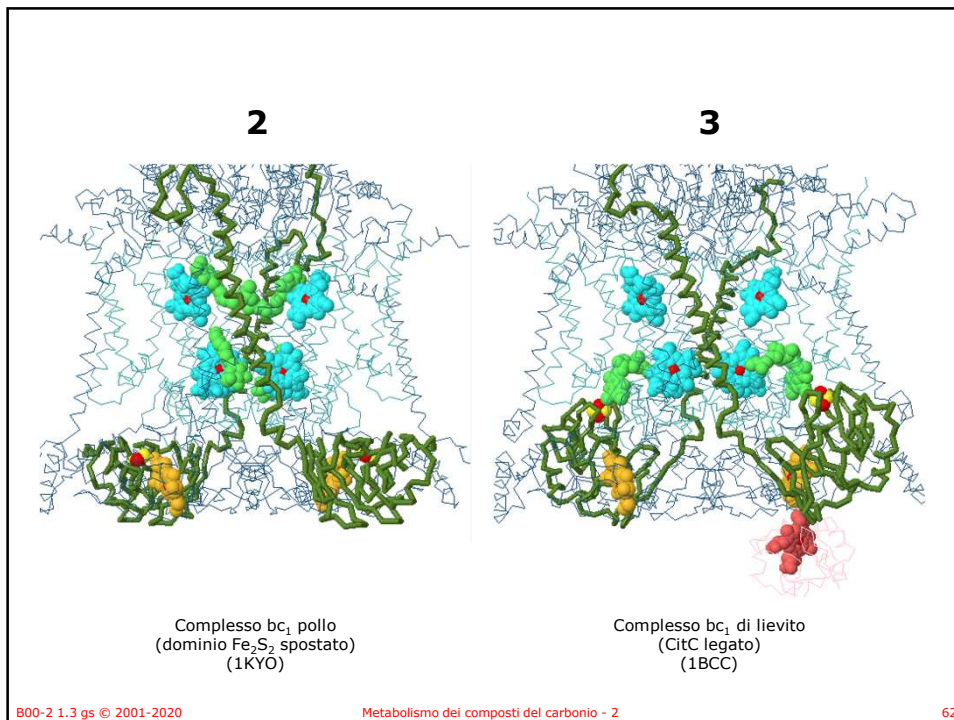
59



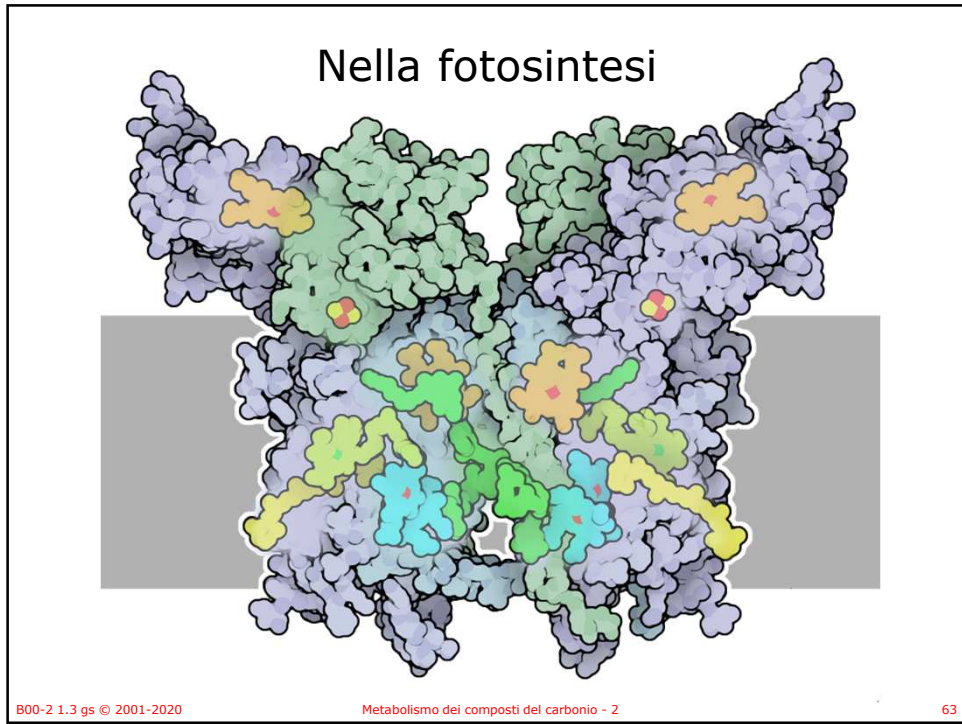
60



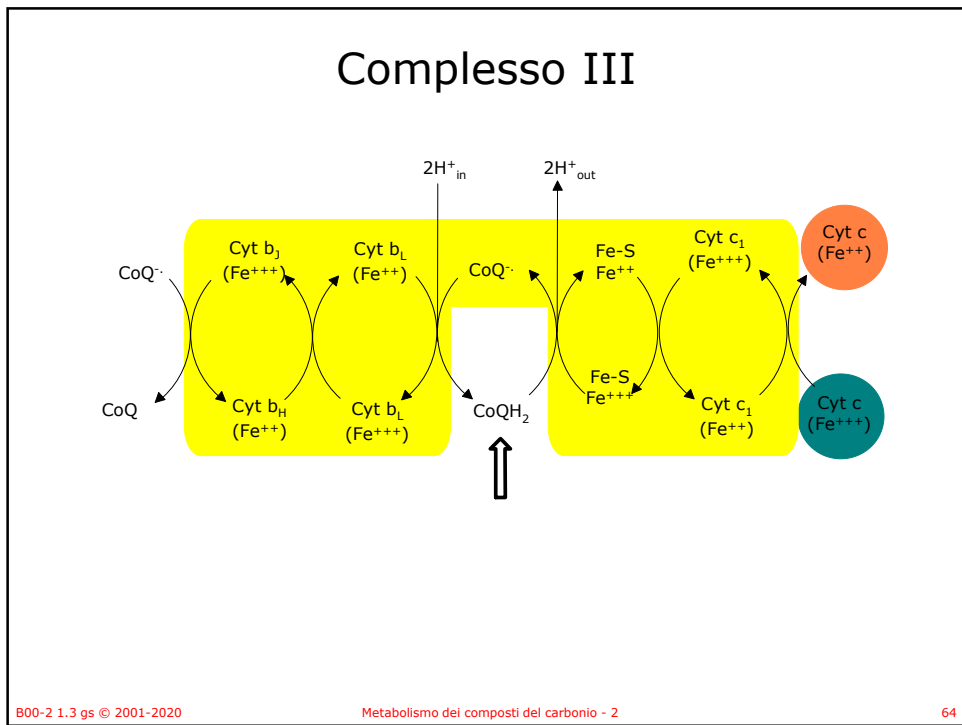
61



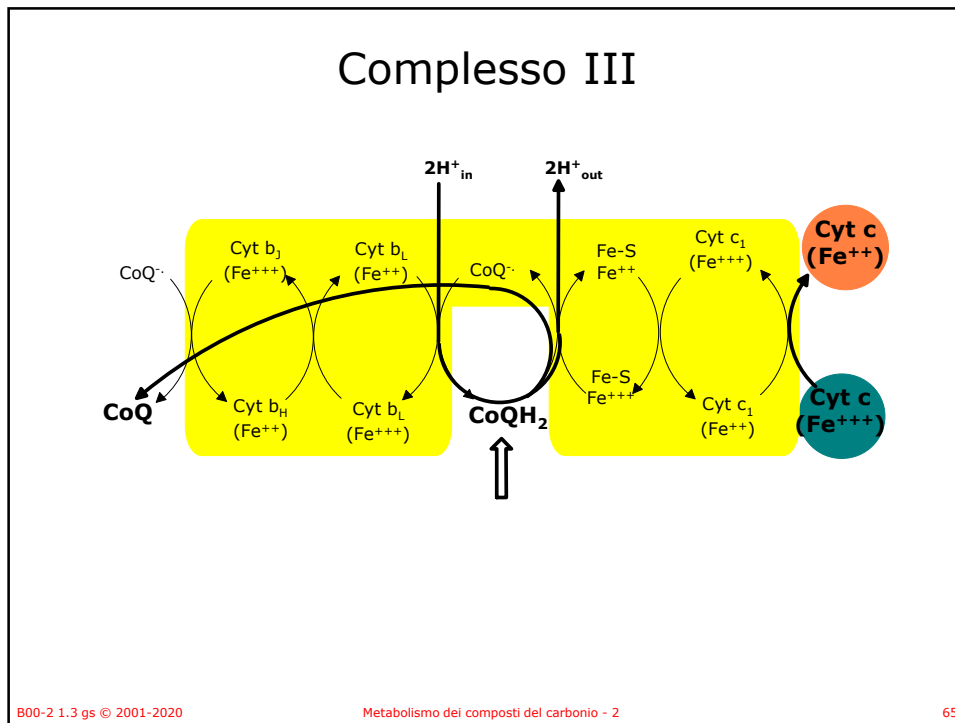
62



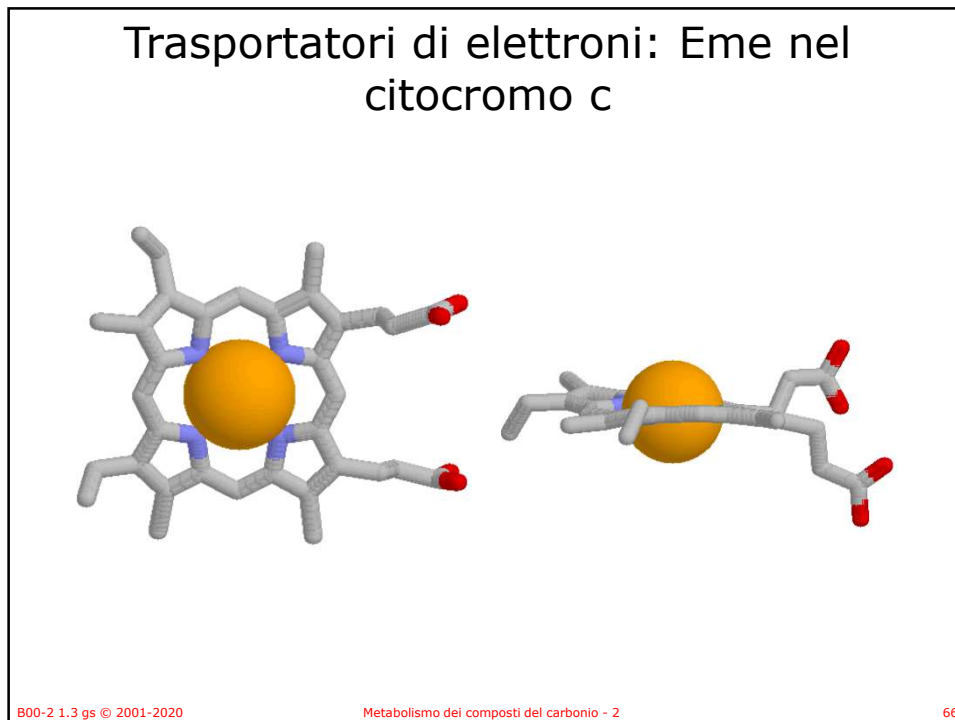
63



64



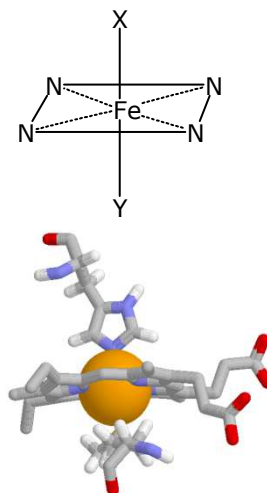
65



66

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

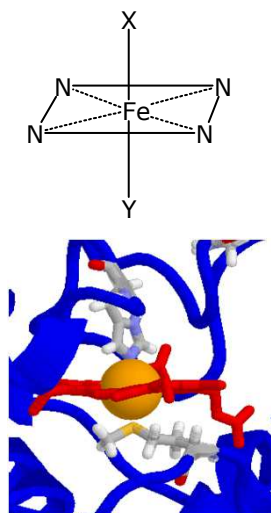
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

67

67

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

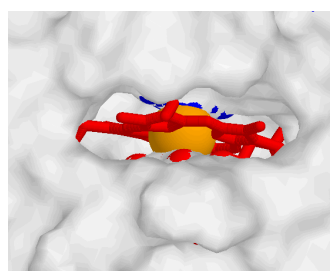
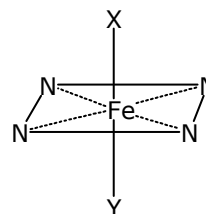
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

68

68

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

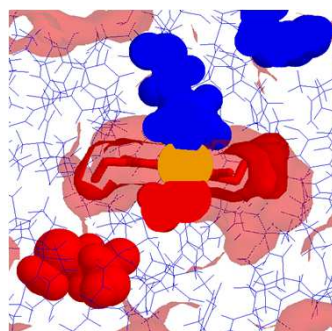
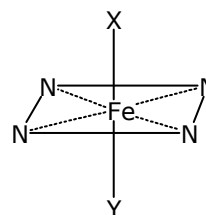
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

69

69

Trasportatori di elettroni: Eme nel citocromo c

- L'anello porfirinico è planare.
- Il Fe nel gruppo eme è anche coordinato con due ligandi assiali al di sopra e al di sotto del piano (X,Y).
- I ligandi possono essere atomi di zolfo o azoto di catene laterali di aminoacidi.
- Nel citocromo c sono lo zolfo di una Met (sotto) e l'azoto di una His (sopra).
- I gruppi eme che legano ossigeno (emoglobina, mioglobina, ecc.) hanno una posizione libera per l'O₂.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

70

70

Trasportatori di elettroni: i citocromi

- I **citocromi** sono proteine che hanno un gruppo eme come gruppo prostetico e assorbono luce a lunghezze d'onda caratteristiche.
- Il loro assorbimento varia se il ferro è ossidato e ridotto, ciò permette di seguirne lo stato redox.
- Alcuni citocromi sono parte di proteine integrali di membrana che possiedono anche altri sistemi di trasporto degli elettroni.
- Il **citocromo c** è, invece, una piccola proteina solubile in acqua con singolo gruppo eme.

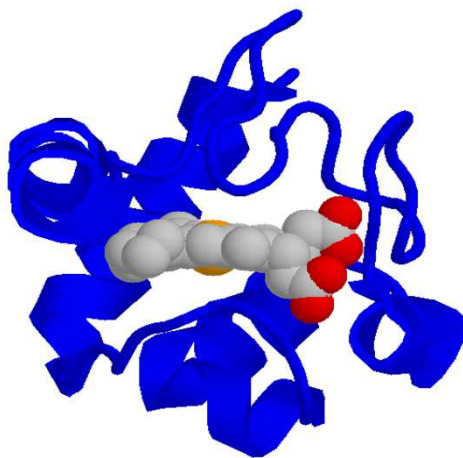
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

71

71

Trasportatori di elettroni: Citocromo c



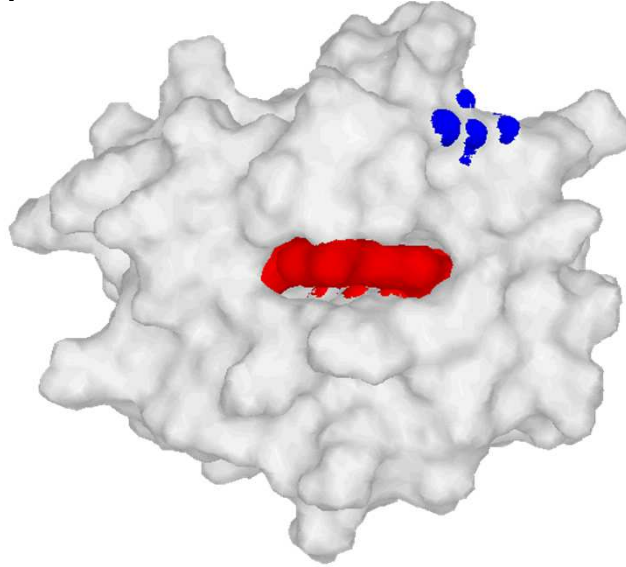
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

72

72

Trasportatori di elettroni: Citocromo c



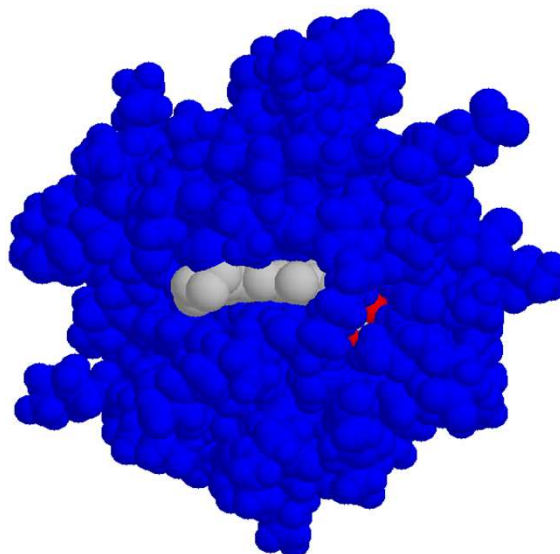
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

73

73

Trasportatori di elettroni: Citocromo c



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

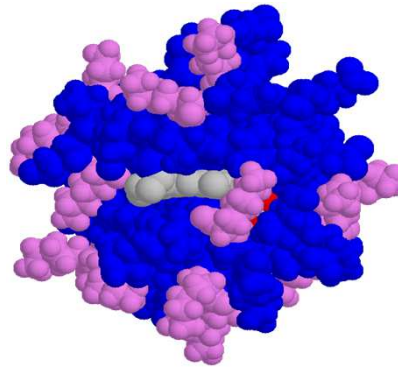
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

74

74

Trasportatori di elettroni: Citocromo c

- I residui di Lys (in magenta), sono superficiali e carichi positivamente
- Circondano la tasca dove alloggia il gruppo eme.
- Interagiscono con le catene di propionato del gruppo eme (cariche negativamente).



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

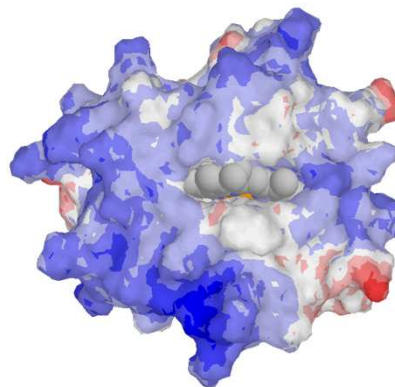
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

75

75

Trasportatori di elettroni: Citocromo c

- I residui di Lys (in magenta), sono superficiali e carichi positivamente
- Circondano la tasca dove alloggia il gruppo eme.
- Interagiscono con le catene di propionato del gruppo eme (cariche negativamente).



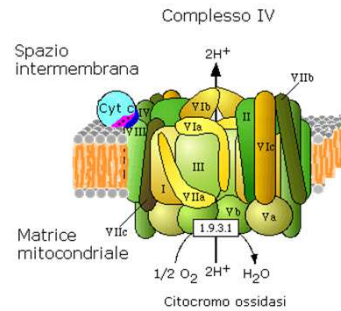
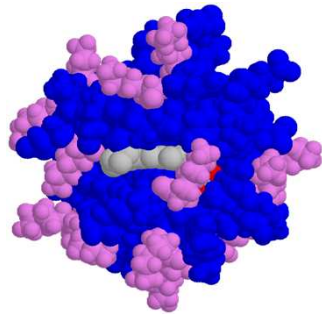
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

76

76

Trasportatori di elettroni: Citocromo c



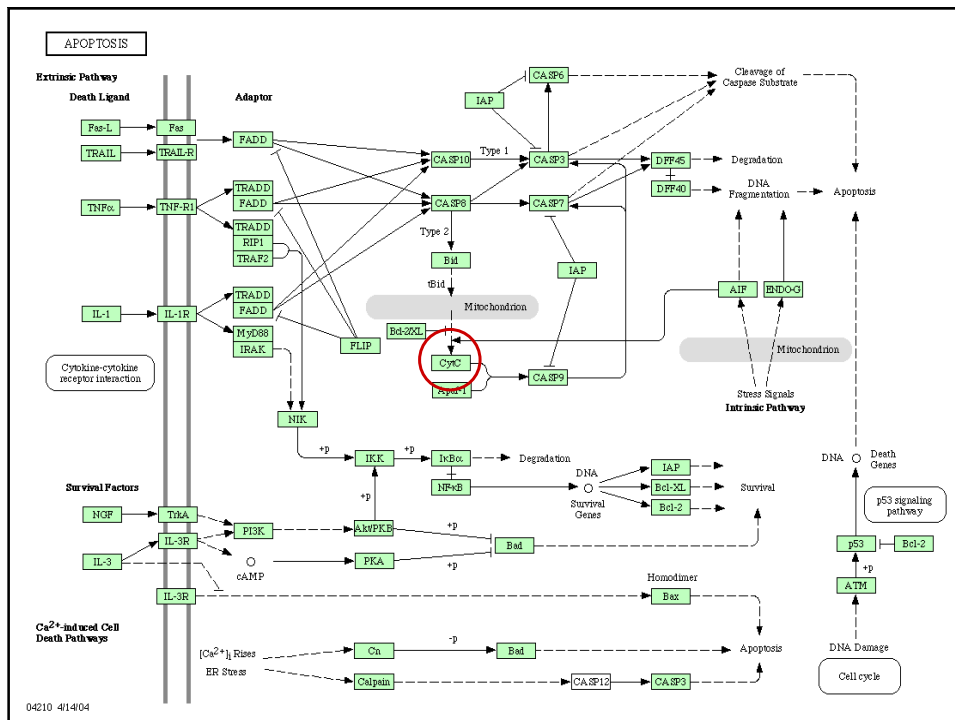
- I residui di Lys interagiscono con la superficie carica negativamente del complesso III che lega il Cyt c e dal quale riceve un elettrone.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

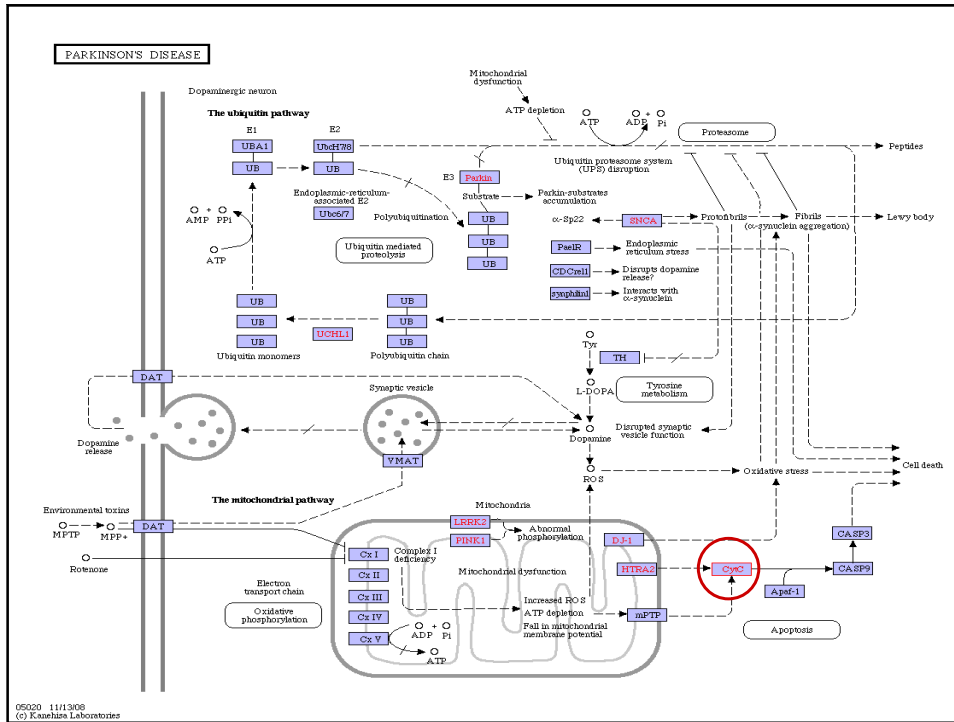
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

77

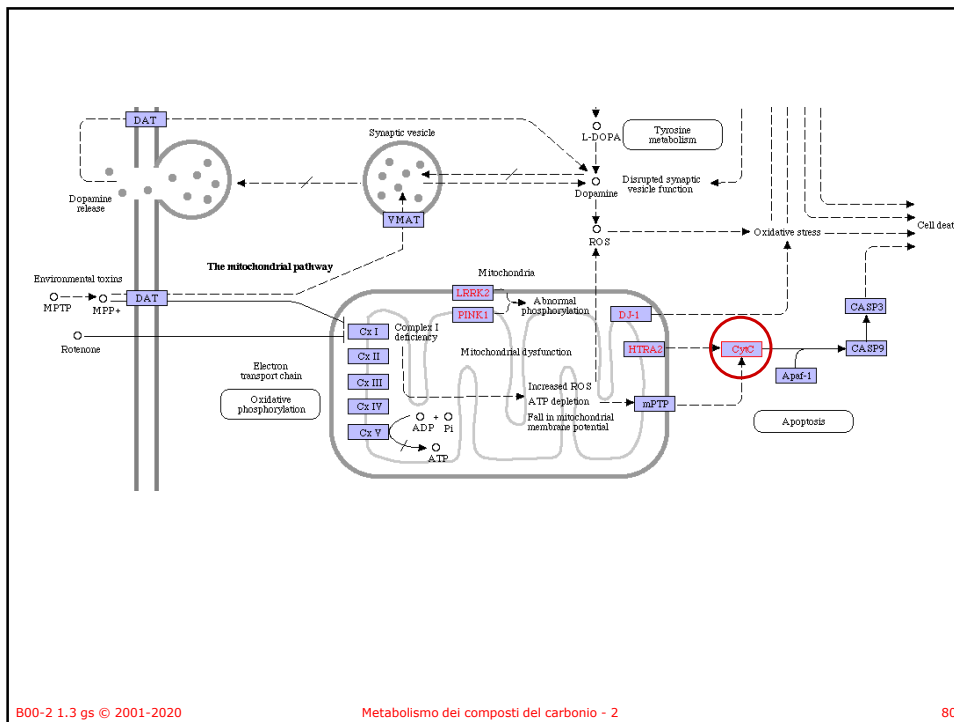
77



78



79



80

I complessi

Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt b _{560r} , 3 Fe-S
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b _{Hr} , cyt b _{Lr} , cyt c1, Fe-S _{Rieske}
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt a_{3r}, Cu_{Ar}, Cu_B

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

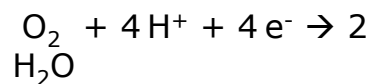
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

81

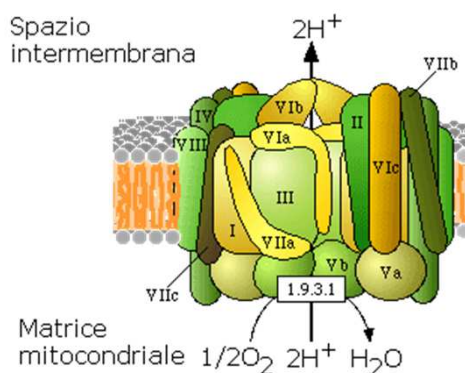
81

Complesso IV

- La Citocromo ossidasi (Complesso IV) catalizza la reazione irreversibile:



- Quattro elettroni sono trasferiti, uno alla volta, al complesso IV dal Cyt c.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

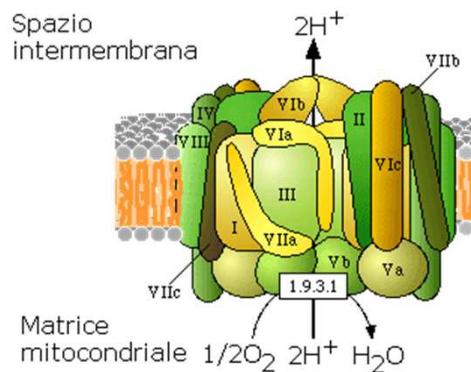
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

82

82

Complesso IV

- È costituita da otto subunità, le più grandi I, II e III sono codificate dal DNA mitocondriale, le altre cinque dal DNA nucleare.
- Ogni complesso contiene due gruppi eme e due centri con ioni rame
- I due gruppi eme sono uguali ma differiscono leggermente in potenziale a causa della loro posizione,
- Il gruppo rame a è fatto da due ioni rame vicini.



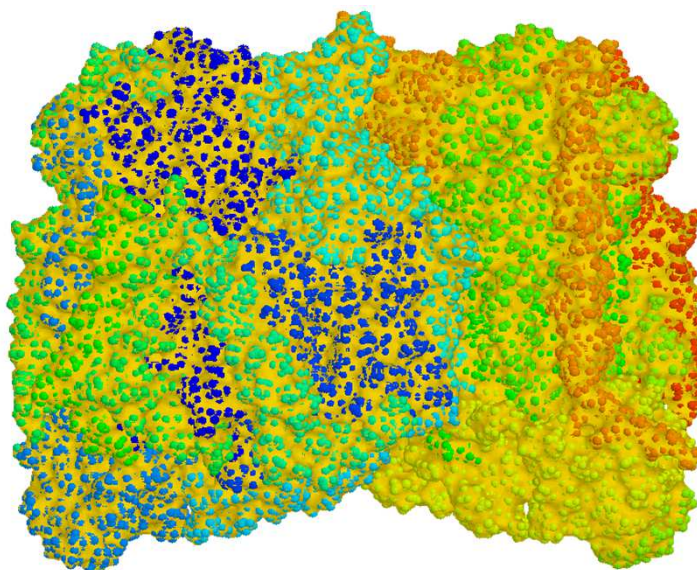
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

83

83

Complesso IV

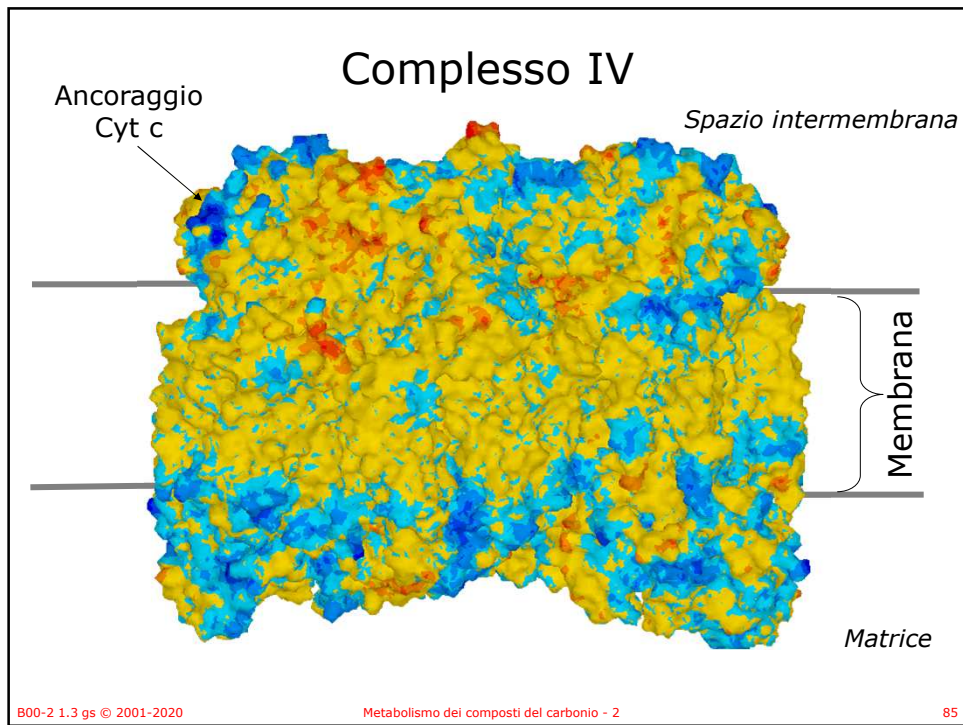


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

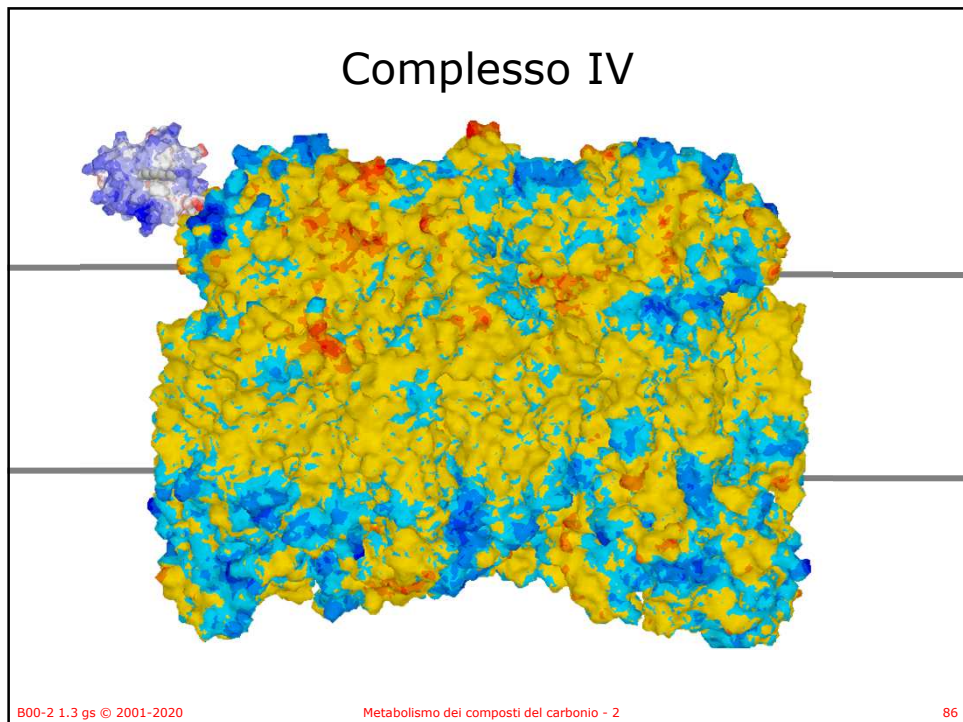
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

84

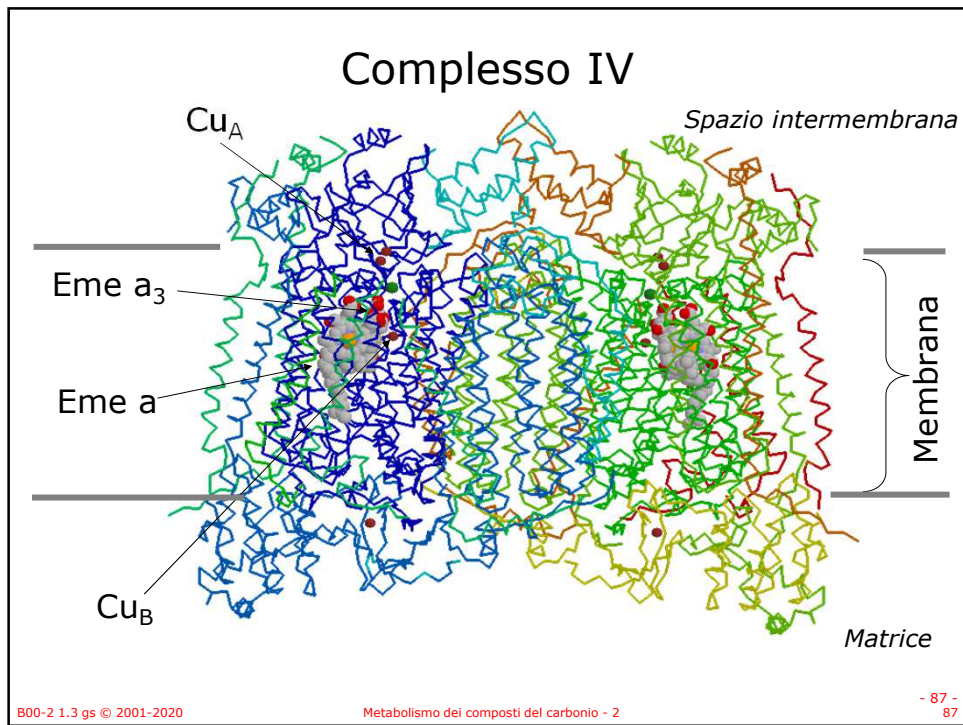
84



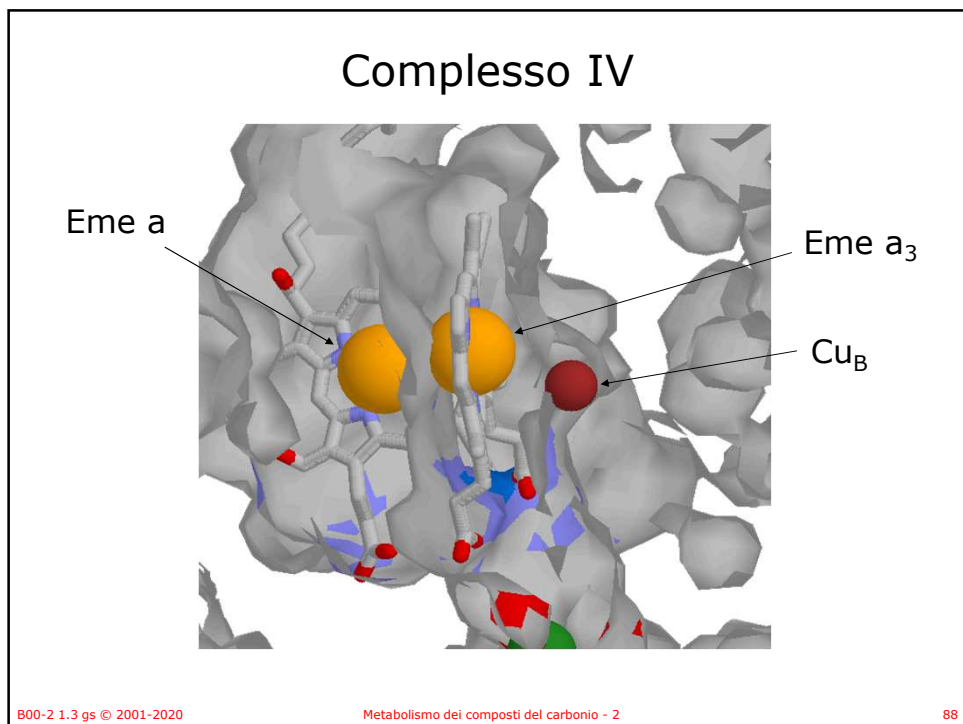
85



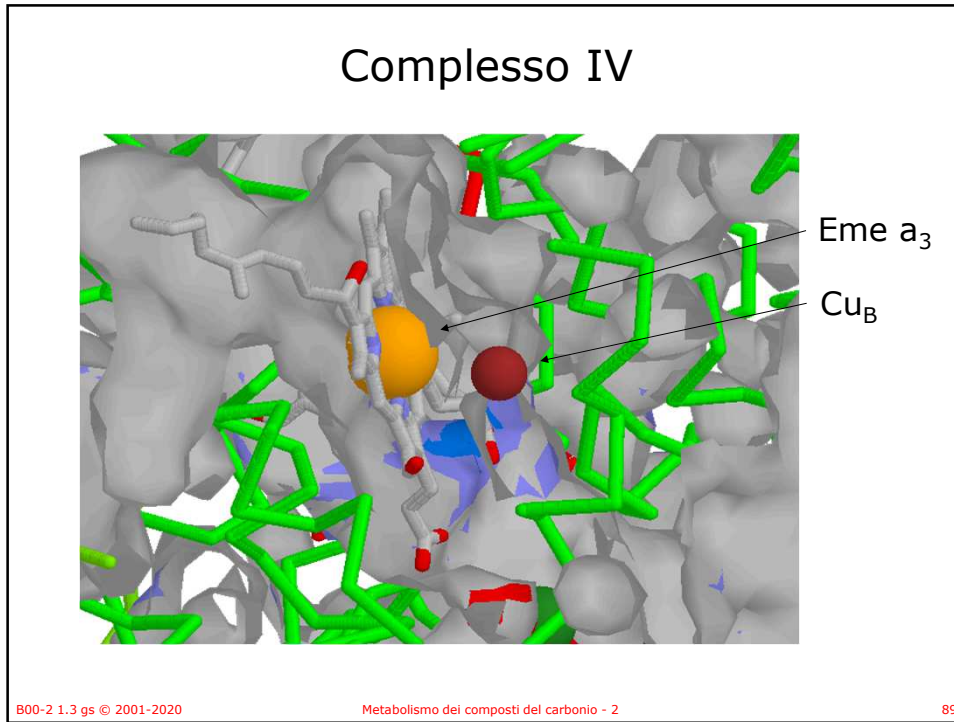
86



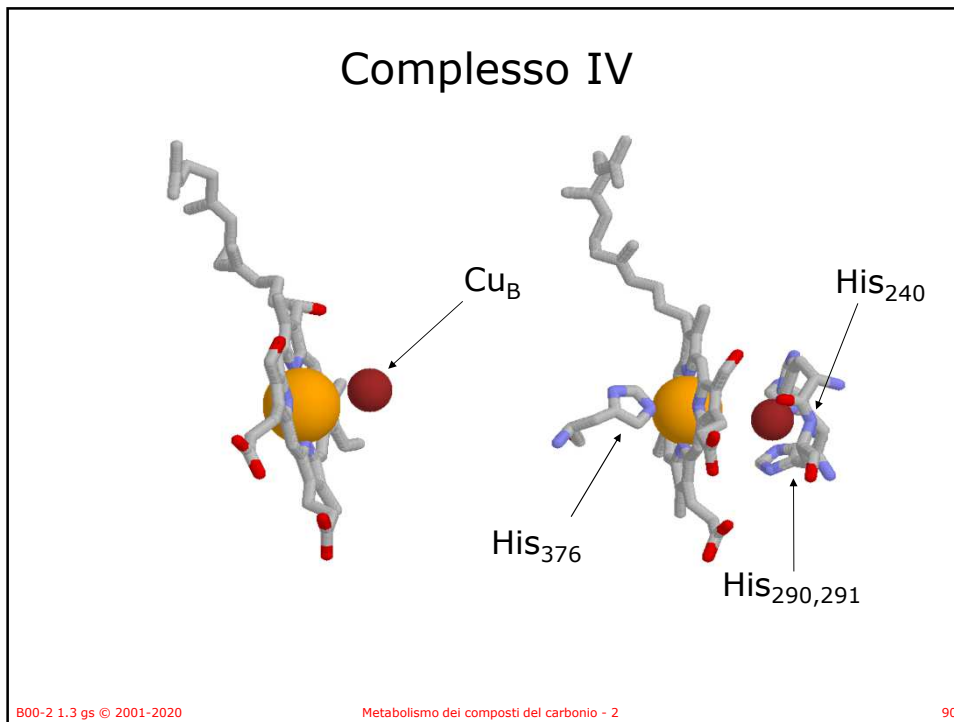
87



88



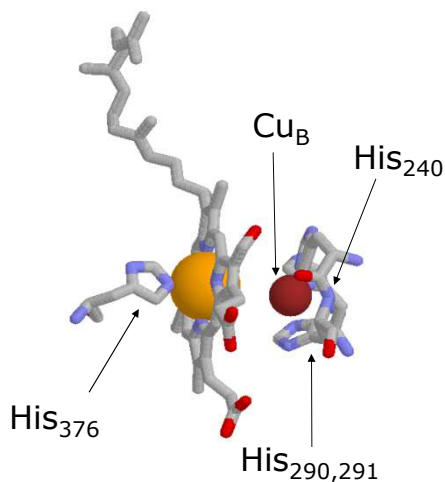
89



90

Complesso IV

- Il gruppo eme a_3 , adiacente al Cu_B , ha un solo ligando assiale.
- Lo ione Cu è coordinato con atomi di azoto di residui di His, il Cu_A è anche coordinato con atomi di zolfo di Cys e Met S e con un atomo di ossigeno del backbone di un Glu.
- Gli elettroni vengono trasferiti dal cyt c al complesso IV attraverso Cu_A e eme a.
- Passano quindi al centro binucleare eme $a_3 - Cu_B$ dove si lega O_2 .



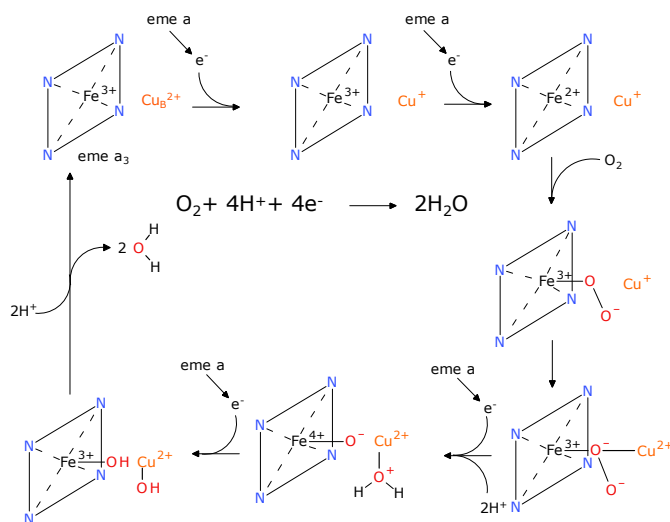
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

91

91

Formazione di H_2O

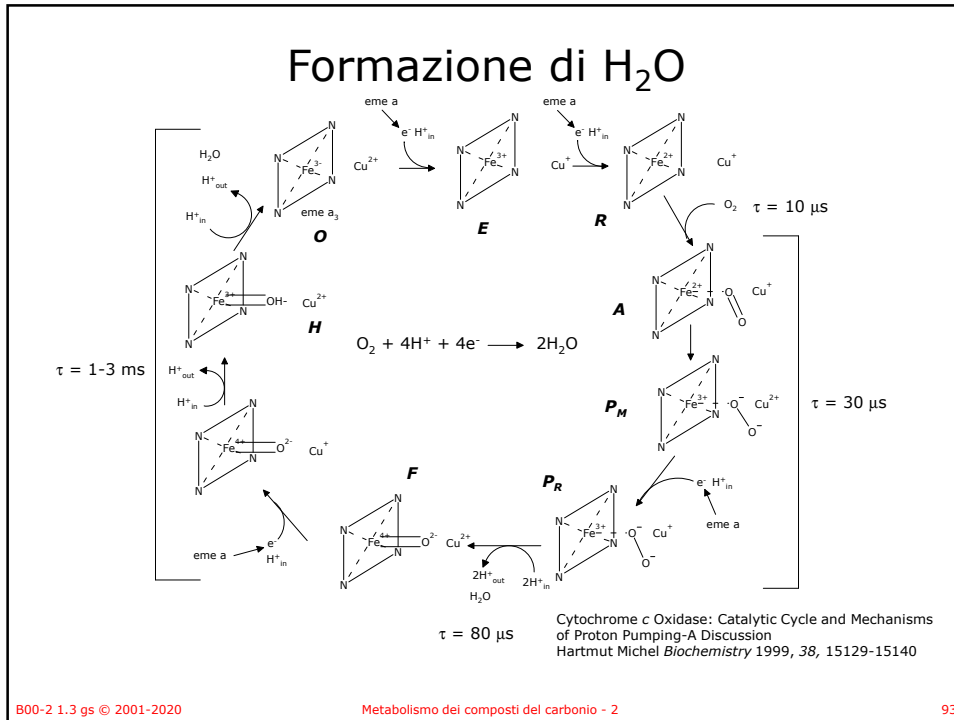


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

92

92



93

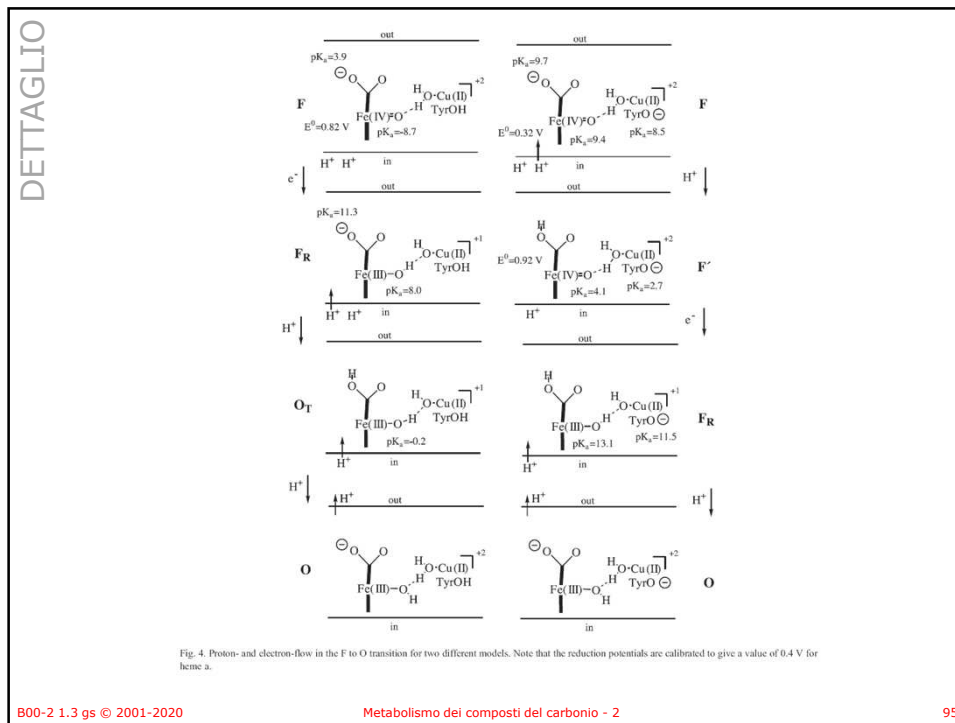
Complesso IV

- Il legame della molecola di ossigeno sfrutta anche la presenza di una coppia His Tyr, il che permette la scissione del legame O-O.
- Il sito per O₂ è anche disponibile per il legame di CN⁻, CO, H₂S, o del radicale ·NO.
- CN⁻, CO, H₂S inibiscono l'attività della citocromo ossidasi (avvelenamento).
- Si ritiene che il radicale ·NO abbia funzioni di regolazione.

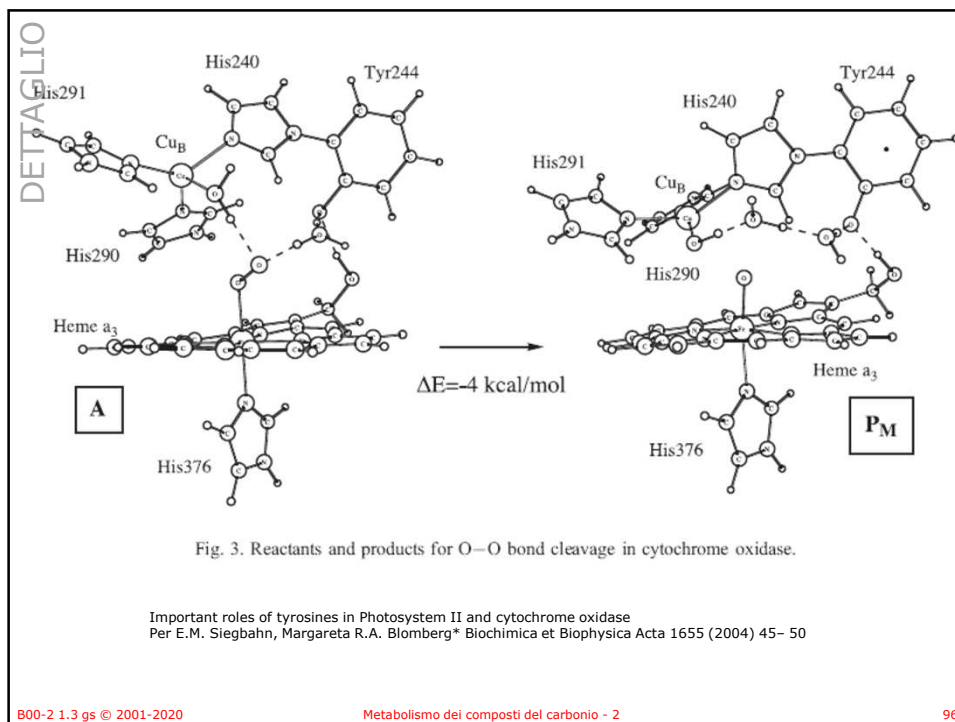
His₃₇₆ Cu_B His₂₄₀
His_{290,291}

B00-2 1.3 gs © 2001-2020
Metabolismo dei composti del carbonio - 2
94

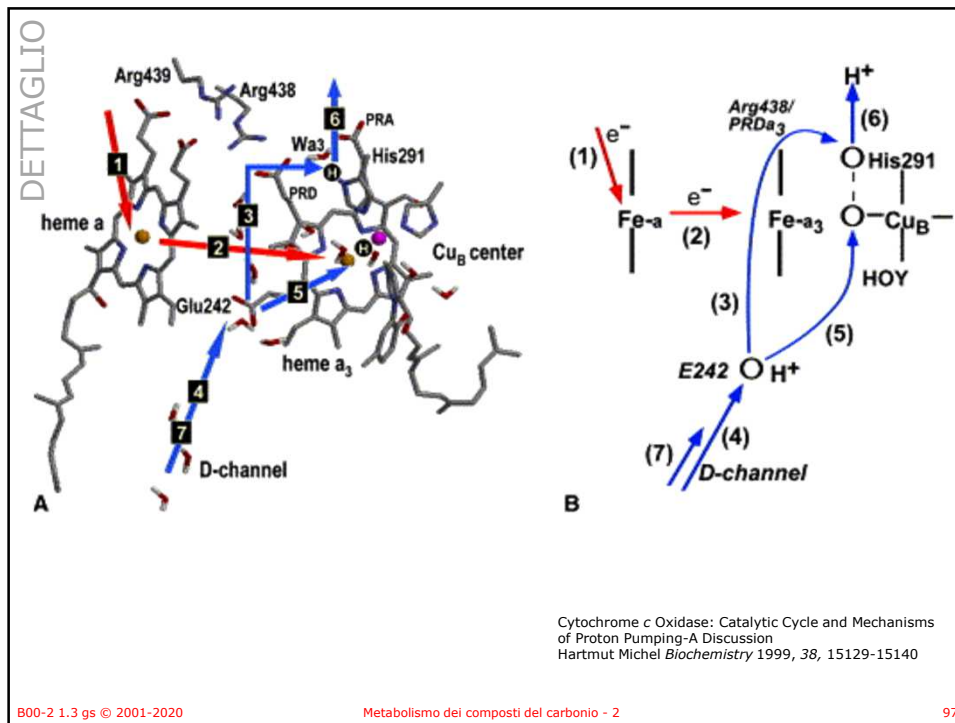
94



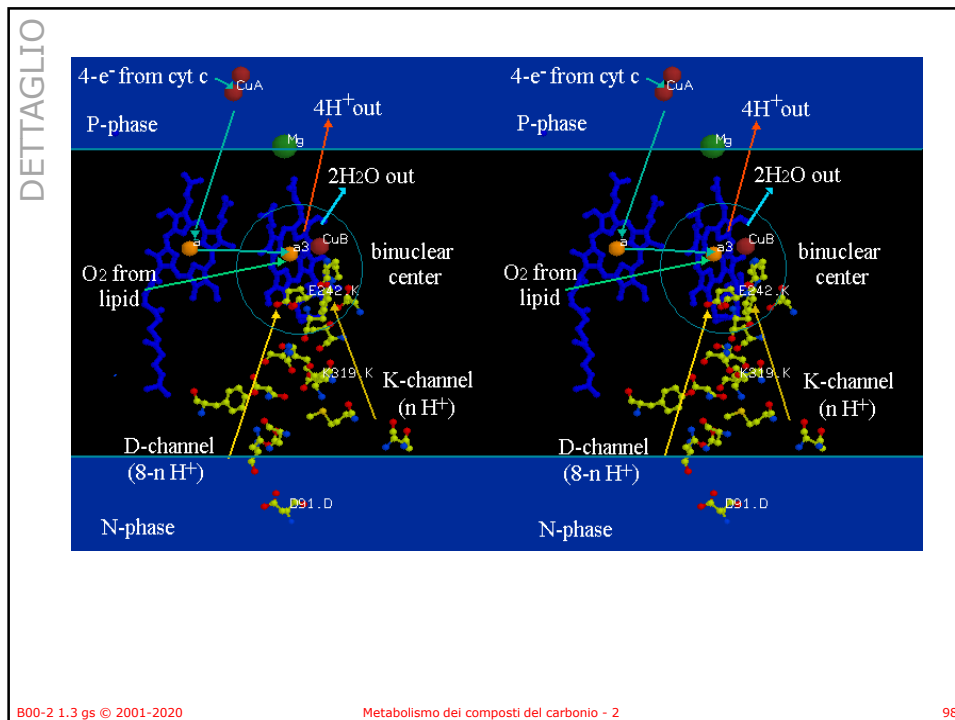
95



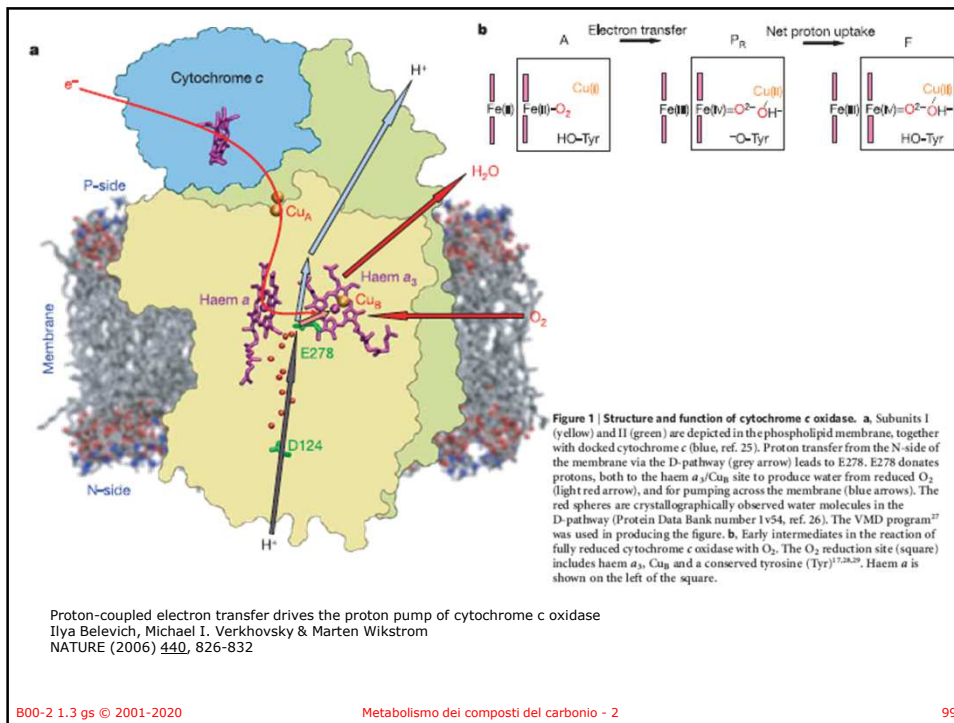
96



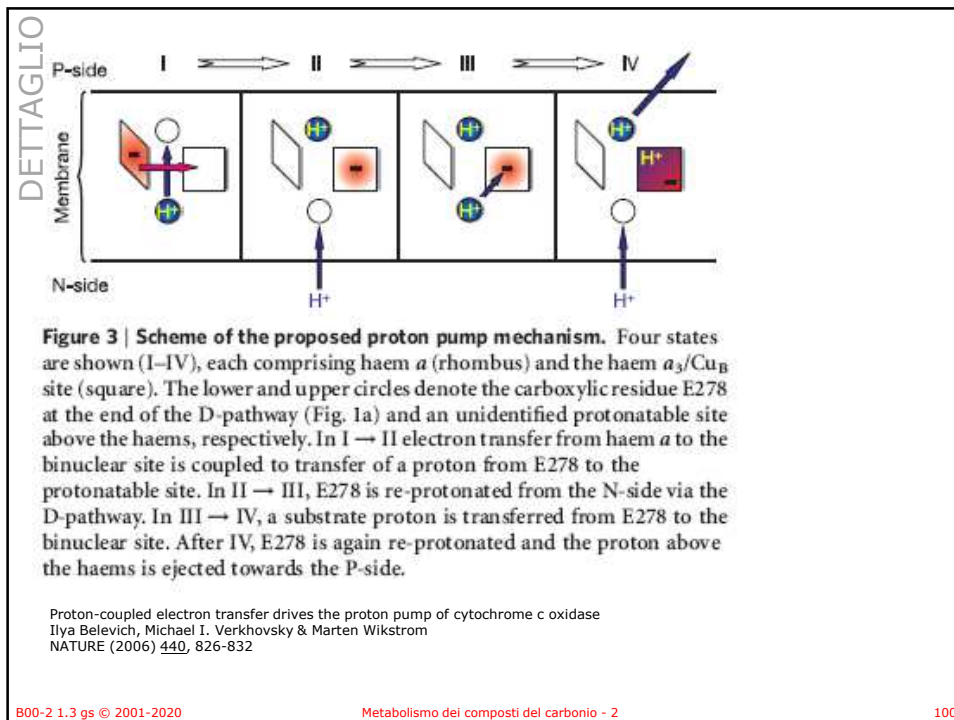
97



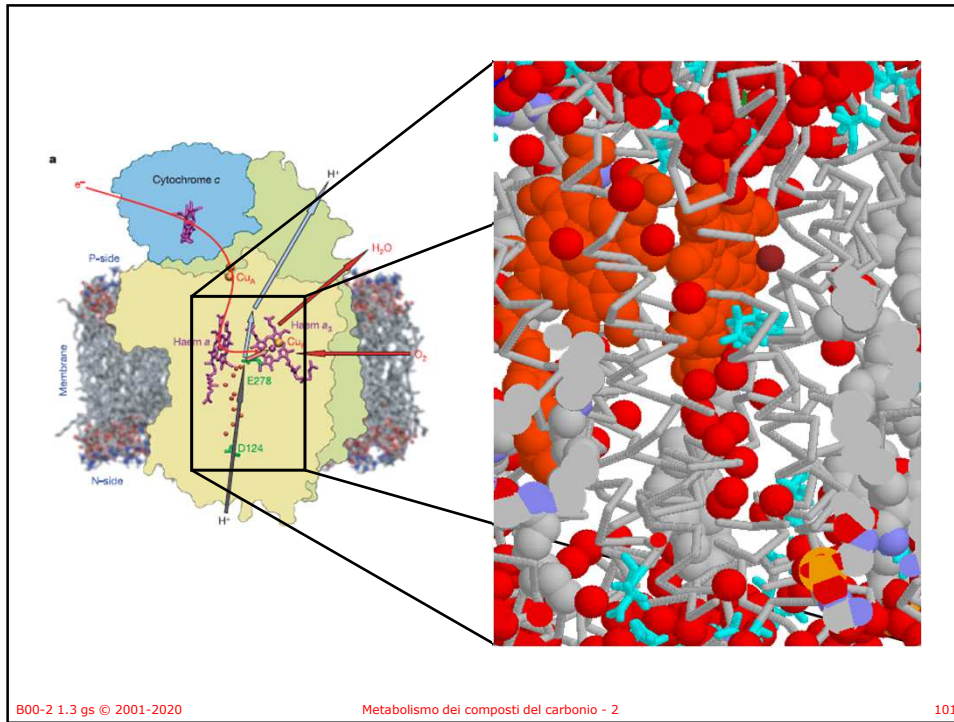
98



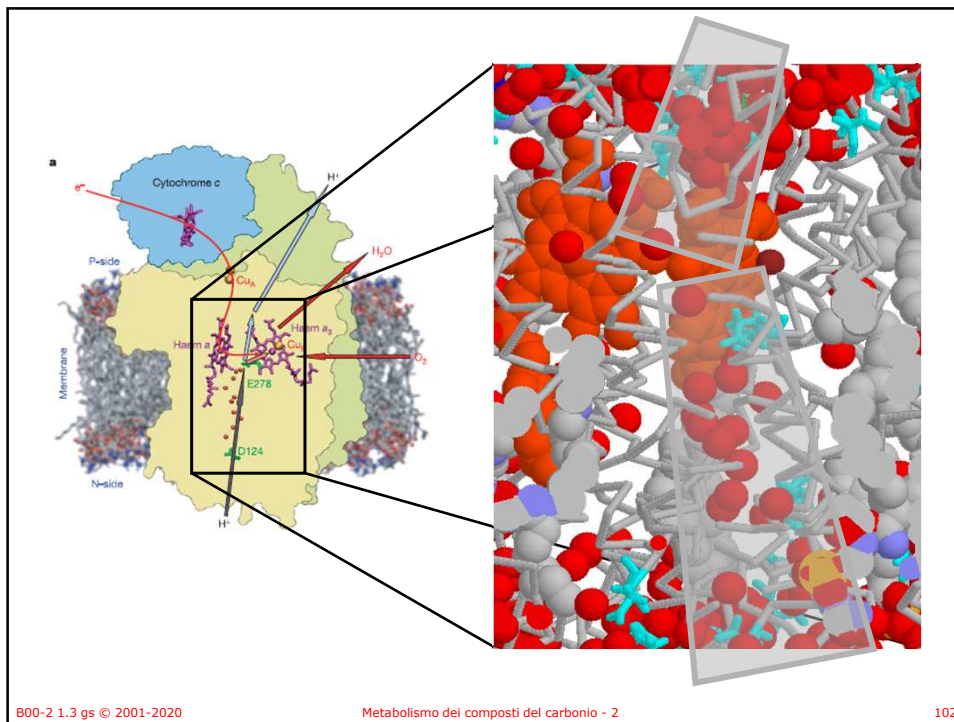
99



100

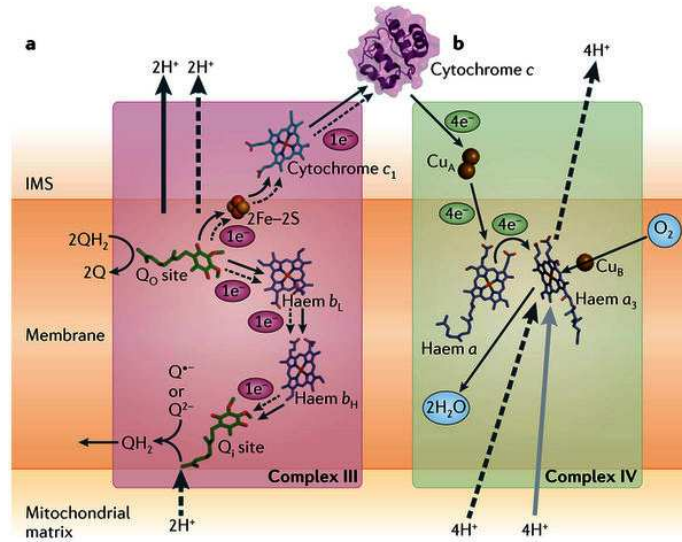


101



102

Complesso III e Complesso IV



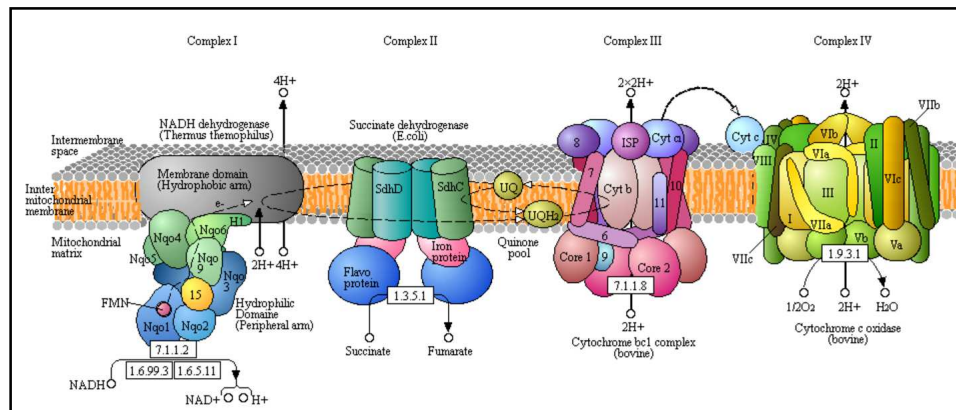
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

103

103



- Il flusso spontaneo di e^- attraverso i complessi I, III e IV è accoppiato al passaggio di H^+ dalla matrice verso lo spazio intermembrana.
- La stechiometria:
 - $4H^+$ sono passati dalla matrice mitocondriale allo spazio intermembrana per $2e^-$ che vengono trasportati dai complessi I e III.
 - Per il complesso IV il rapporto è $2H^+$ per $2e^-$.
 - In totale vengono trasferiti $20 H^+$ dalla matrice per $4e^-$ trasferiti dal $2 NADH$ a O_2 ($10 H^+$ per $\frac{1}{2}O_2$).

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

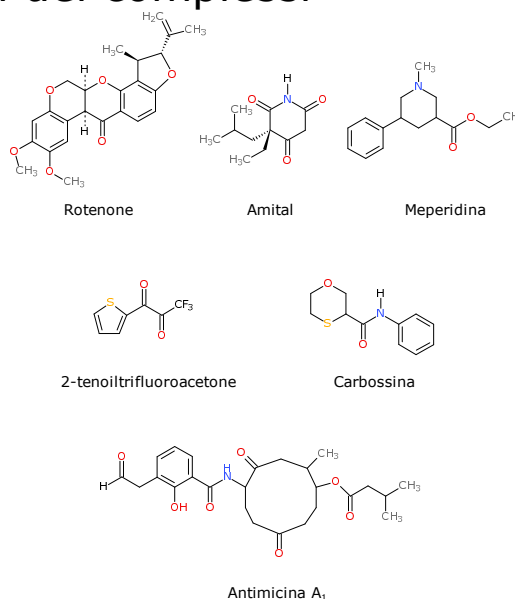
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

104

104

Inibitori dei complessi

- Inibitori del complesso I: Rotenone, Amital, Meperidina
- Inibitori del complesso II: 2-tenoiltrifluoroacetone, carbossina.
- Inibitori del complesso III: Antimicina A.
- Inibitori del complesso IV: Ligandi al gruppo eme a_3 : CN^- , CO , H_2S , NaN_3 .



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

105

105

Ipotesi chemiosmotica

"for his contribution to the understanding of biological energy transfer through the formulation of the chemiosmotic theory"



Peter D. Mitchell

- **The Nobel Prize in Chemistry 1978**
- La teoria chemiosmotica della fosforilazione ossidativa (premio Nobel a Peter Mitchell), definisce che l'accoppiamento della sintesi di ATP alla respirazione è dipendente dal gradiente elettrochimico di H^+ .

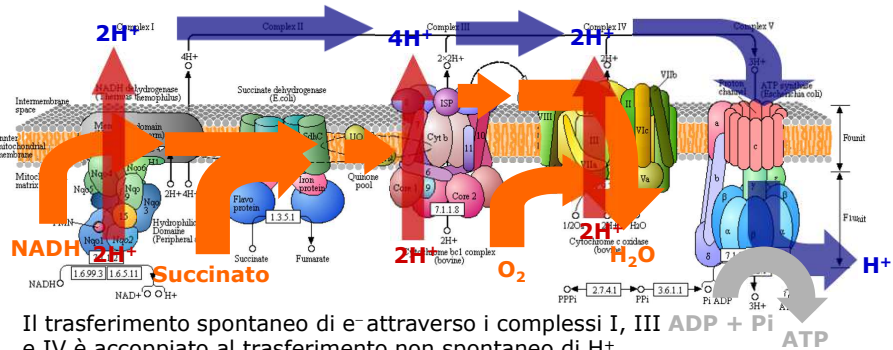
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

106

106

Respirazione cellulare e ipotesi chemiosmotica



- Il trasferimento spontaneo di e^- attraverso i complessi I, III e IV è accoppiato al trasferimento non spontaneo di H^+ dalla matrice allo spazio intermembrana.
- Il trasporto di H^+ genera un potenziale di membrana ($\Delta\Psi$, negativo nella matrice) e un gradiente di pH (ΔpH , la matrice diventa alcalina).
- Gli H^+ ritornano nella matrice attraverso la ATP-sintasi (F_o) che sfrutta questo potenziale per generare ATP nella subunità F_1 .

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

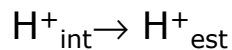
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

107

107

Ipotesi chemiosmotica

- Viene generato un gradiente protonico:



- Che crea una polarizzazione della membrana:

$$\Delta G = RT \ln \left(\frac{[H^+]_{citosol}}{[H^+]_{matrice}} \right) + F\Delta\Psi$$

$$\Delta\Psi = 0.18 \text{ V}$$

$$\Delta pH = 1$$

$$\Delta G = 2.3 RT + F 0.18 = 23.3 \text{ kJ}$$

- Quindi per trasportare un H^+ verso l'interno:

$$\Delta G = -23.3 \text{ kJ}$$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

108

108

Controllo respiratorio

- La velocità di respirazione, dipendente dalla disponibilità di ADP per la ATP sintasi, è chiamata **controllo respiratorio**.
- Il grafico rappresenta il consumo di O₂ registrato usando un elettrodo ad ossigeno in una sospensione di mitocondri in presenza di P_i e di un donatore di e⁻ (succinato o un altro generatore di NADH).
- Il controllo respiratorio è il rapporto tra le pendenze della curva dopo e prima dell'aggiunta di ADP (b/a).
- Il rapporto P/O è dato dalle moli di ADP diviso per le moli di O₂ consumate (c) nella fosforilazione di ADP.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 109

109

Controllo respiratorio

- Il trasporto di elettroni è accoppiato alla estrusione di H⁺ dalla matrice.
- Il fatto che questa reazione accoppiata sia spontanea dipende dai gradienti elettrico ($\Delta\Psi$) di pH.

Reazione	ΔG
Trasferimento e ⁻	Negativo $\Delta G^{\circ} = -nF\Delta E^{\circ} = -218 \text{ kJ/mol per } 2 \text{ e}^- \text{ NADH} \rightarrow \text{O}_2$
Estrusione H ⁺ dalla matrice	Positivo (dipende dal gradiente protonico) Per estrarre un H ⁺ dalla matrice $\Delta G = RT \ln ([\text{H}^+]_{\text{citosol}} / [\text{H}^+]_{\text{matrice}}) + F\Delta\Psi$ $\Delta G = 2.3 RT (\text{pH}_{\text{matrice}} - \text{pH}_{\text{citosol}}) + F\Delta\Psi$
Reazione accoppiata	Somma algebrica

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 110

110

Controllo respiratorio

- In assenza di ADP, i H^+ non possono fluire attraverso F_o . ΔpH e $\Delta \Psi$ sono massimi. Il valore assoluto del ΔG per l'estrusione H^+ aumenta avvicinandosi a quello del trasporto di e^- .
- Quando la reazione accoppiata non è più spontanea ($\Delta G > 0$) la respirazione si ferma.
- Quindi in assenza di ADP la velocità di respirazione è fermata (o bassa a causa del leak di H^+).
- Quando si aggiunge ADP riprende la sintesi di ATP, gli H^+ entrano nella matrice via F_o . Si riducono ΔpH e $\Delta \Psi$.
- Il ΔG dell'estrusione di H^+ diminuisce.
- La reazione accoppiata ridiventa spontanea ($\Delta G < 0$).
- La respirazione riprende (è stimolata).

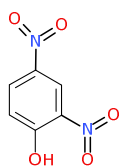
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

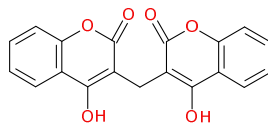
111

111

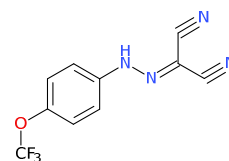
Disaccoppianti



Dinitrofenolo



Dicumarolo



Carbonil cianuro-*p*-trifluoro
metossifenilidrazone
(FCCP)

- I disaccoppianti bloccano la fosforilazione ossidativa dissipando il gradiente protonico convertendolo in calore
- Sono in genere degli acidi deboli solubili nella fase lipidica.
- I protoni pompati fuori rientrano nella matrice, non si genera il gradiente ΔpH o $\Delta \Psi$.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

112

112

Disaccoppianti

- Il presenza di disaccoppianti non si forma ΔpH o $\Delta \Psi$.
 - Il ΔG per l'estrusione di H^+ è zero
 - Il ΔG per il trasporto di e^- accoppiato all'estrusione di H^+ è massima.
- La respirazione procede in presenza di disaccoppianti sia che l'ADP sia presente o no.
 - Il ΔG per il flusso H^+ è zero in assenza di gradiente protonico.
 - L'idrolisi di ATP è spontanea.
- In presenza di disaccoppianti l'ATP sintasi funziona al contrario.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 113

113

Proteine disaccoppianti

- Il disaccoppiamento può essere usato per produrre calore.
- Nel tessuto adiposo bruno (bruno perché ricco di mitocondri) di neonati dei mammiferi e nei mammiferi che vanno in letargo, è presente una proteina disaccoppiante, la termogenina.
- La termogenina funziona come un trasportatore di H^+ nella membrana interna mitocondriale.
- La proteina blocca lo sviluppo del gradiente protonico contemporaneamente stimola la respirazione dissipando il ΔG come calore.
- Questo tipo di riscaldamento costa in termini di energia respiratoria (non convertita in ATP) ma aiuta l'organismo a rispondere al raffreddamento.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 114

114

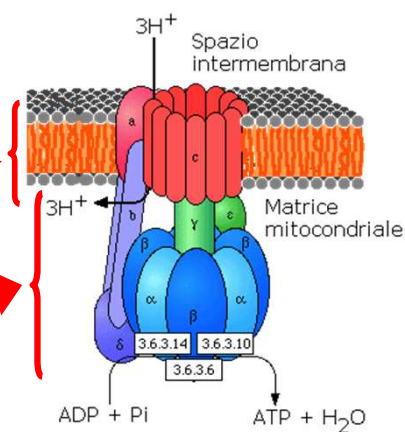
F₁F₀ ATP Sintasi

Meccanismo della sintesi di ATP

115

Complesso V – ATP sintasi

- La ATP sintasi, presente nella membrana interna mitocondriale.
- È composta di sue principali unità catalitiche:
 - F₀: proteina di membrana che gestisce il trasporto di protoni.
 - F₁: costituita da cinque polipeptidi con stechiometria $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

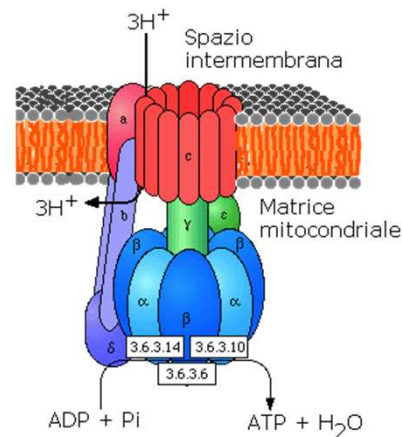
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

116

116

Complesso V – ATP sintasi

- Le due unità F_1F_0 accoppiano la sintesi di ATP con il trasporto di H^+ dallo spazio intermembrana alla matrice.
- Per convertire una mole di ADP in ATP è richiesto il trasporto di tre moli di H^+ .
- Il numero di tre moli di H^+ viene dedotto da:
 - Il ΔG per la sintesi di ATP in condizioni cellulari.
 - Il ΔG per trasferire ogni H^+ nella matrice dato il gradiente elettrochimico (energia disponibile per H^+).



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

117

117

Controllo respiratorio

- In assenza di ADP, i H^+ non possono fluire attraverso F_0 . ΔpH e $\Delta \Psi$ sono massimi. Il valore assoluto del ΔG per l'estruzione H^+ aumenta avvicinandosi a quello del trasporto di e^- .
- Quando la reazione accoppiata non è più spontanea ($\Delta G > 0$) la respirazione si ferma.
- Quindi in assenza di ADP la velocità di respirazione è fermata (o bassa a causa del leak di H^+).
- Quando si aggiunge ADP riprende la sintesi di ATP, gli H^+ entrano nella matrice via F_0 . Si riducono ΔpH e $\Delta \Psi$.
- Il ΔG dell'estruzione di H^+ diminuisce.
- La reazione accoppiata ridiventa spontanea ($\Delta G < 0$).
- La respirazione riprende (è stimolata).

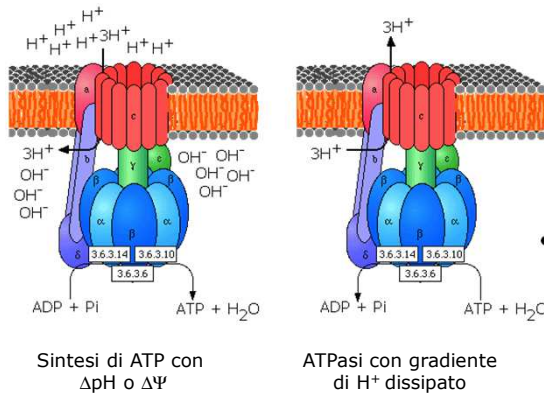
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

118

118

F₁F₀ ATP Sintasi di mitocondri, cloroplasti, batteri



- Quando il ΔpH o il $\Delta \Psi$ sono favorevoli, F₁F₀ accoppia la sintesi di ATP al flusso spontaneo di H⁺ verso la parte della membrana dove si protrude F₁ (matrice mitocondriale).
- Se non c'è ΔpH o $\Delta \Psi$ per pilotare la reazione accoppiata viene favorita l'idrolisi dell'ATP (ATPasi).

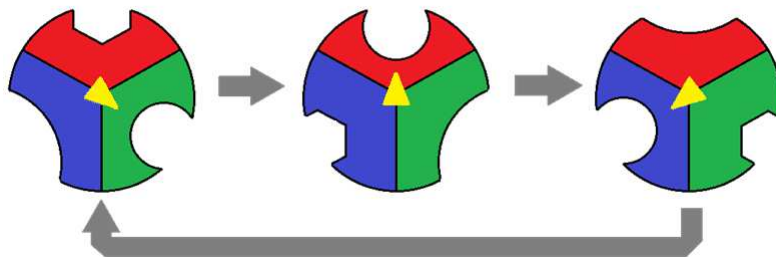
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

119

119

Meccanismo di sintesi



- Il meccanismo di legame e di sintesi accoppiata è stata proposta da Boyer e Walker (Nobel).
- Per semplicità sono riportate solo le subunità catalitiche β .
 - È stato proposto che una struttura proteica di forma irregolare (γ) sia legata a F₀ e ruoti relativamente alle tre subunità catalitiche β .
 - La rotazione di γ è pilotata dal flusso protonico attraverso F₀.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

120


120

Meccanismo di sintesi


The Nobel Prize in Chemistry 1997

"for their elucidation of the enzymatic mechanism underlying the synthesis of adenosine triphosphate (ATP)"


"for the first discovery of an ion-transporting enzyme, Na⁺, K⁺-ATPase"



Paul D. Boyer



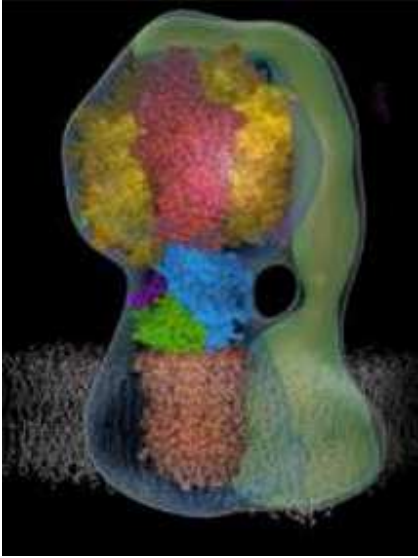
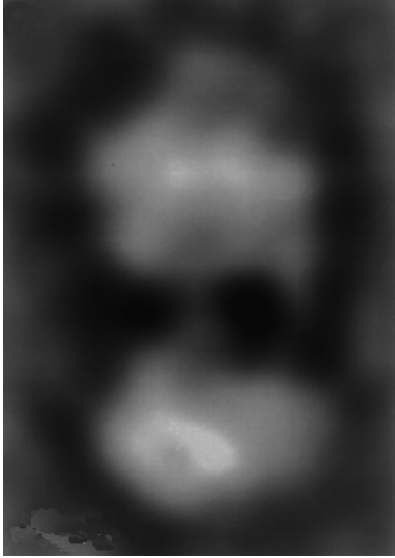
John E. Walker



Jens C. Skou

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 121

121



B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 122

122

Meccanismo di sintesi

- La conformazione di ogni subunità catalitica β cambia sequenzialmente a seguito dell'interazione con la subunità γ che ruota (al centro).
- Ogni subunità catalitica β ha una conformazione diversa per ogni passo del ciclo catalitico
- Per esempio la subunità verde è sequenzialmente:
 - In conformazione L (loose) nella quale il sito attivo lega debolmente ADP + Pi
 - In conformazione T (tight) nella quale il substrato è legato fortemente e si forma ATP.
 - In conformazione O (open) nella quale viene rilasciato l'ATP.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 123

123

Struttura di F_1

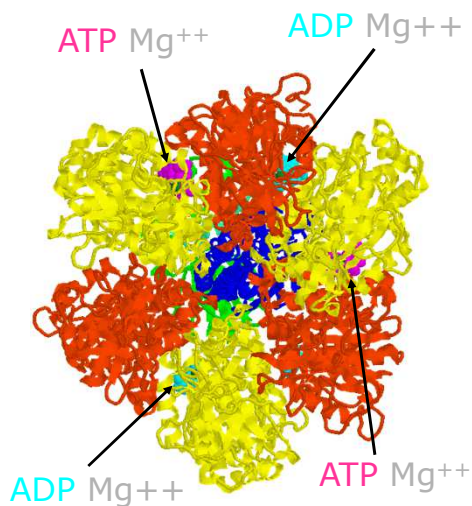
- Nei mammiferi F_1 consiste di cinque polipeptidi con stechiometria $\alpha_3, \beta_3, \gamma, \delta, \epsilon$ (in ordine decrescente di peso molecolare).
- Le subunità α e β sono omologhe.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 124

124

Struttura di F₁

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzati alle interfacce $\alpha\beta$ con predominanza nella subunità β .
- Ognuna delle tre subunità α contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità α e β complessati con Mg^{++} .



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

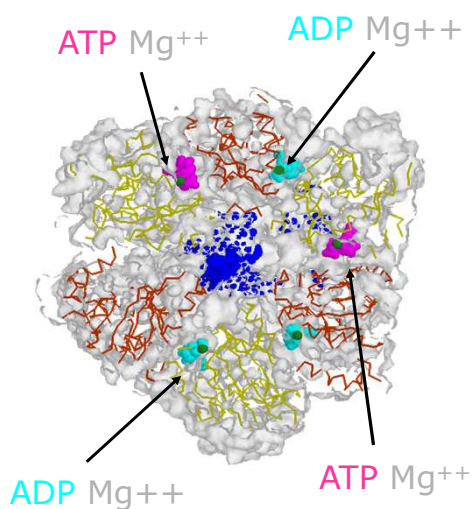
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

125

125

Struttura di F₁

- Ci sono tre siti catalitici.
- Sono localizzate alle interfacce $\alpha\beta$ con predominanza nella subunità β .
- Ognuna delle tre subunità α contiene un ATP legato alla proteina ed inattivo nella catalisi.
- I nucleotidi adenilici si legano alle subunità α e β complessati con Mg^{++} .



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

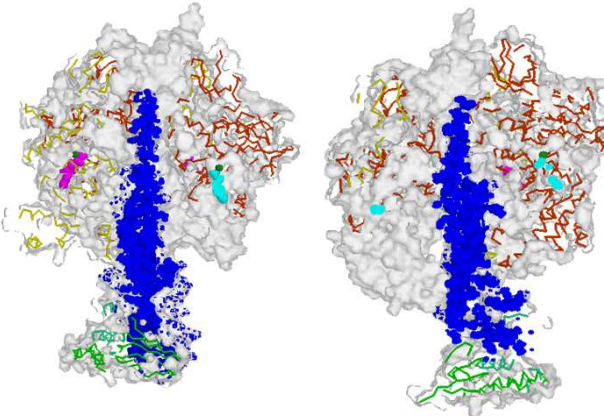
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

126

126

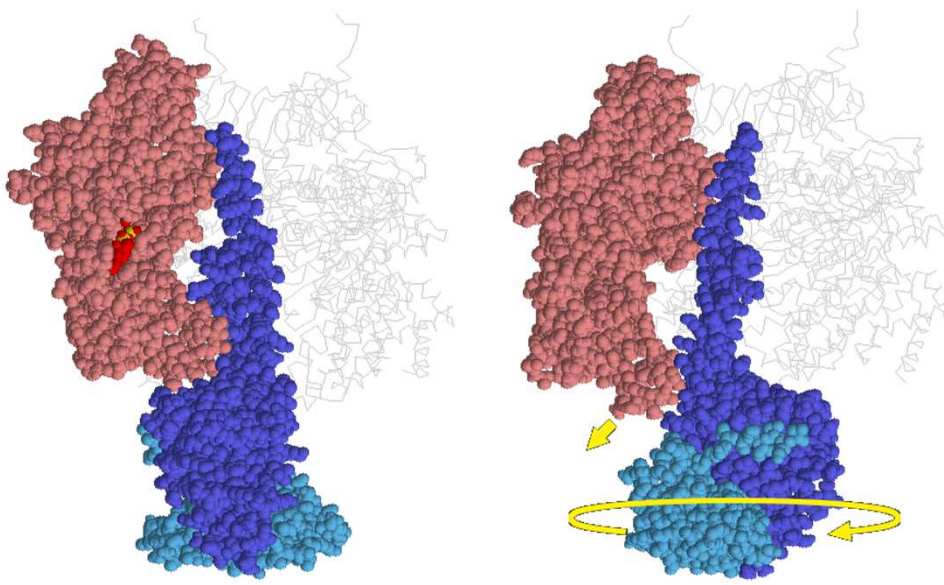
Struttura di F₁

- La subunità γ include un ripiegamento dell'elica che costituisce una "camma" incastrata tra le subunità α e β .



B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 127

127

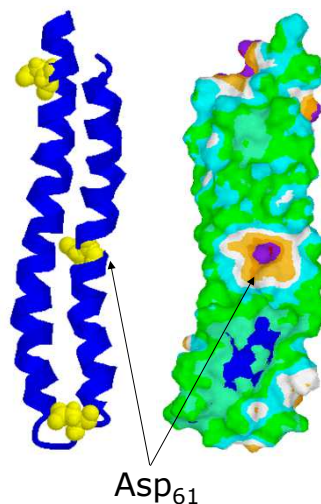


B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 128

128

Subunità F_o

- La subunità c di F_o ha una struttura ripiegata (hairpin) con due α -eliche transmembrana connesse da un corto loop.
- È un peptide molto idrofobico.
- Una delle due α -eliche ha un residuo acido (Asp o Glu) che è il sito di reazione del DCCD.
- Tale residuo è essenziale per il trasporto dei H⁺ attraverso F_o.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

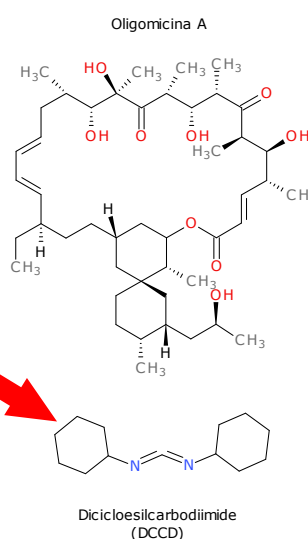
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

129

129

Inibitori di F_o

- Bloccano il trasporto di H⁺ accoppiato alla sintesi o all'idrolisi di ATP.
 - Oligomicina A, un antibiotico.
 - Diciolesilcarbodiimide (DCCD) è un reagente dei gruppi carbonilici in ambiente idrofobico per formare un addotto covalente.
- Entrambi bloccano il flusso di H⁺ nella membrana inibendo la sintesi di ATP attraverso l'interazione con F_o.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

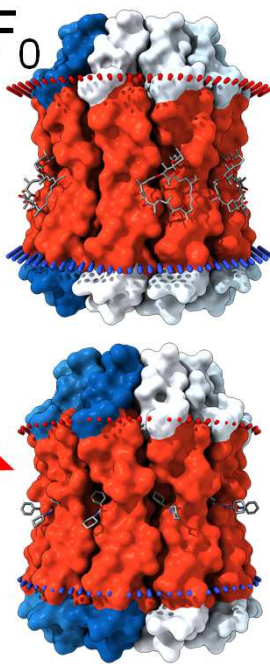
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

130

130

Inibitori di F_0

- Bloccano il trasporto di H^+ accoppiato alla sintesi o all'idrolisi di ATP.
 - Oligomicina A, un antibiotico.
 - Dicicloesilcarbodiimide (DCCD) è un reagente dei gruppi carbonilici in ambiente idrofobico per formare un addotto covalente.
- Entrambi bloccano il flusso di H^+ nella membrana inibendo la sintesi di ATP attraverso l'interazione con F_0 .

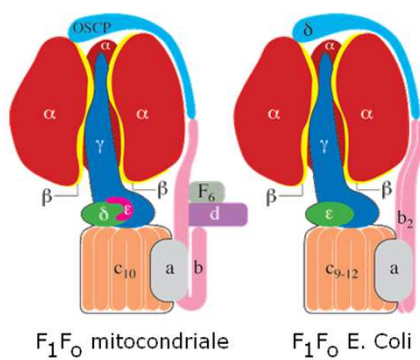


B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 131

131

Struttura F_0F_1

- F_0 è un complesso di proteine integrali di membrana.
 - La stechiometria in *E. Coli* è a, b_2, c_{10} .
- Nei mammiferi F_1F_0 è un poco più complessa che nei batteri.
- Nei diversi organismi le subunità hanno nomi diversi.
 - La subunità δ nei mammiferi è omologa alla subunità ϵ in *E. Coli*.
 - La subunità "OSCP" nei mammiferi è omologa alla subunità δ in *E. Coli*.
 - La subunità ϵ nei mammiferi è unica.

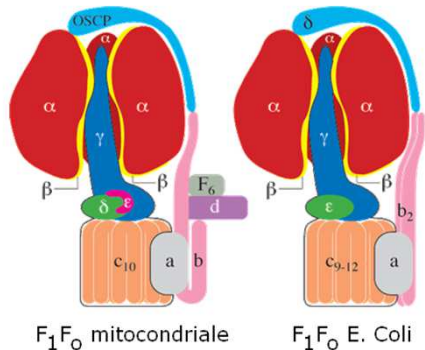


B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 132

132

Struttura F_0F_1

- Si ritiene che le subunità b di F_0 includano una α -elica transmembrana e un dominio α -elica molto polare che si estenda al di fuori della membrana.
- Lo "statore" del motore molecolare consiste quindi in un anello di tre subunità $\alpha\beta$ di F_1 , la subunità a di F_0 e le varie subunità che le legano insieme (b , d , F_6 e $OSCP$ nel F_1F_0 mitocondriale o due b e δ in $E. coli$).
- Il "rotore" consisterebbe in un anello di dieci subunità c , la "camma" nella parte interna di F_1 (γ , δ , ϵ nei mitocondri; γ e ϵ in $E. coli$).



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

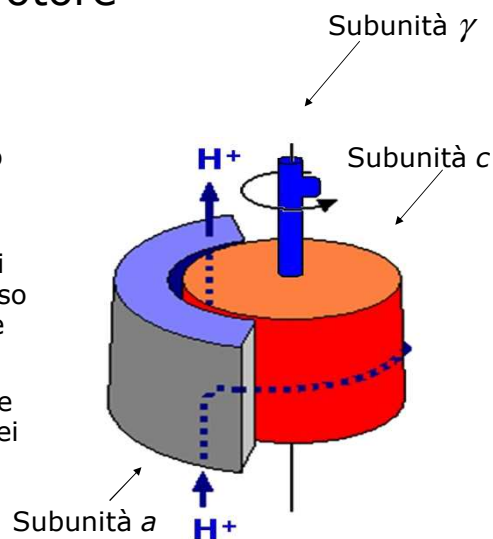
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

133

133

Il rotore

- È stato proposto che la subunità a di F_0 formi due mezzi canali per il trasporto dei protoni.
- Il trasporto avverrebbe attraverso la ionizzazione di gruppi ionizzabili o attraverso molecole d'acqua contenute nei canali.
- La variazione di ionizzazione (Asp61 in c) al passaggio dei protoni indurrebbe il movimento rotatorio del rotore trasmesso poi, attraverso γ a F_1 .



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

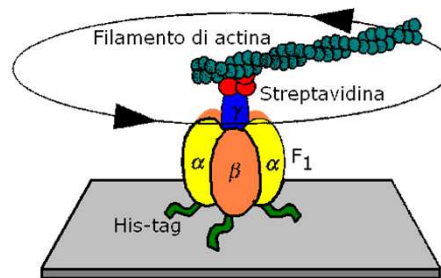
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

134

134

Motori molecolari

- Che la rotazione di una parte della proteina avvenga in seguito all'idrolisi di ATP è stato dimostrato sperimentalmente:
 - Le subunità β di F_1 sono state "saldate" ad una superficie.
 - Un filamento di actina opportunamente marcato con colorante fluorescente è stato legato alla porzione di γ che protrude dalla F_1 .
 - Fornendo ATP nella soluzione si ha la rotazione (visibile) del braccio di actina in senso antiorario.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

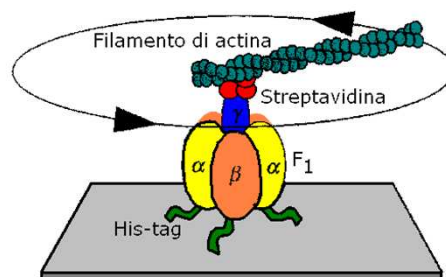
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

135

135

Motori molecolari

- Alcune osservazioni indicano che la rotazione indotta da ATP avviene in passi discreti di 120° con pause tra un passo e l'altro.
- Sembra inoltre che ogni passo di 120° avvenga con sosta in sottopassi di 90° e 30° intervallati da pause più brevi.
- È stato proposto che questi sottopassi siano connessi a passaggi del ciclo catalitico come il legame di ATP e il rilascio di ADP e P_i .
- <http://www.res.titech.ac.jp/~seibutu/main.html>

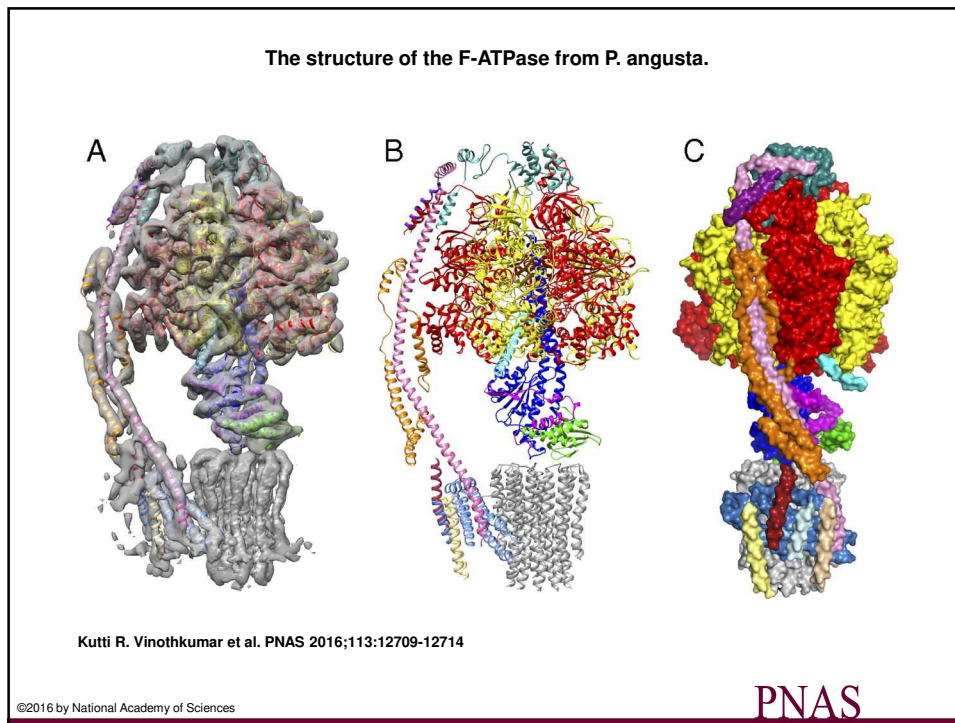


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

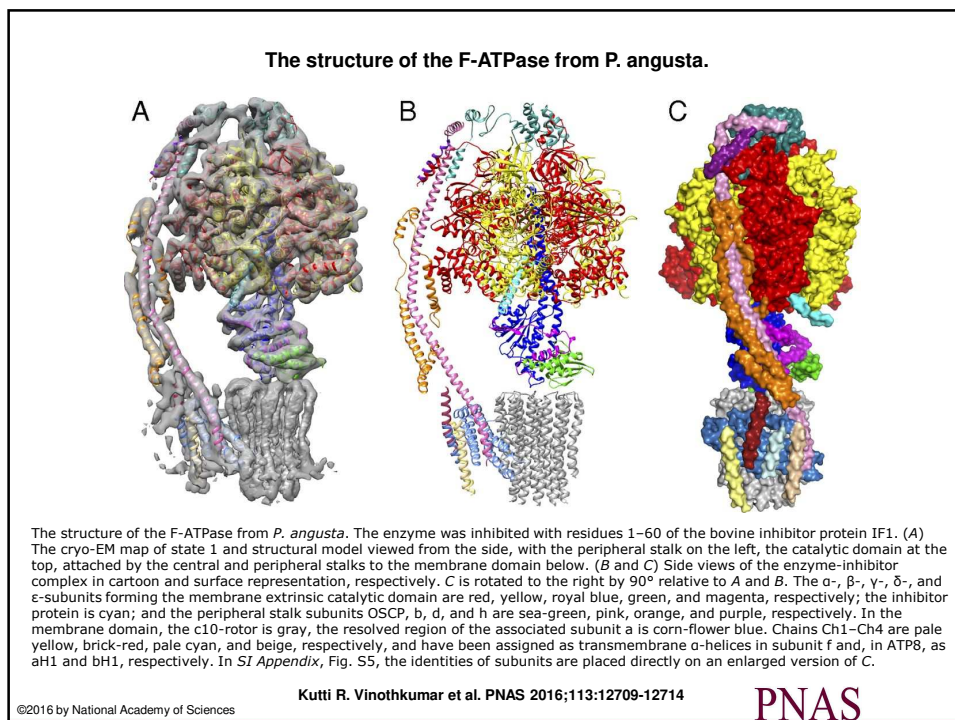
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

136

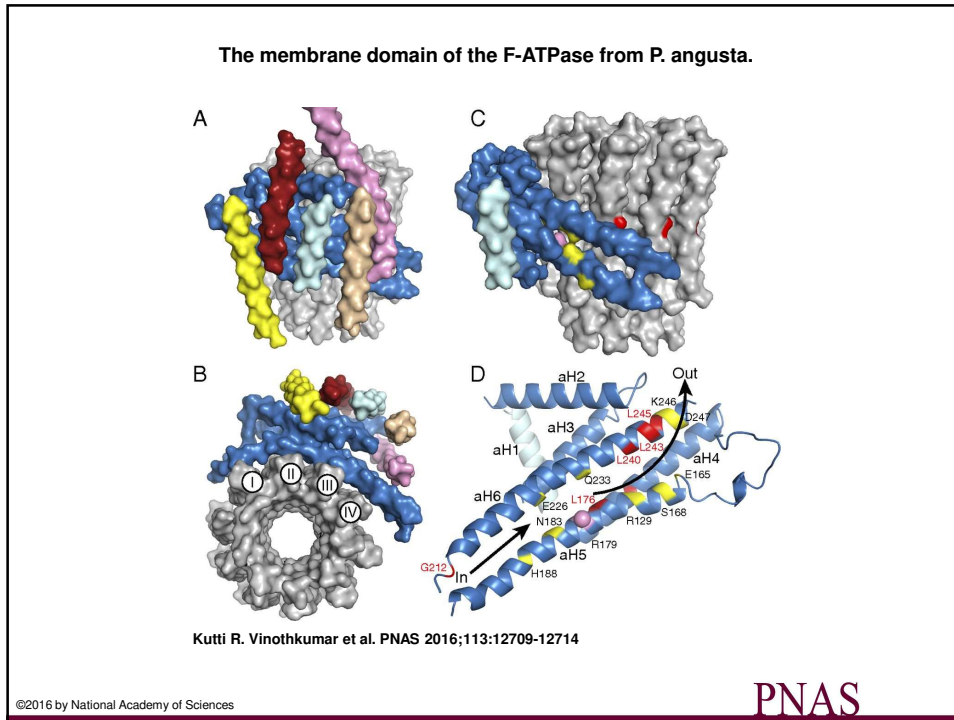
136



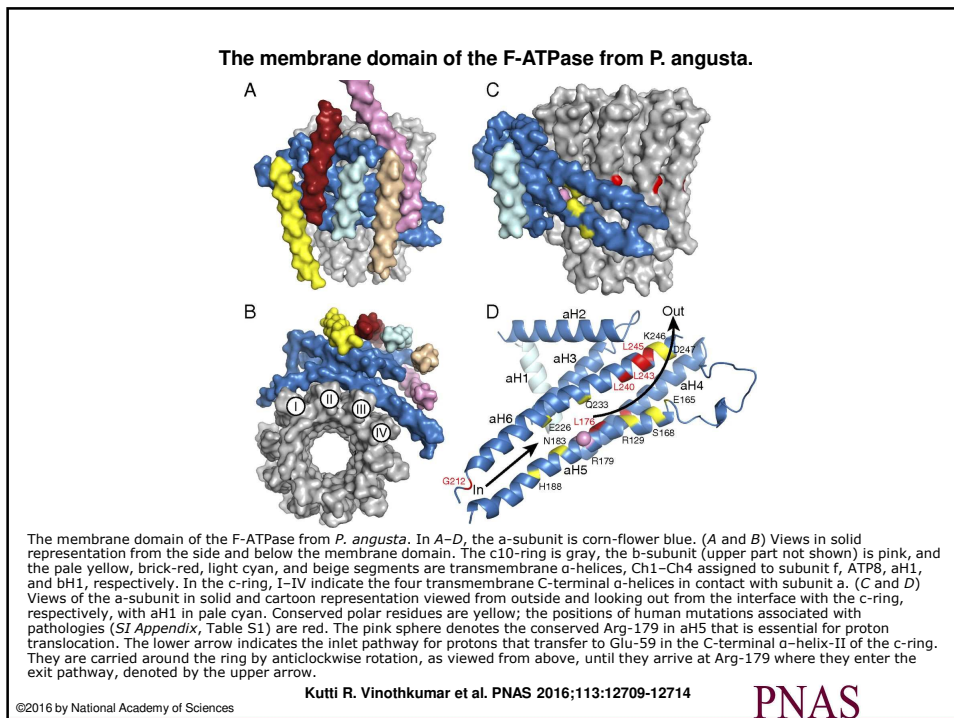
137



138



139

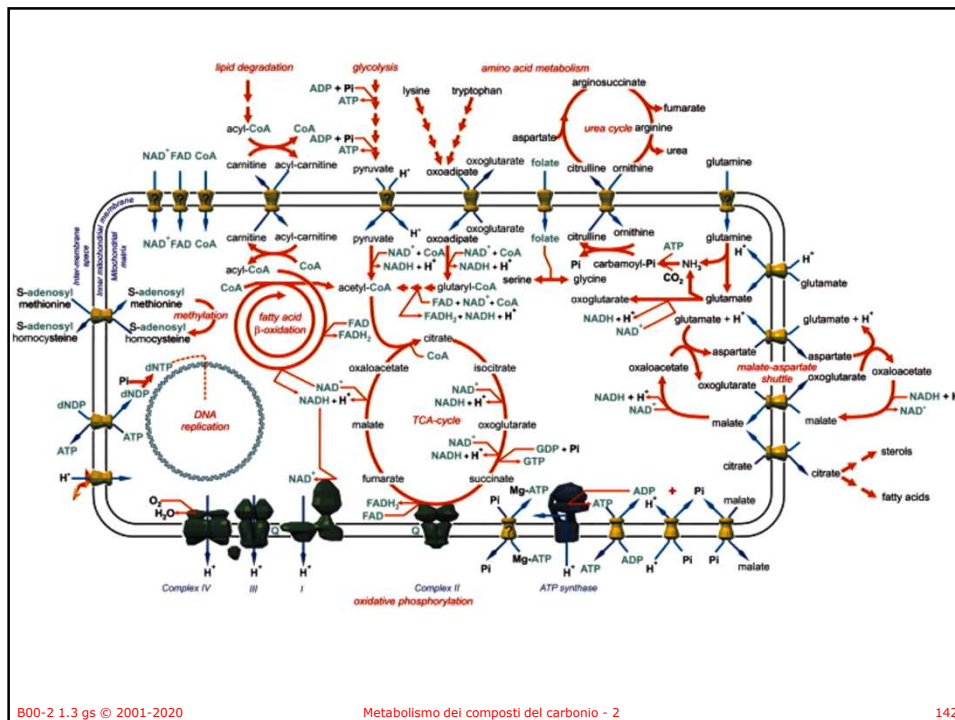


140

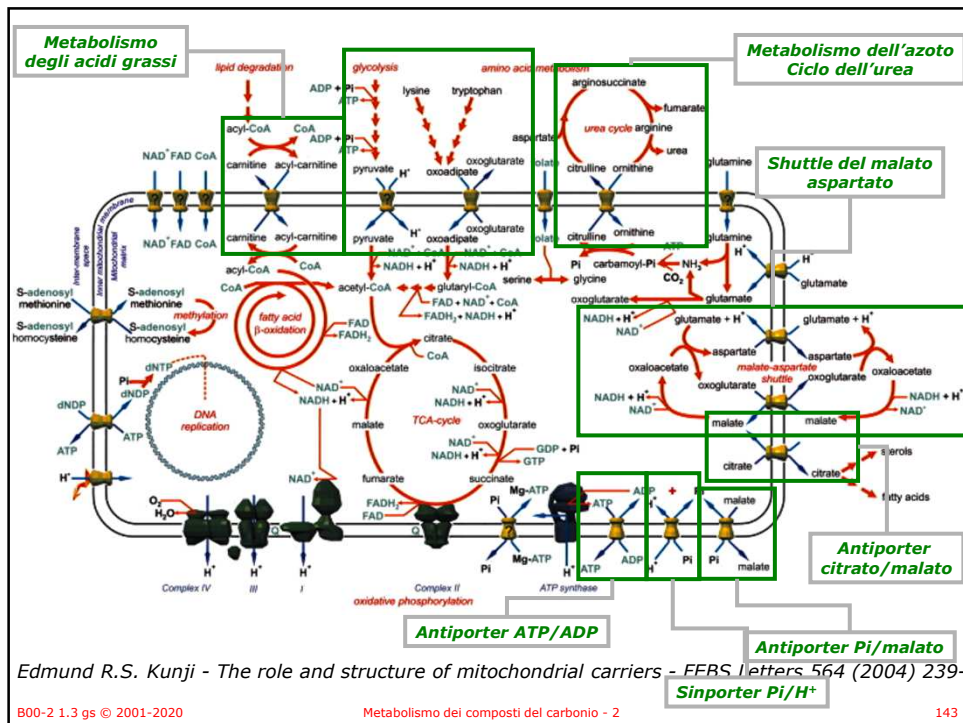
Trasporto ATP, ADP e Pi

Come rendere disponibile l'energia (ATP).

141



142



143

Trasporto ATP, ADP e P_i

- L'ATP prodotto nelle matrice mitocondriale deve uscire per essere usato nel citosol come fonte di energia.
- L'ADP e il P_i provenienti dall'idrolisi dell'ATP nel citosol devono entrare nella matrice mitocondriale per essere convertito in ATP.
- La membrana esterna mitocondriale non è una barriera impermeabile, canali anionici voltaggio dipendenti (VDAC) permettono il passaggio di ADP e P_i.
- La membrana interna è invece impermeabile e sono richiesti due trasportatori per l'ADP e ATP.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

144

144

Trasporto ATP, ADP e P_i

- Una traslocasi (trasportatore ADP/ATP) è un antiporter che catalizza lo scambio di ADP per ATP attraverso la membrana mitocondriale interna.
 - Al pH cellulare (7.2) l'ATP ha quattro cariche negative (ATP⁴⁻), l'ADP ne ha tre (ADP³⁻).
 - Lo scambio ADP³⁻/ATP⁴⁻ è pilotato, e usa, il potenziale di membrana (una carica per molecola di ATP).

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 145

145

Antiporter ADP/ATP

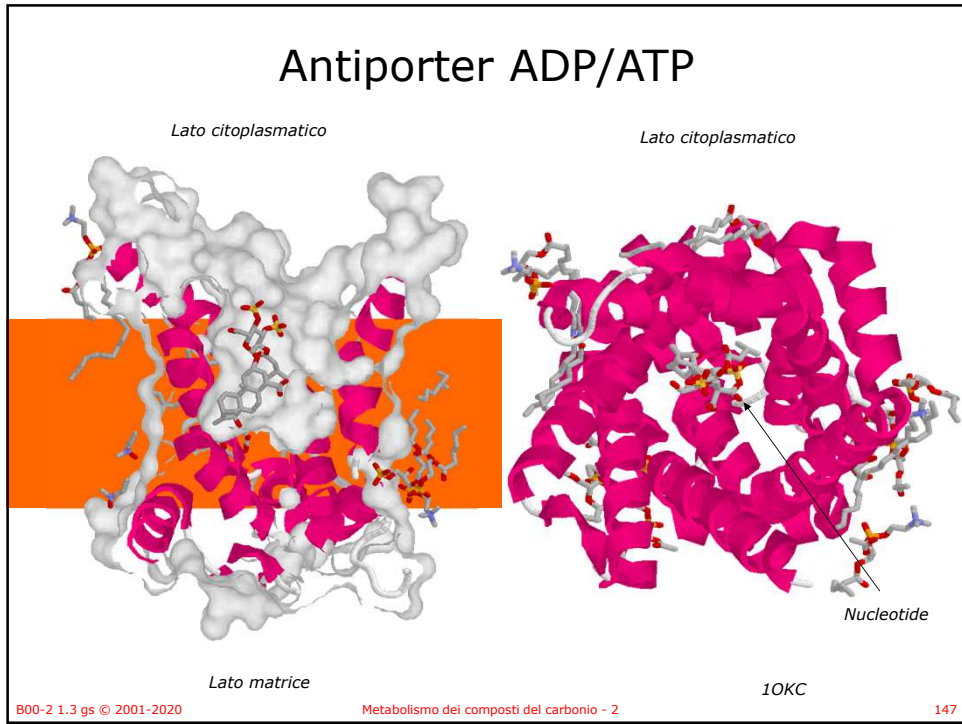
Lato citoplasmatico Lato citoplasmatico

Lato matrice Nucleotide

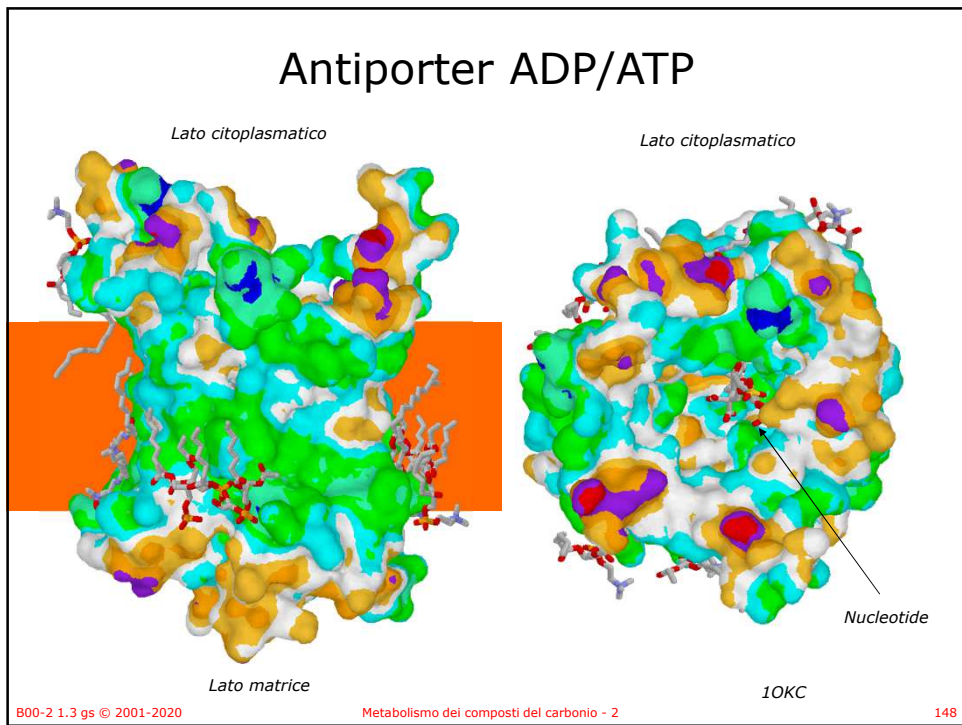
1OKC

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 146

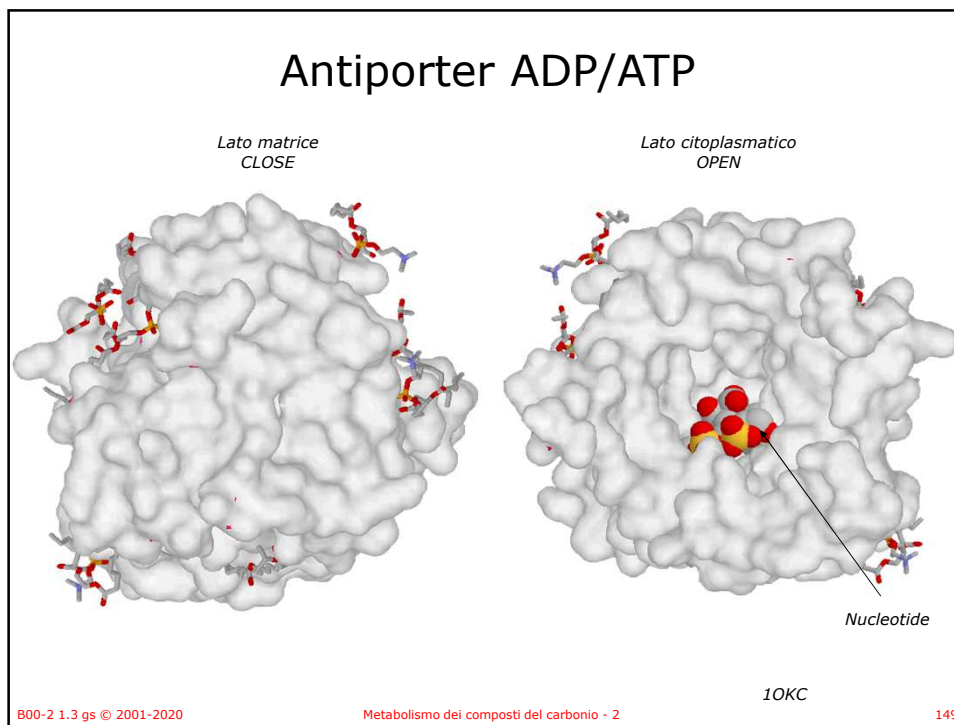
146



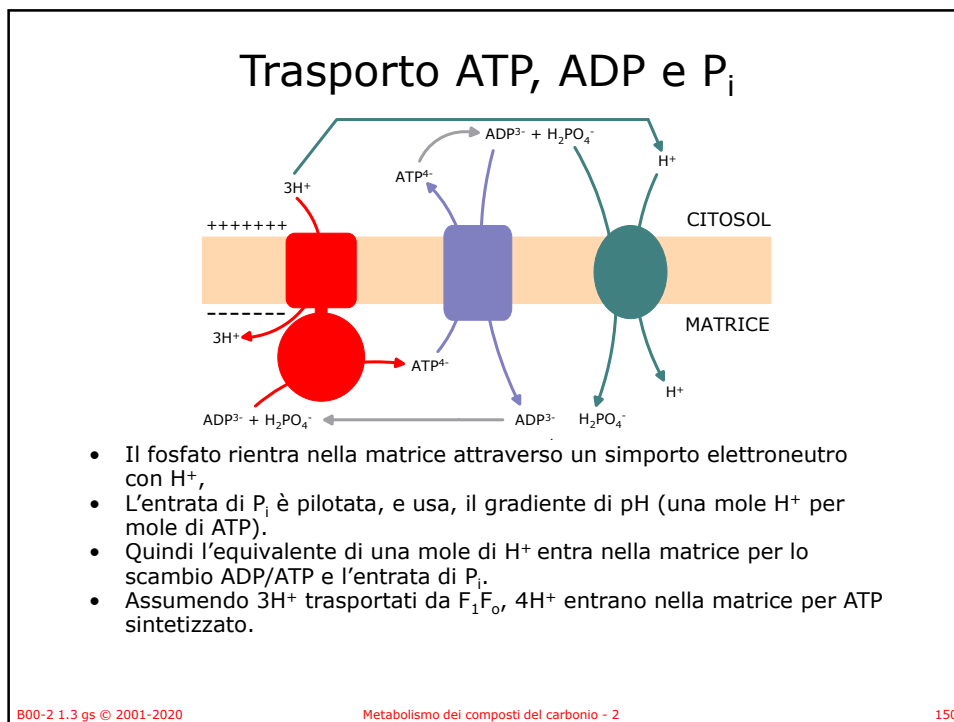
147



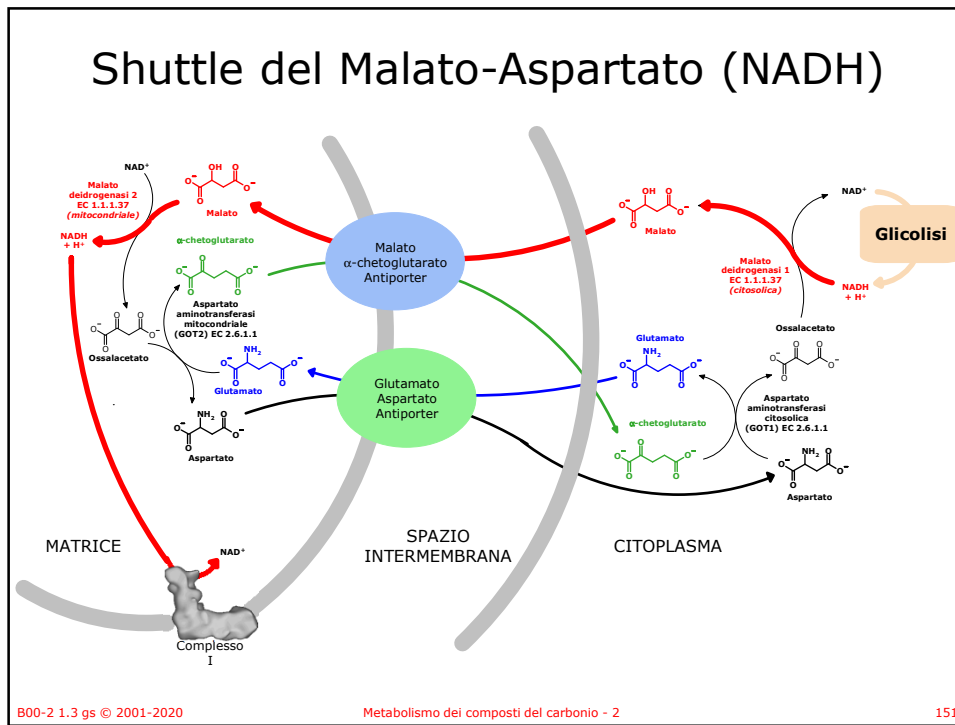
148



149



150



151

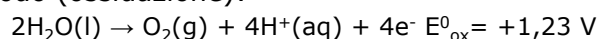


152

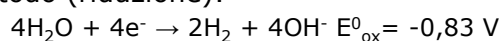
Decomposizione dell'acqua

- La decomposizione dell'acqua in idrogeno ed ossigeno in condizioni standard è una reazione sfavorita in termini termodinamici, poiché entrambe le semireazioni che intervengono hanno potenziali negativi

Anodo (ossidazione):



Catodo (riduzione):



- Utilizzando l'equazione $\Delta G = -nF\Delta E$, l'energia libera per il processo, in condizioni standard, vale 474.4 kJ: **non spontanea**.

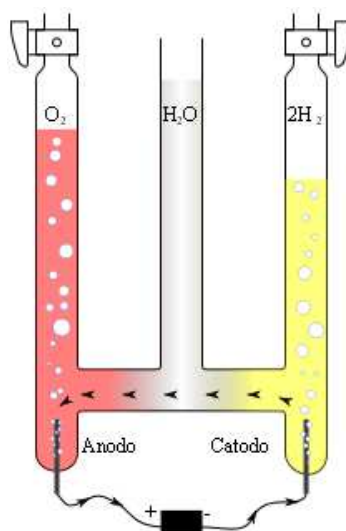
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

153

153

Decomposizione dell'acqua

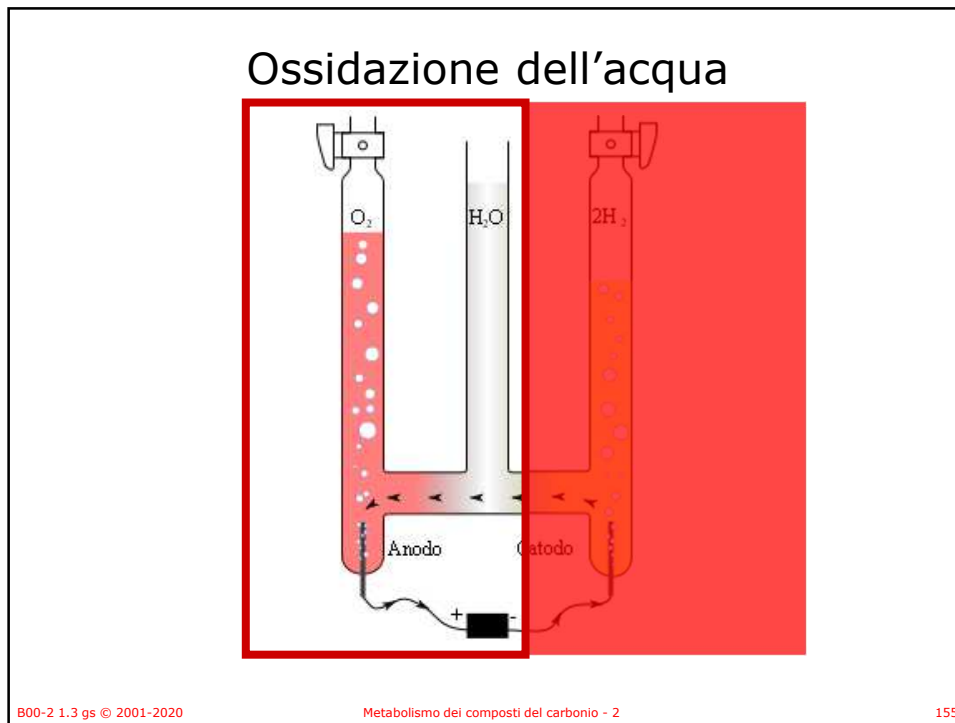


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

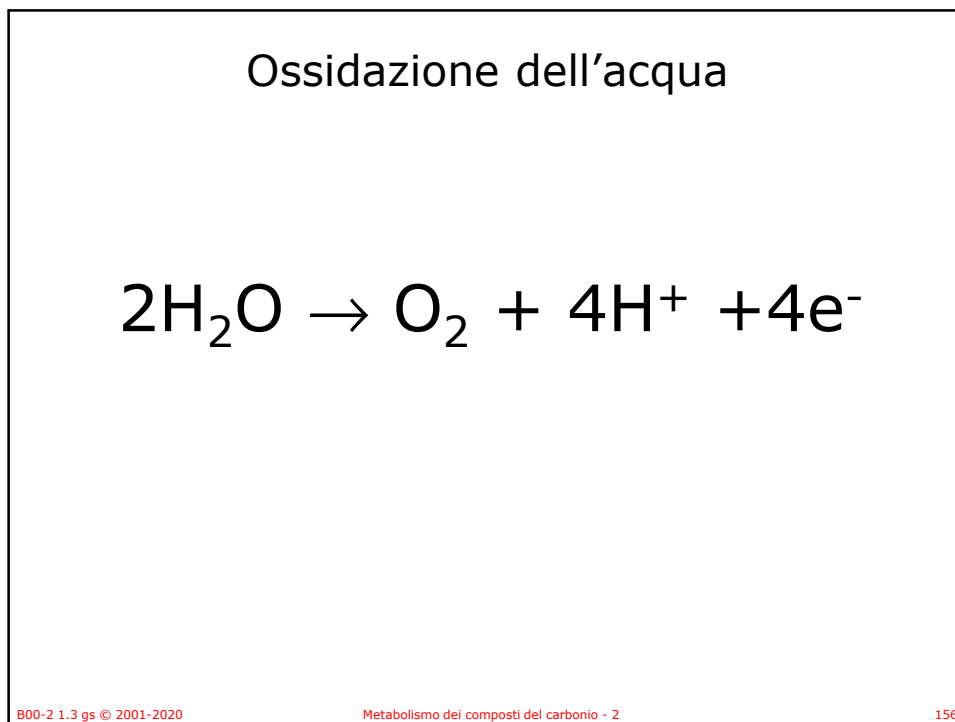
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

154

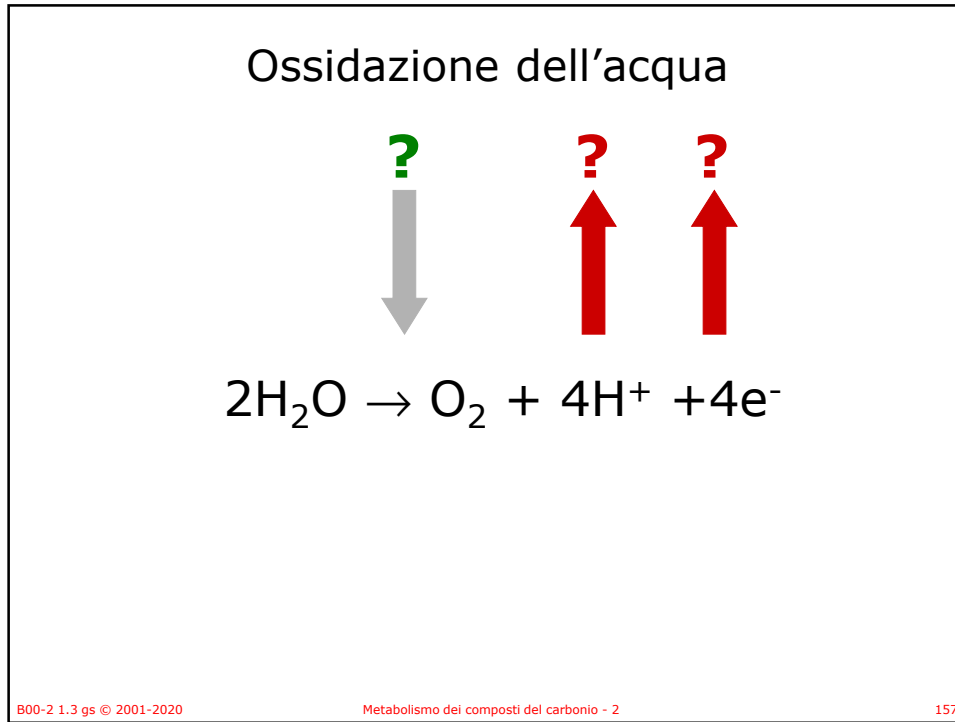
154



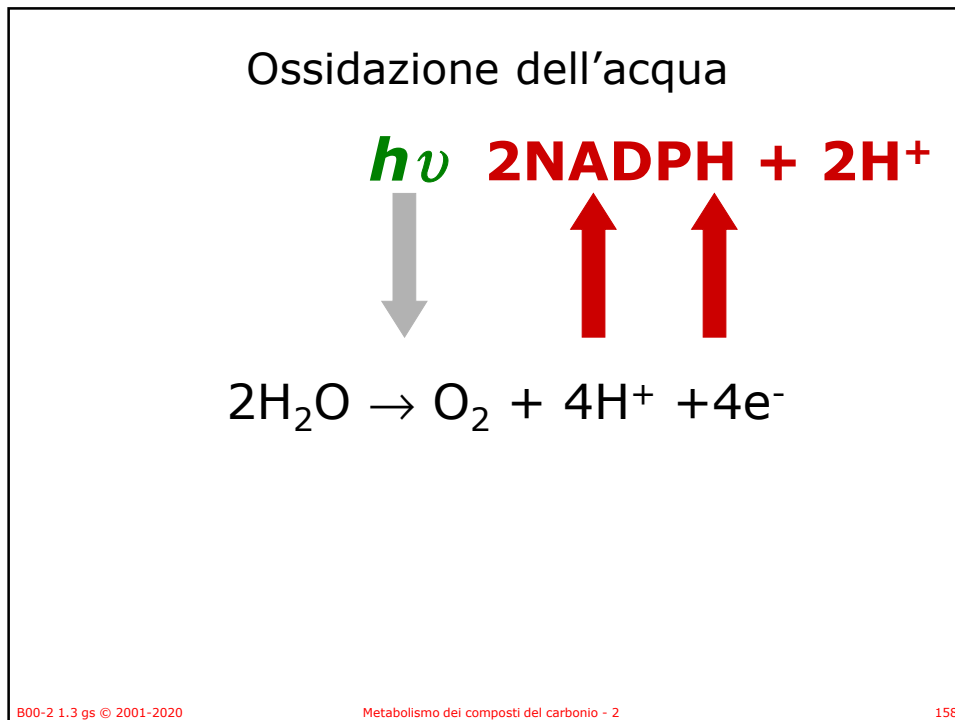
155



156



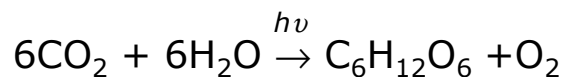
157



158

Fotosintesi e fissazione del carbonio

È il processo che permette di formare carboidrati da CO₂ a spese dell'energia luminosa.



FISSAZIONE DELL'ANIDRIDE CARBONICA

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

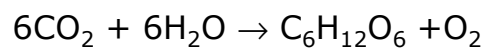
159

159

Fotosintesi e fissazione del carbonio

- La fotosintesi viene assimilata alla fissazione della CO₂,
- L'energia chimica derivata dall'energia luminosa può essere utilizzata per altri processi cellulari (assimilazione di azoto e zolfo).

- Il processo



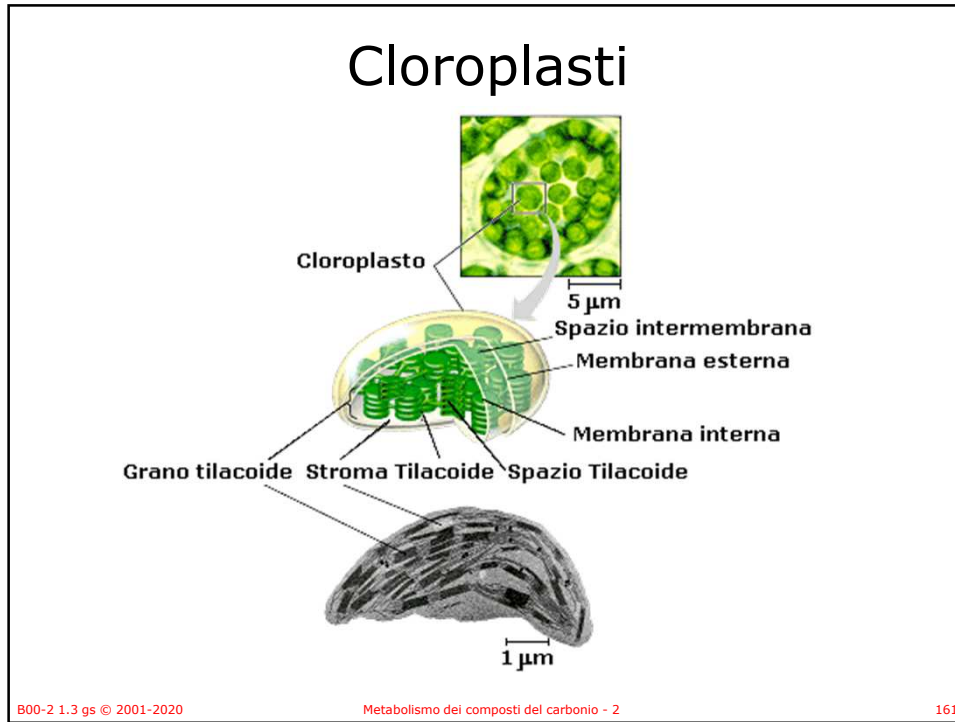
- È il contrario del metabolismo dei carboidrati,
- È un processo endoergonico che avviene nei cloroplasti.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

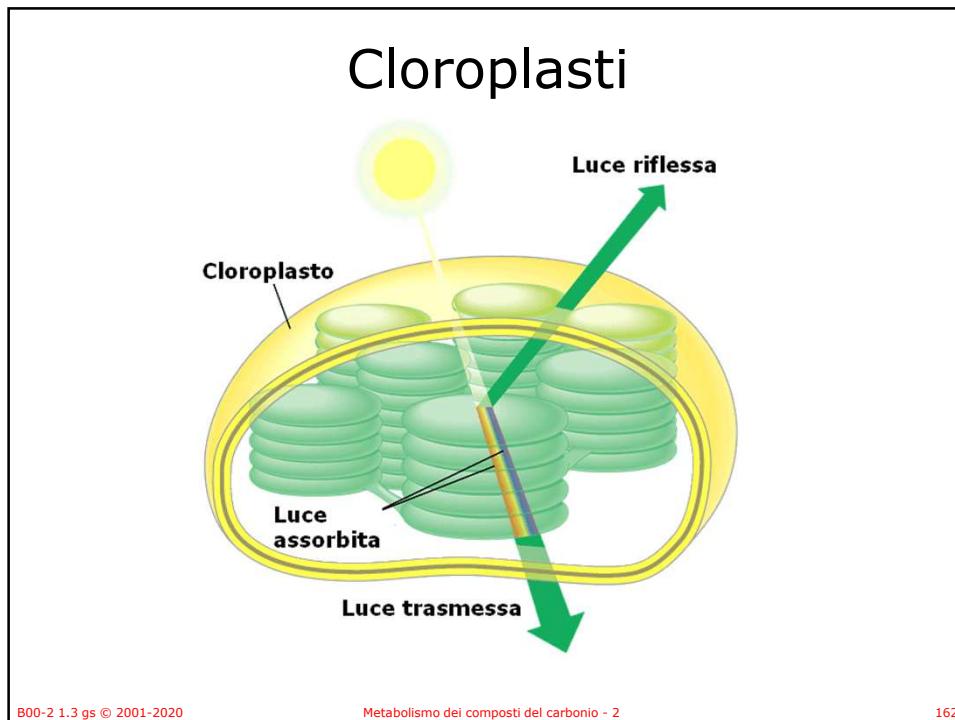
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

160

160



161



162

Cloroplasti

- La fotosintesi avviene all'interno del tilacoide,
- La membrana del tilacoide è come la membrana mitocondriale
 - Impermeabile a ioni e molecole
- Come i mitocondri i cloroplasti hanno un proprio DNA, RNA e ribosomi

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

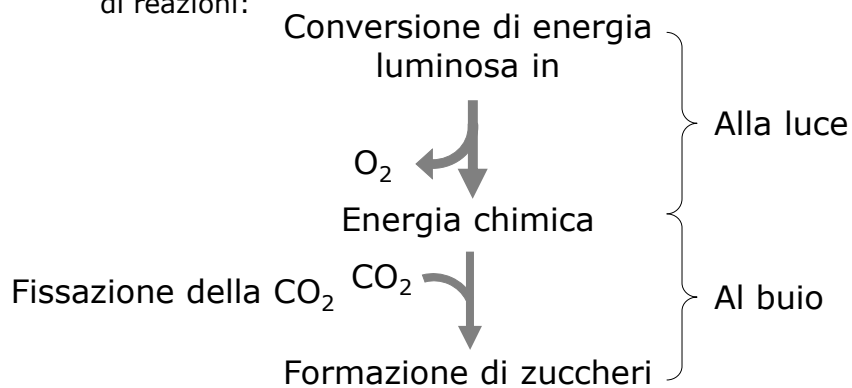
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

163

163

Processo fotosintetico

- La fotosintesi è un processo che è formato da due serie di reazioni:



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

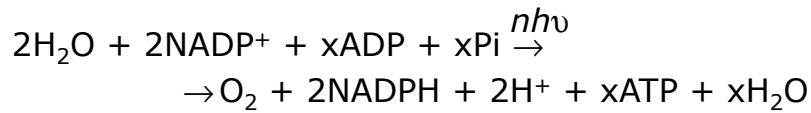
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

164

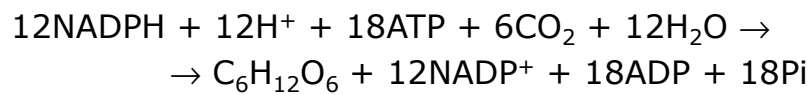
164

Processo fotosintetico

Fase luminosa



Fase buia



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

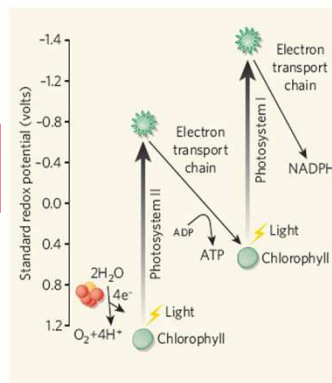
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

165

165

The oxygen that gives us the breath of life is renewed by sunlight falling on plants, algae and a particular class of bacterium called cyanobacteria — all of which produce molecular oxygen (O₂) as a waste product of photosynthesis (Box 1). Biologists agree that cyanobacteria invented the art of making oxygen², but when and how this came about remain uncertain.

Oxygenic photosynthesis involves about 100 proteins that are highly ordered within the photosynthetic membranes of the cell. The main players are two molecular machines, photosystem I and photosystem II, that act as electrochemical solar cells. With the help of chlorophyll (the pigment that makes plants green), they transform sunlight into electrical current (Fig. 1). Photosystem II generates an electrochemical potential of +1.1 volts, enough to remove two electrons from each of two water molecules, making a molecule of O₂ at a cost of four photons — one for each electron moved. Photosystem II performs this remarkable feat only when photosystem I is present to dispose of the electrons. Photosystem I grabs the four electrons and uses four more photons to deposit them, in two pairs, on an electron carrier called NADP⁺. NADP⁺ ultimately transfers the electrons to carbon dioxide, thereby providing the



energy to make carbon-based sugars and the other molecules of life: light makes life and oxygen out of water and thin air.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

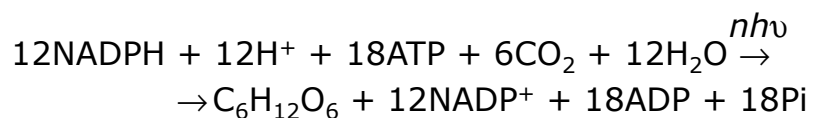
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

166

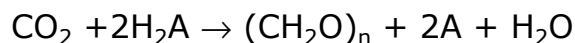
166

Processo fotosintetico

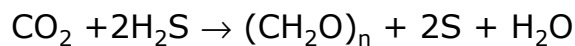
Fase buia



- In questo caso è l'acqua il donatore finale di elettroni, più in generale:



- Nei solfobatteri fotosintetici, per esempio:



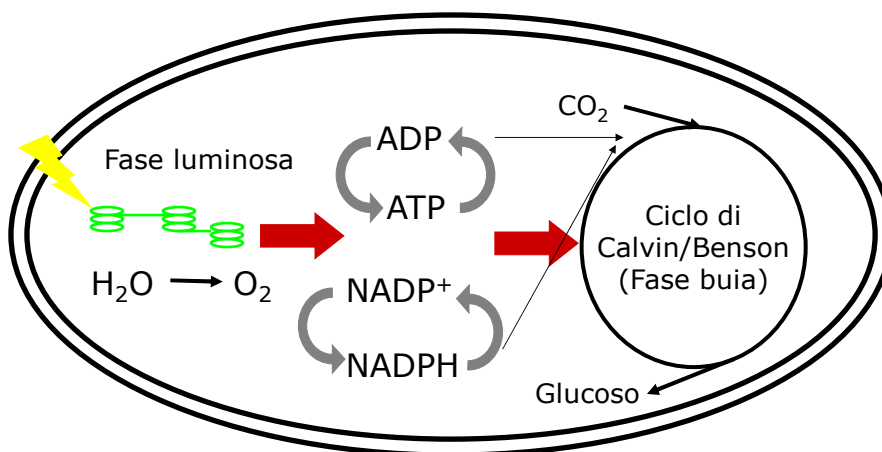
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

167

167

Fotosintesi



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

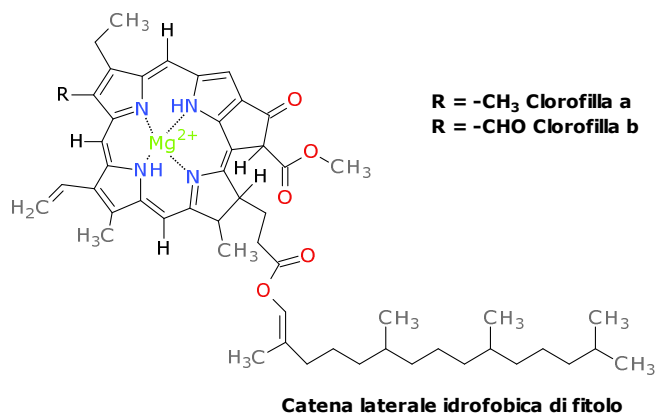
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

168

168

Clorofilla

- I pigmenti fotosintetici in grado di assorbire luce sono, principalmente, le clorofille:



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

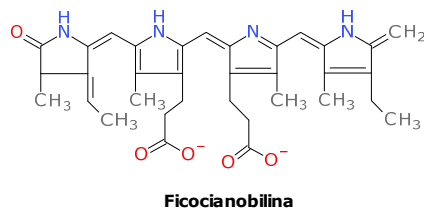
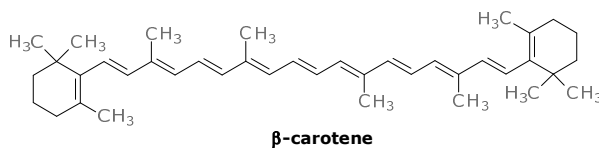
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

169

169

Pigmenti accessori

- Ci sono poi altri pigmenti fotosintetici "accessori" che permettono una maggiore efficienza dell'assorbimento:



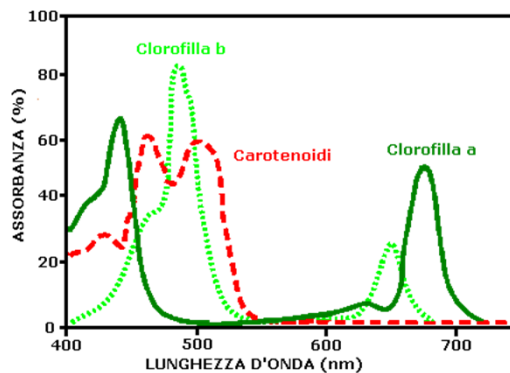
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

170

170

Spettri di assorbimento



- I pigmenti assorbono luce nel blu e nel rosso dello spettro del visibile, riflettono luce nell'intervallo del verde.
- I pigmenti sono associati a proteine.

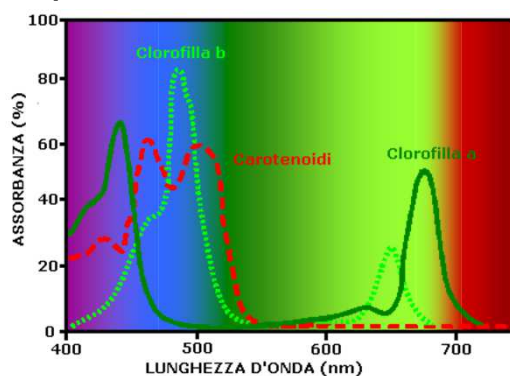
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

171

171

Spettri di assorbimento



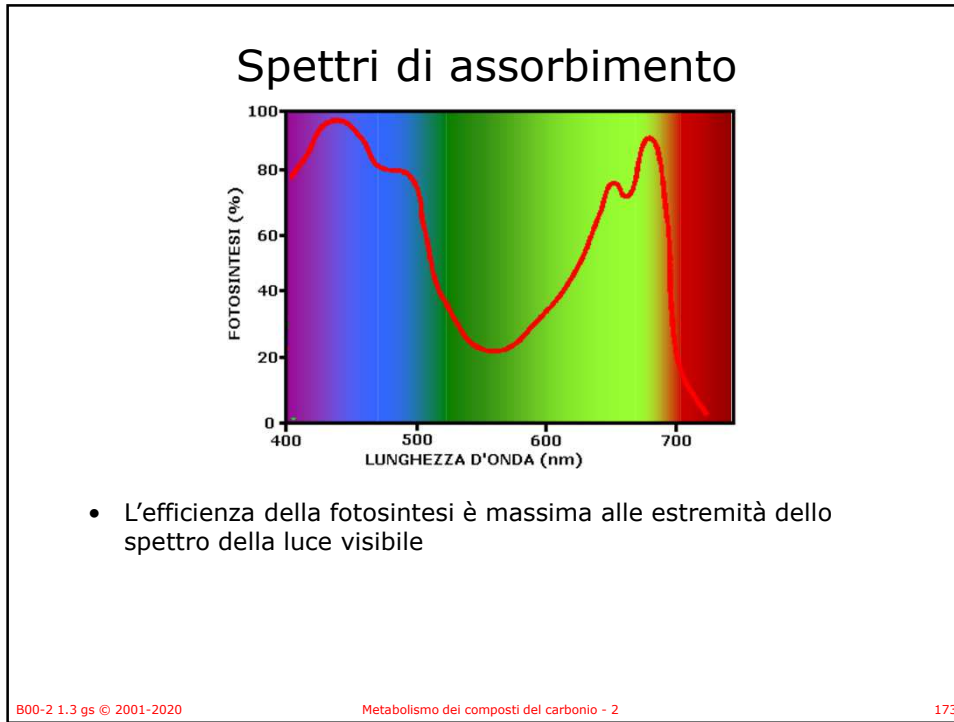
- I pigmenti assorbono luce nel blu e nel rosso dello spettro del visibile, riflettono luce nell'intervallo del verde.
- I pigmenti sono associati a proteine.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

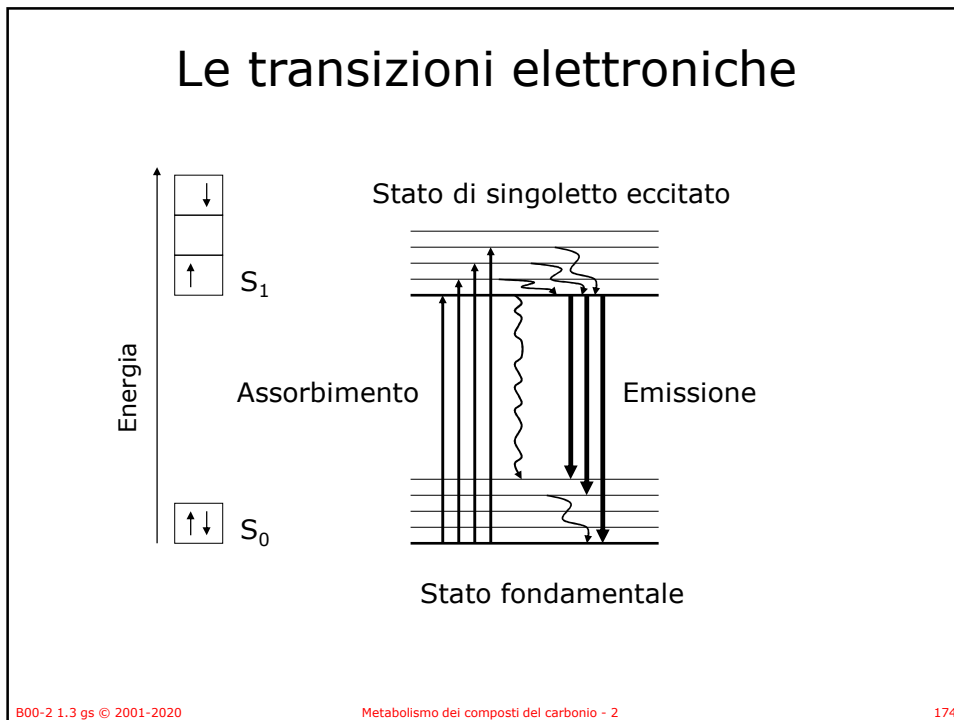
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

172

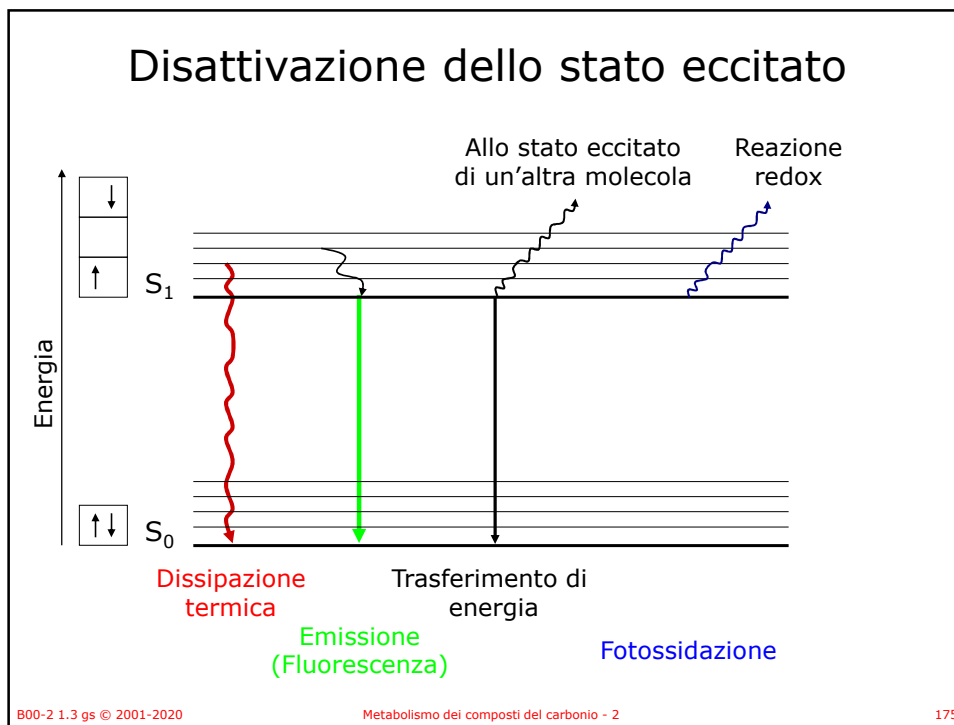
172



173



174



175

Reazioni allo stato eccitato

- Assorbimento, formazione dello stato eccitato:

$$A + h\nu \rightarrow A^* \quad (\tau = 10^{-15} \text{ s})$$
- Disattivazione dello stato eccitato:
 - Energy transfer:

$$A^* + B \rightarrow A + B^* \quad (\tau = 10^{-8} - 10^{-10} \text{ s});$$
 - Emissione di luce (fluorescenza):

$$A^* \rightarrow A + h\nu' \quad (\tau = 10^{-8} \text{ s}; \nu' < \nu);$$
 - Reazione redox:

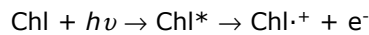
$$A^* + B \rightarrow A^+ + B^- \quad (\tau = 10^{-6} - 10^{-8} \text{ s});$$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 176

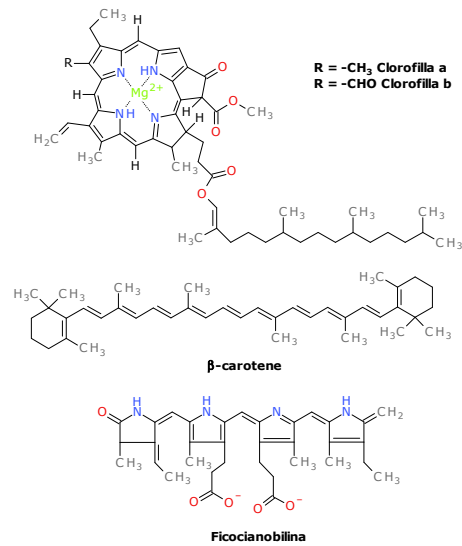
176

Transizioni elettroniche

- Le transizioni elettroniche avvengono, nei pigmenti fotosintetici, nel visibile a causa della presenza di sistemi elettronici π coniugati.
- È fondamentale, nel funzionamento del processo fotosintetico, la trasduzione dell'energia luminosa in energia chimica,
- Ciò avviene a causa del potenziale redox diverso tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato della clorofilla:



- Il Mg^{2+} non cambia numero di ossidazione.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

177

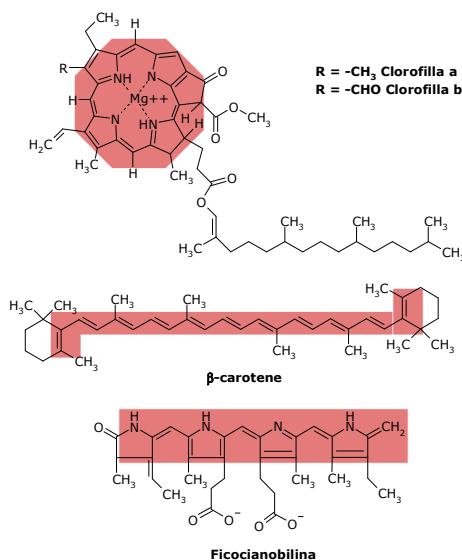
177

Transizioni elettroniche

- Le transizioni elettroniche avvengono, nei pigmenti fotosintetici, nel visibile a causa della presenza di **sistemi elettronici π coniugati**.
- È fondamentale, nel funzionamento del processo fotosintetico, la trasduzione dell'energia luminosa in energia chimica,
- Ciò avviene a causa del potenziale redox diverso tra lo stato fondamentale e lo stato eccitato della clorofilla:



- Il Mg^{2+} non cambia numero di ossidazione.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

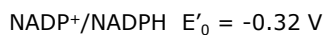
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

178

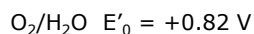
178

Riduzione e ossidazione

- La fotosintesi consiste nella riduzione del NADP^+ a spese degli e^- ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.



- Per ridurre il NAD^+ è necessario un riducente con $E'_0 < -0.32 \text{ V}$.



- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con $E'_0 > 0.82 \text{ V}$.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

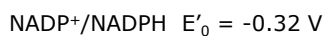
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

179

179

Riduzione e ossidazione **Fotosistema I (PSI)**

- La fotosintesi consiste nella riduzione del NADP^+ a spese degli e^- ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.



- Per ridurre il NAD^+ è necessario un riducente con $E'_0 < -0.32 \text{ V}$.



- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con $E'_0 > 0.82 \text{ V}$.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

180

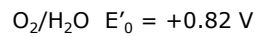
180

Riduzione e ossidazione

- La fotosintesi consiste nella riduzione del NADP^+ a spese degli e^- ceduti dall'acqua all'ossigeno e attivati dalla luce.

Fotosistema II (PSII)

- Per ridurre il NAD^+ è necessario un riducente con $E'_0 < -0.32 \text{ V}$.



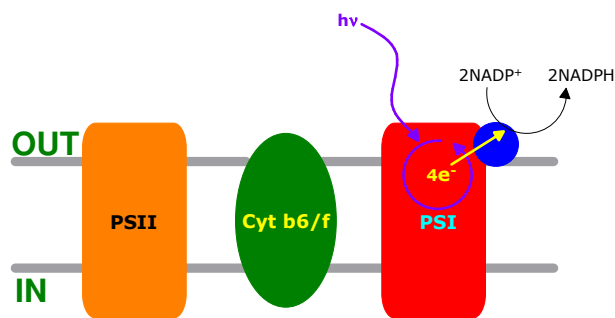
- Per ossidare l'acqua ad ossigeno è necessario un ossidante con $E'_0 > 0.82 \text{ V}$.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

181

181

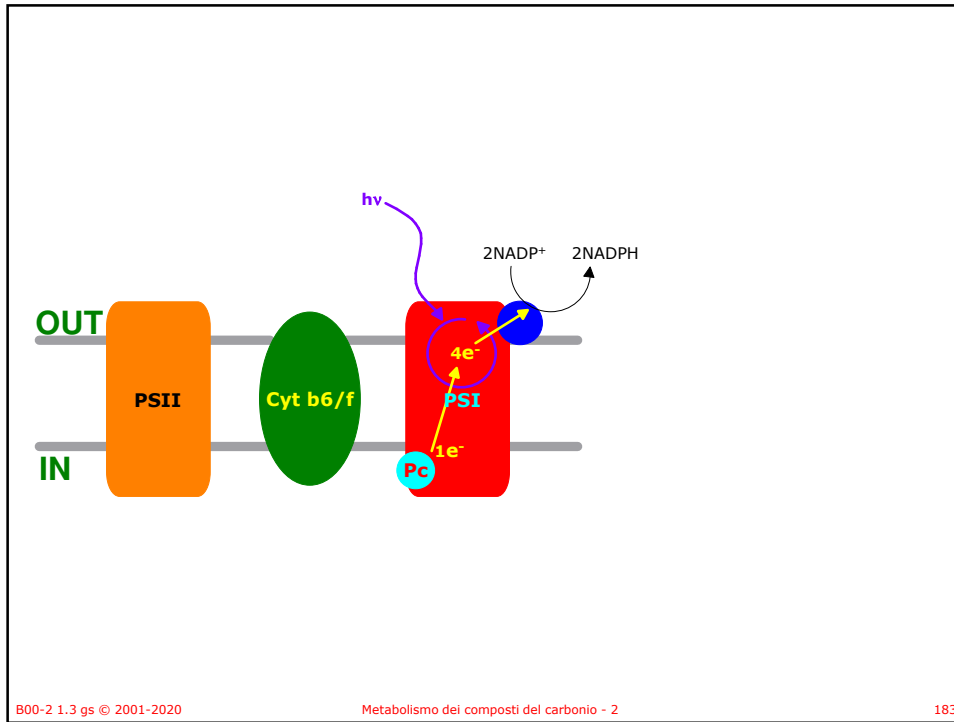


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

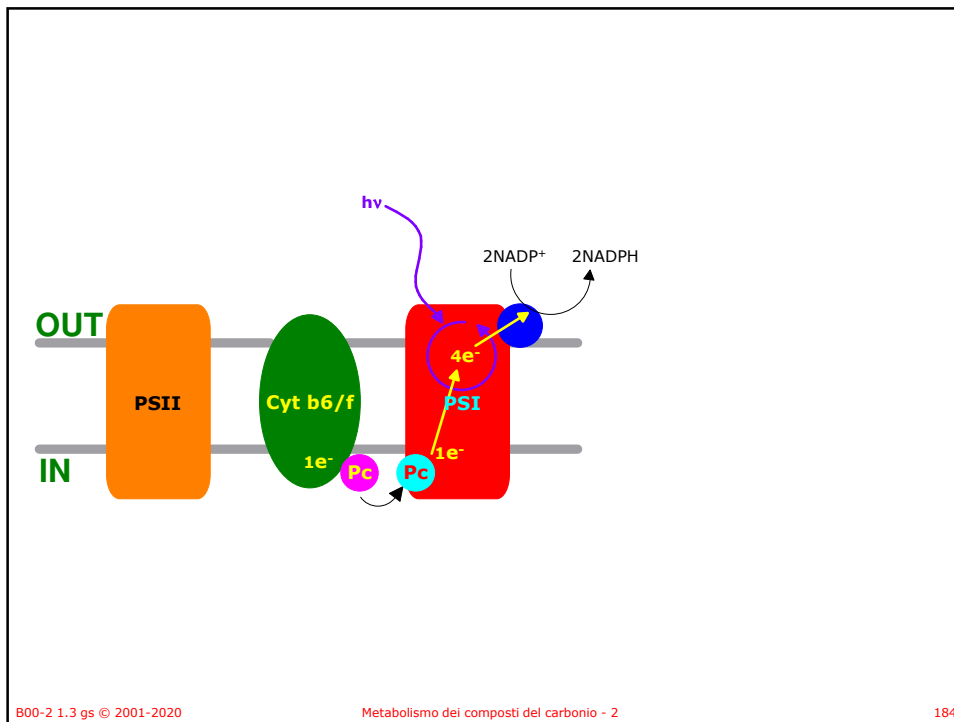
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

182

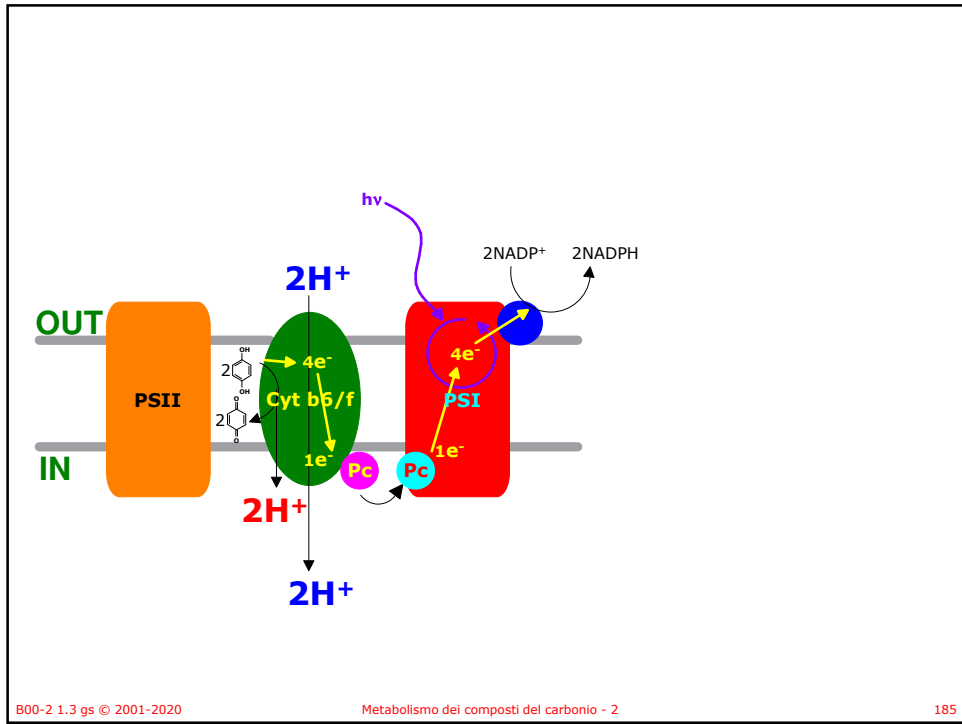
182



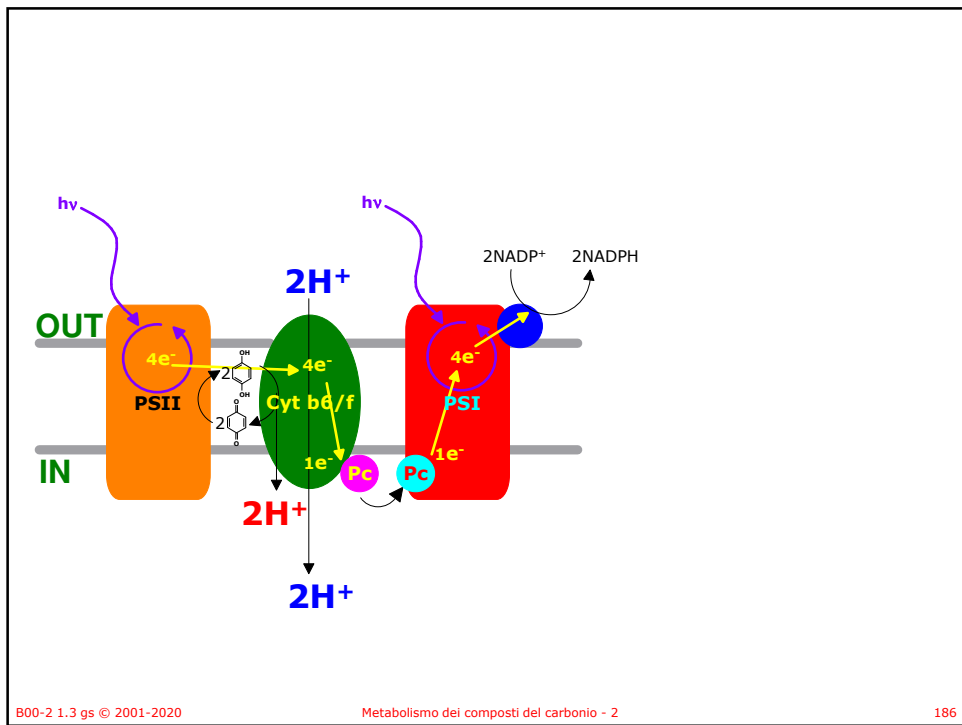
183



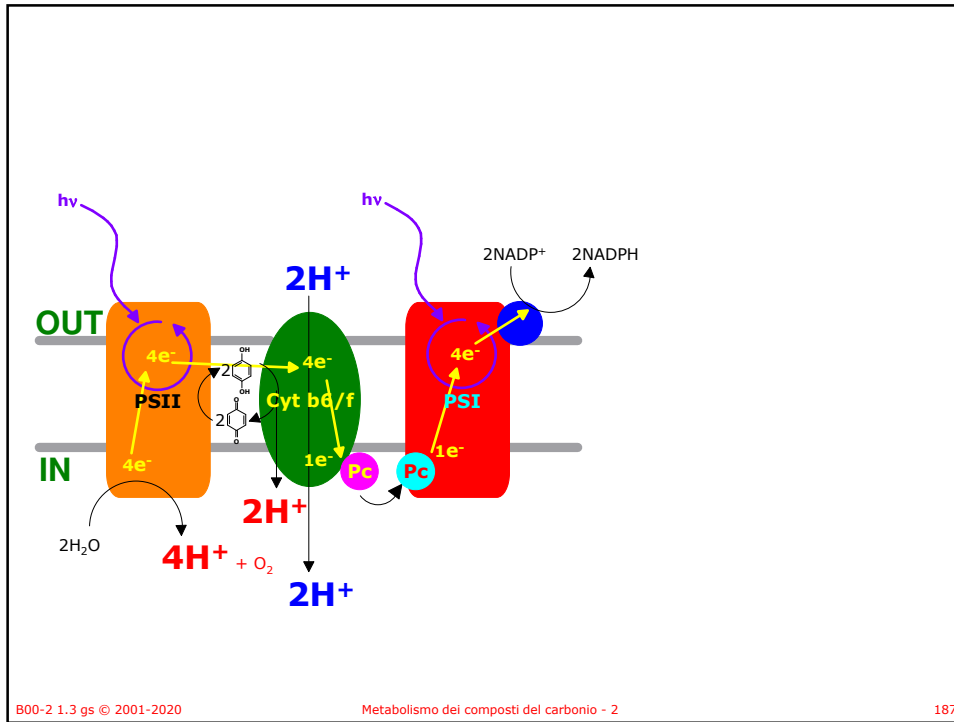
184



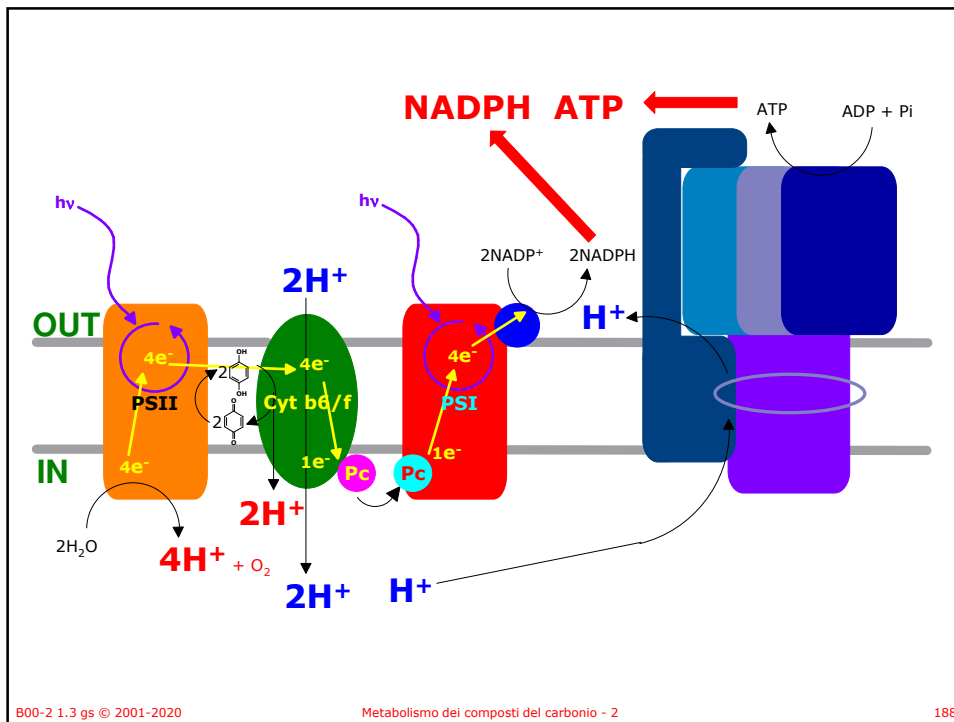
185



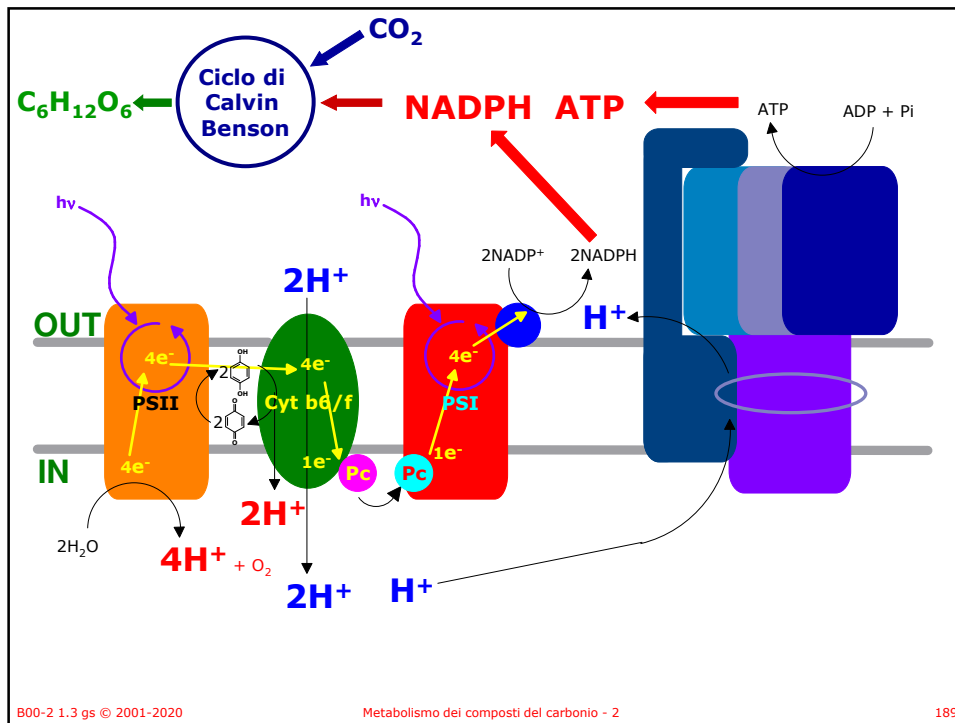
186



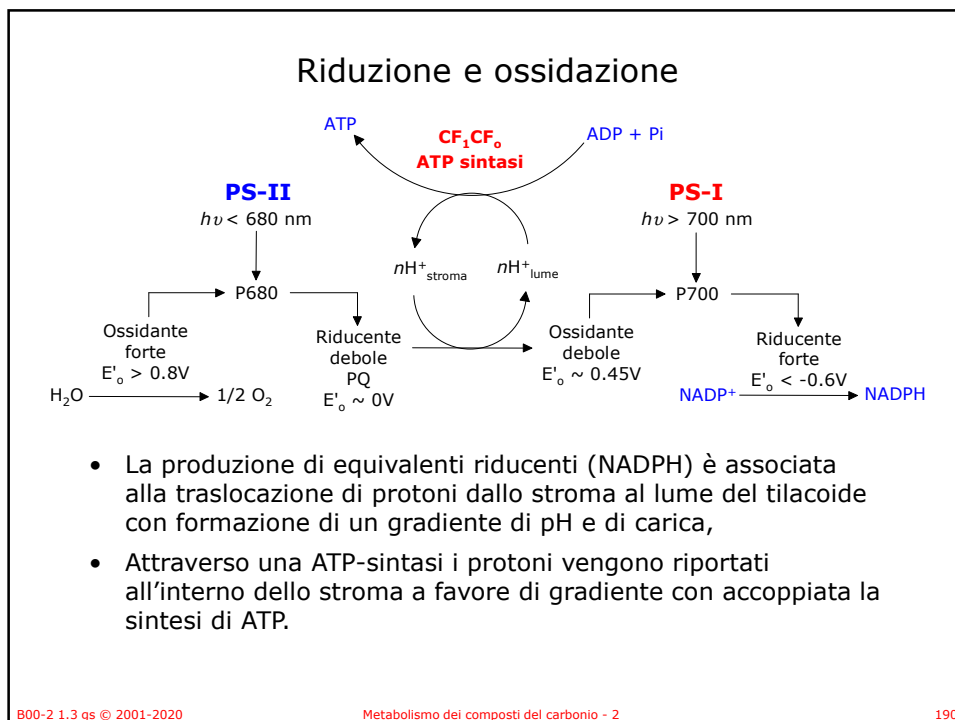
187



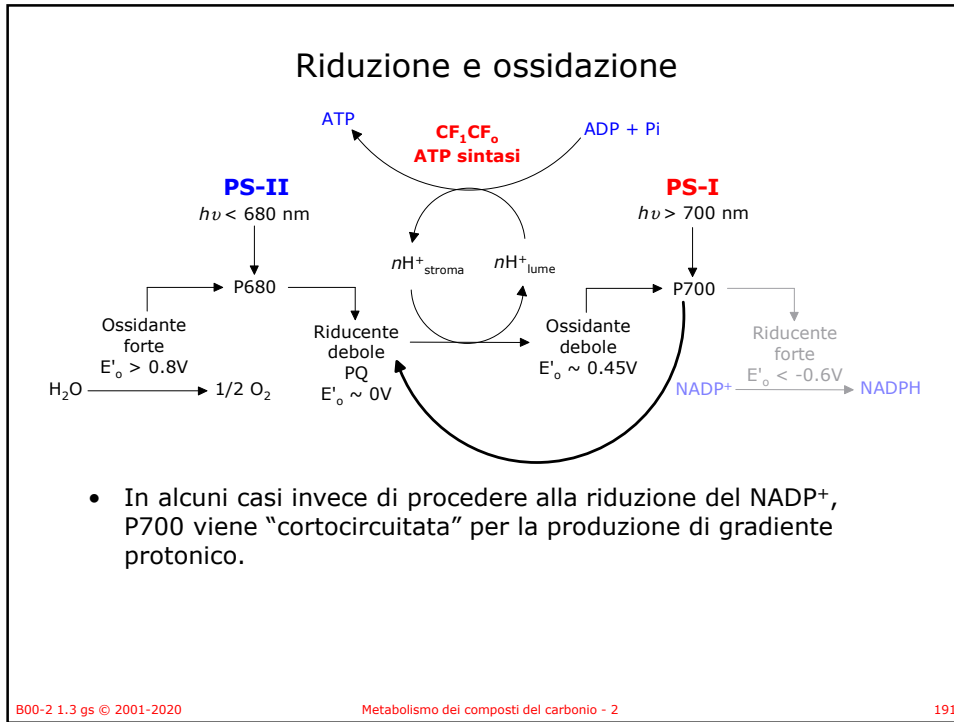
188



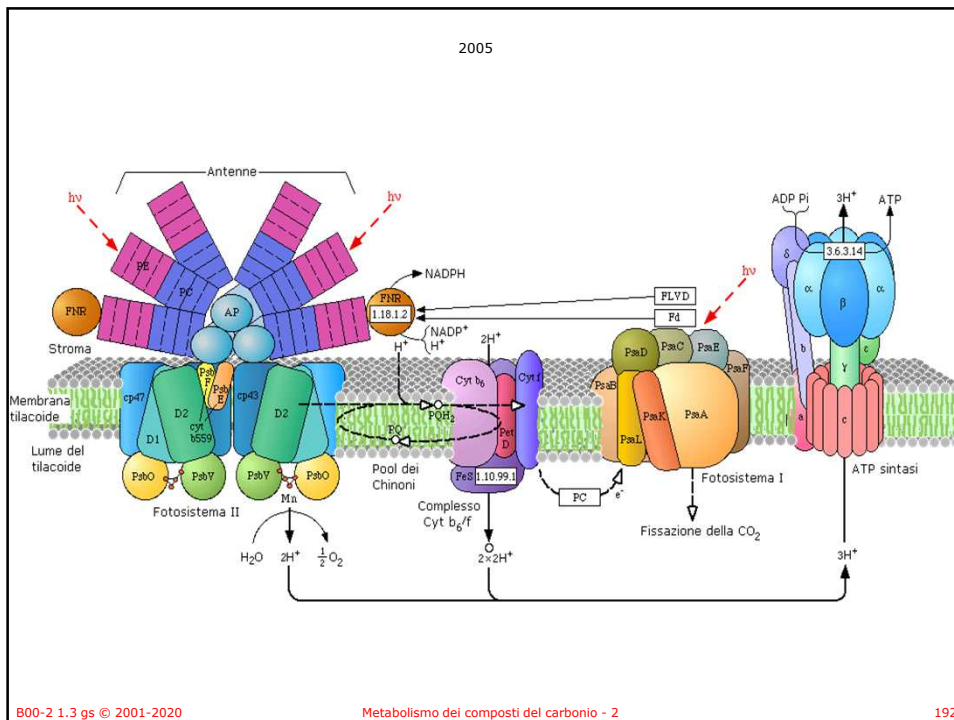
189



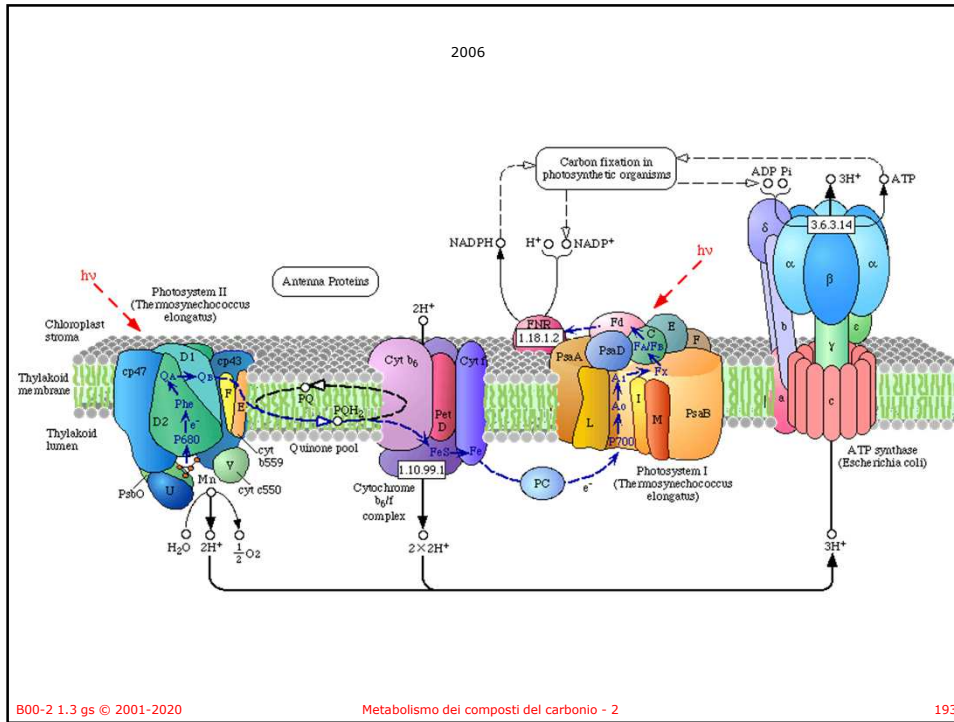
190



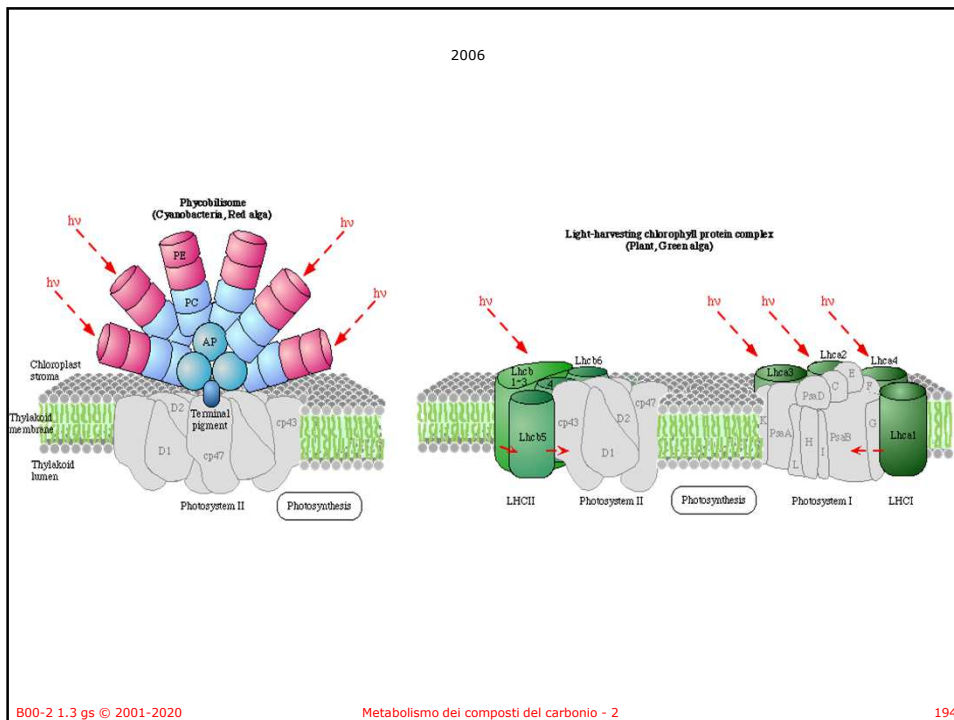
191



192



193



194

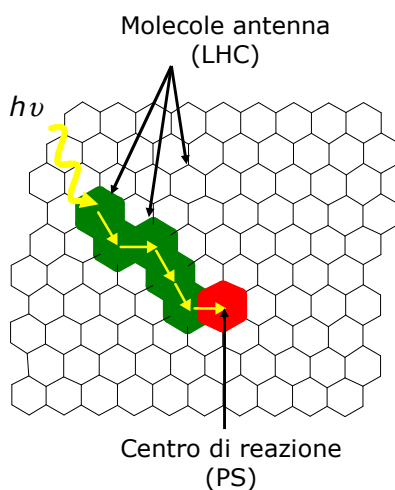
La fotosintesi e fotofosforilazione

Dalla luce all'ATP e NADPH

195

Unità fotosintetica

- Non tutte le molecole di clorofilla svolgono la funzione di donatori di elettroni allo stato eccitato.
- Il trasferimento di energia tra le molecole antenna al centro di reazione avviene per risonanza (energy transfer).



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

196

196

Light harvesting complex

Phaeobacterales (Cyanobacteria, Red algae)

Light-harvesting chlorophyll protein complex (Plant, Green algae)

Allophycocyanin (AP)

ApcA	ApcB	ApcC	ApcD	ApcE	ApcF
------	------	------	------	------	------

Phycocyanine (PC) / Phycoerythrocyanin (PEC)

CpcA	CpcB	CpcC	CpcD	CpcE	CpcF	CpcG
------	------	------	------	------	------	------

Phycocystatin (PE)

CpeA	CpeB	CpeC	CpeE	CpeR	CpeS	CpeT	CpeU	CpeY	CpeZ
------	------	------	------	------	------	------	------	------	------

Light-harvesting chlorophyll protein complex (LHC)

Lhc1	Lhc2	Lhc3	Lhc4	Lhc5	Lhc6	Lhc8	Lhc9	Lhc4
------	------	------	------	------	------	------	------	------

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 197

197

Light harvesting complex

- La luce viene raccolta dal sistema antenna (Light harvesting complex) attraverso i pigmenti:
 - Clorofille (A e B)
 - Caroteni
- L'energia luminosa viene trasferita via energy transfer al centro di reazione.

Clorofilla A Clorofilla B

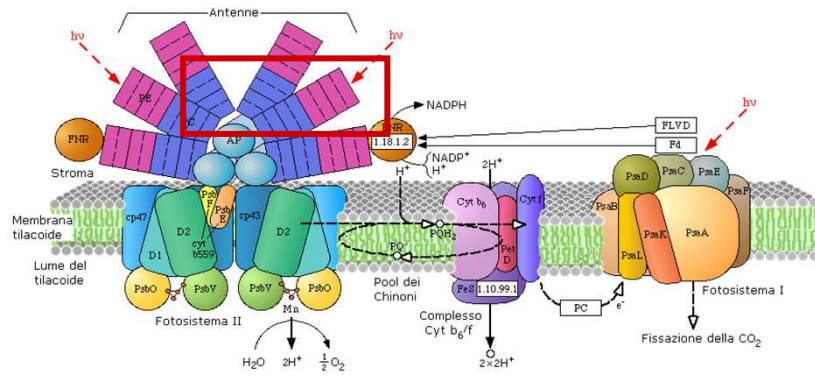
Caroteni

Lipidi

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 198

198

Ficocianobilina



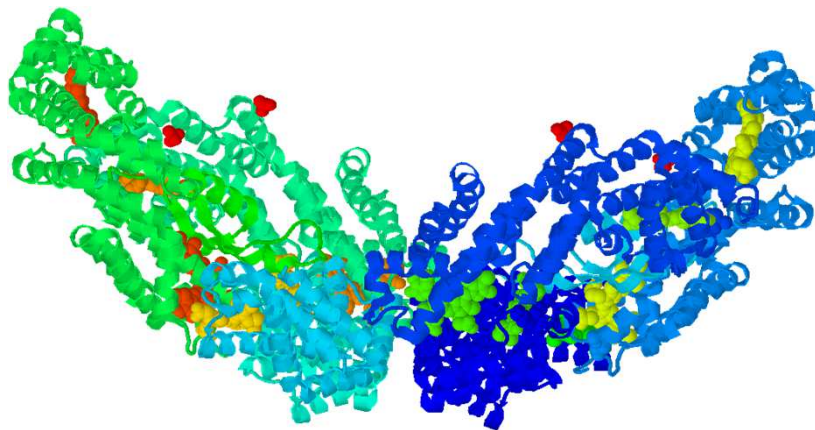
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

199

199

Ficocianobilina



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

200

200

Centri di reazione

- Negli eucarioti esistono due diversi centri di reazione: PS-I e PS-II
- Nei due fotosistemi avvengono reazioni diverse.
- I due fotosistemi hanno diversa sensibilità alla luce .
- In uno dei due (PS-II) avviene l'ossidazione dell'acqua ad ossigeno.
- La clorofilla nelle cellule vegetali è associata a proteine integrali della membrana del tilacoide.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

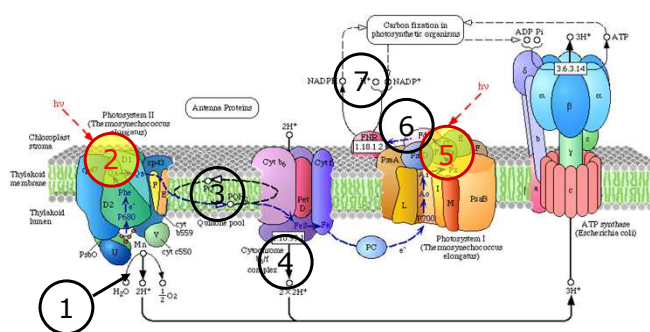
201

201

Potenziali redox

- I valori dei potenziali redox permettono il trasferimento di elettroni dall'H₂O al NADP⁺:

1. $E'_o = + 0.85 \text{ V}$
2. $E'_o = + 1.20 \text{ V}$
3. $E'_o \approx 0 \text{ V}$
4. $E'_o = + 0.40 \text{ V}$
5. $E'_o = + 0.75 \text{ V}$
6. $E'_o = - 1.20 \text{ V}$
7. $E'_o = - 0.70 \text{ V}$



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

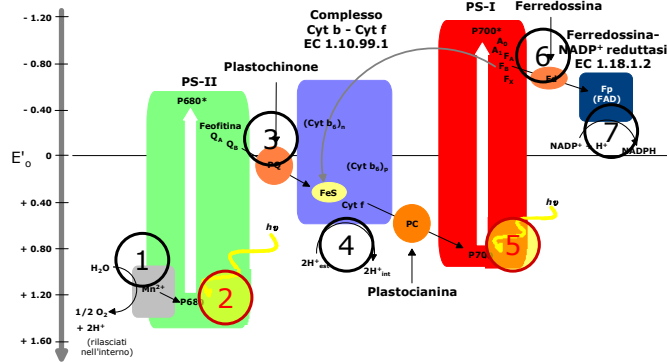
202

202

Potenziali redox

- I valori dei potenziali redox permettono il trasferimento di elettroni dall'H₂O al NADP⁺:

- $E'_o = + 0.85 \text{ V}$
- $E'_o = + 1.20 \text{ V}$
- $E'_o \approx 0 \text{ V}$
- $E'_o = + 0.40 \text{ V}$
- $E'_o = + 0.75 \text{ V}$
- $E'_o = - 1.20 \text{ V}$
- $E'_o = - 0.70 \text{ V}$



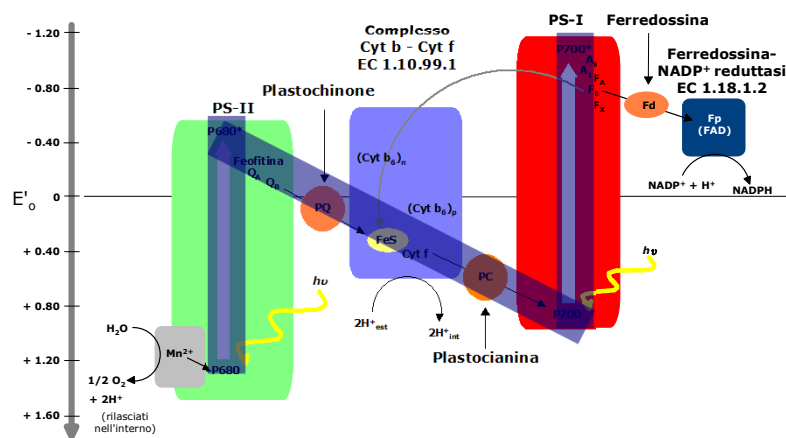
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

203

203

Schema a Z



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

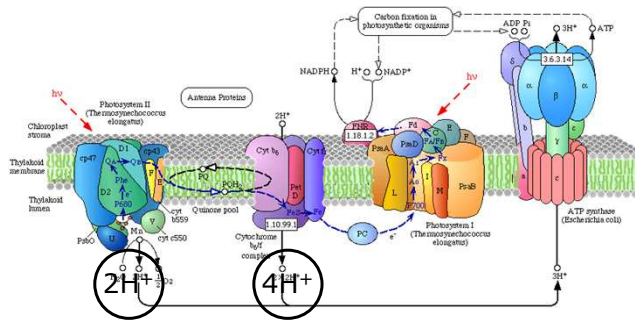
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

204

204

Trasporto di H⁺

- Nel trasporto di elettroni dall'acqua al NADP⁺ vengono anche trasportati 4H⁺ nel lume del tilacoide (all'interno) dalla cavità stromale (dall'esterno).
- 2H⁺ vengono prodotti nel lume a seguito della ossidazione dell'acqua.



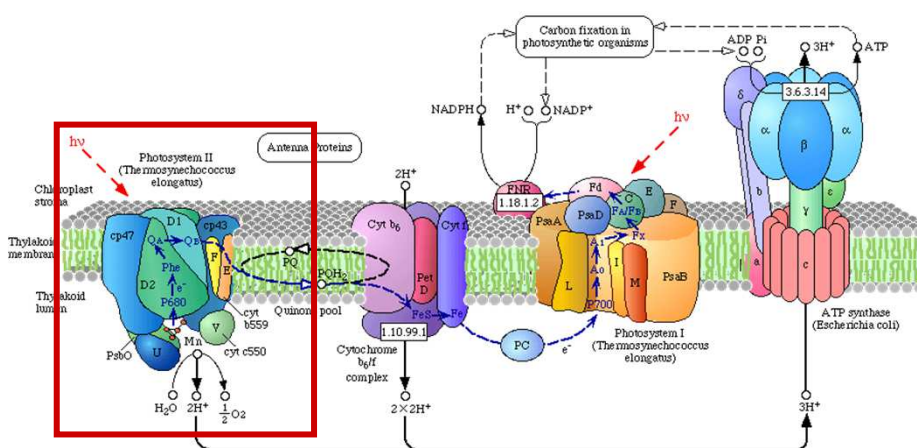
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

205

205

Fotosistema II (PS-II)

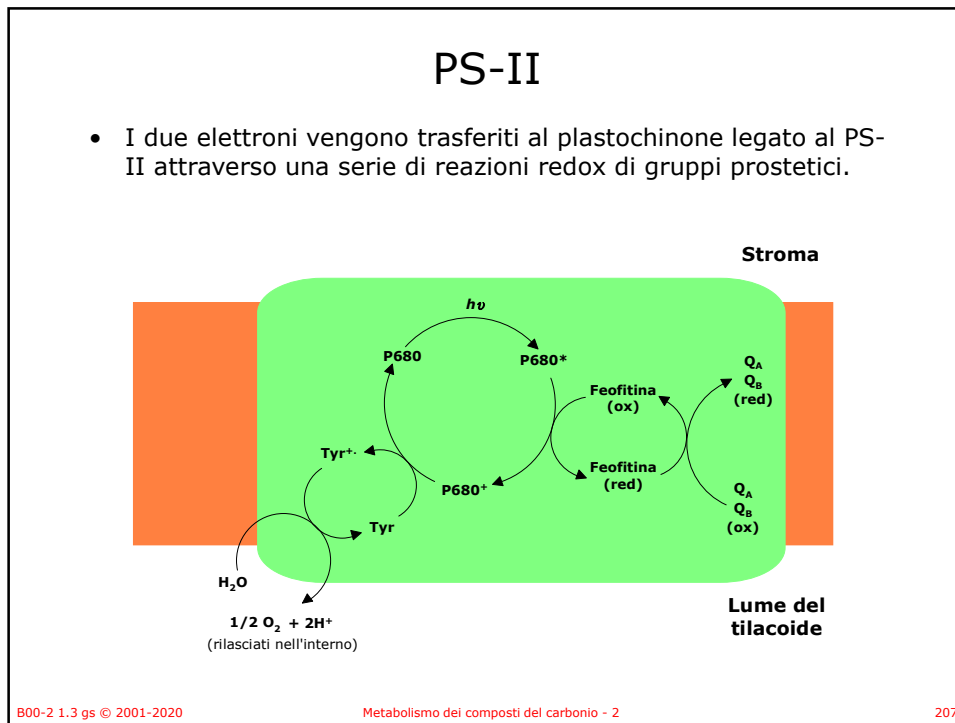


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

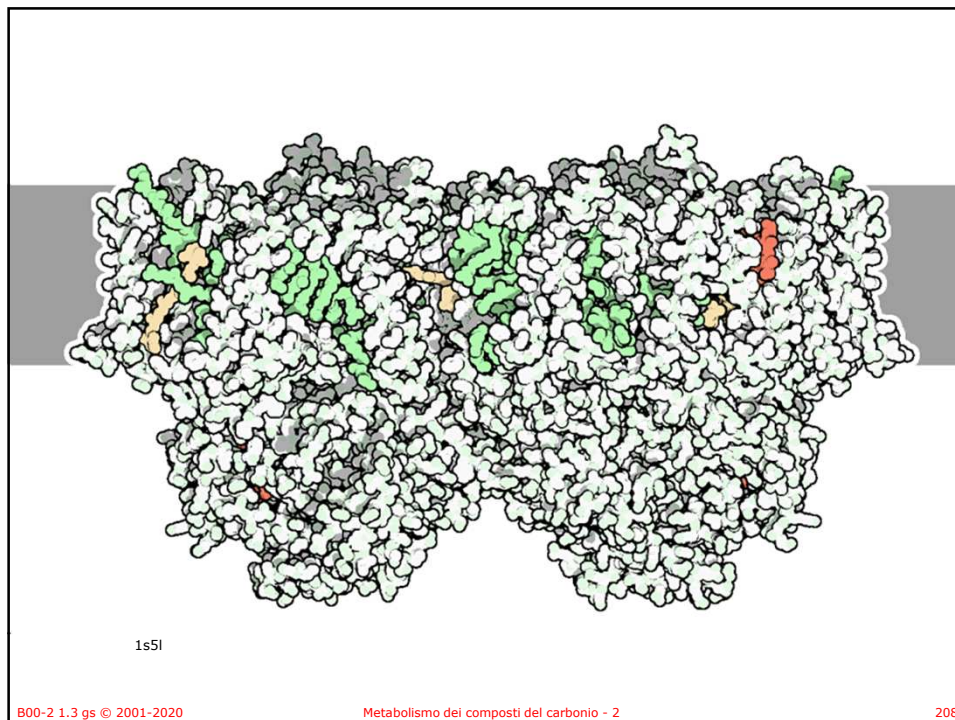
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

206

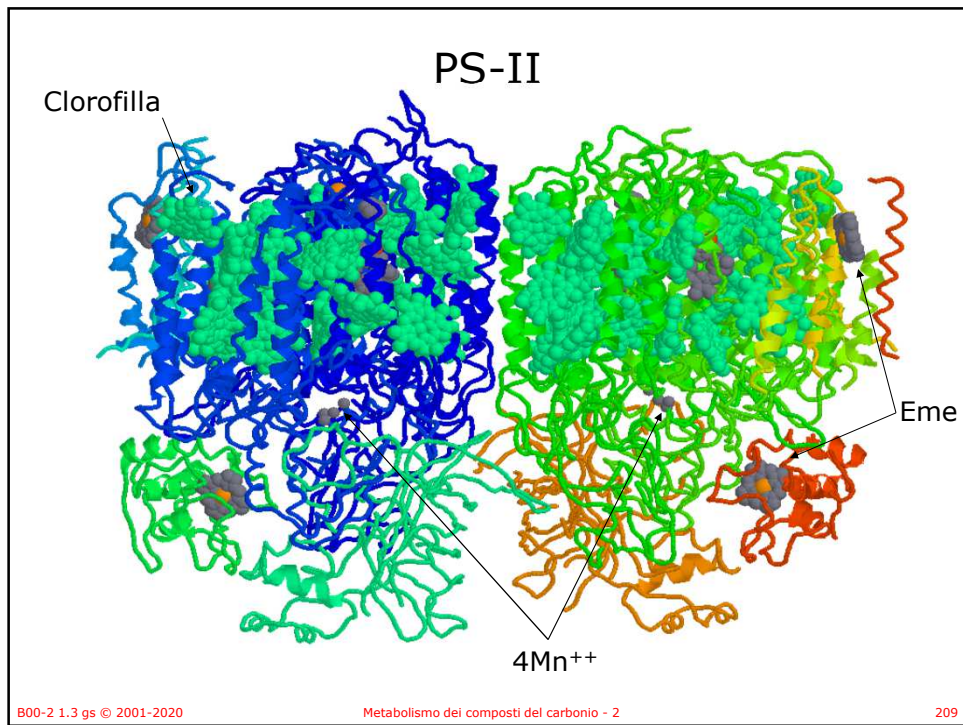
206



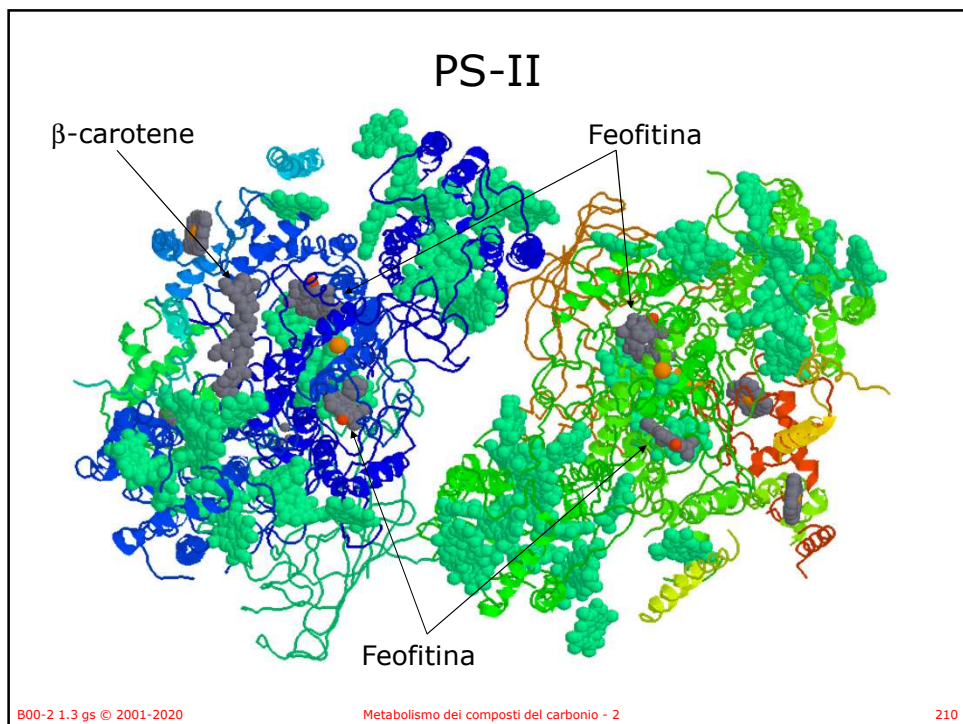
207



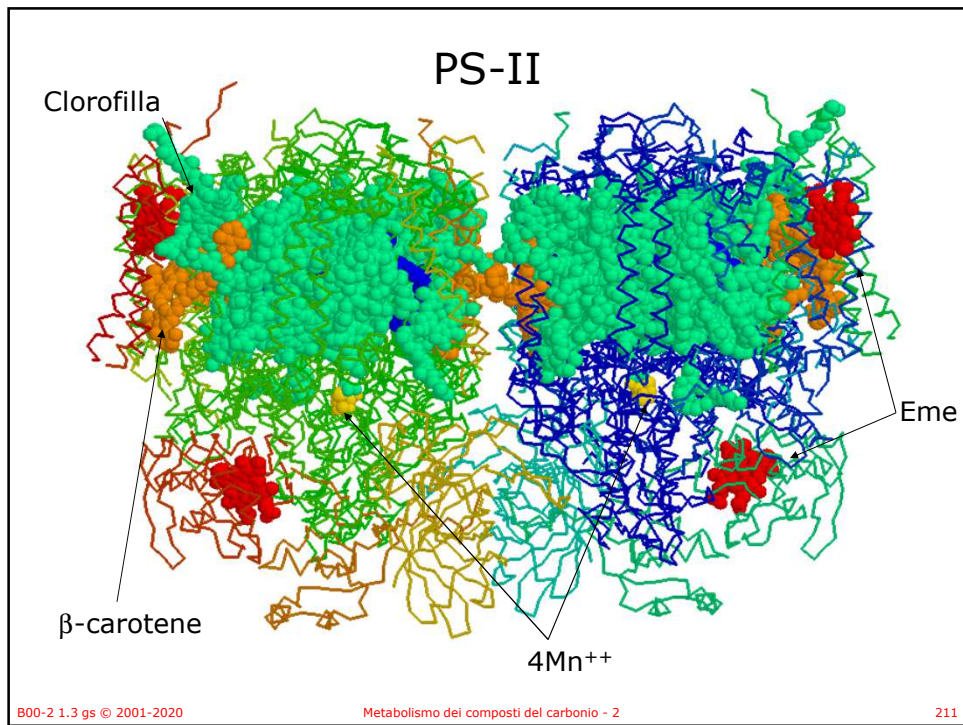
208



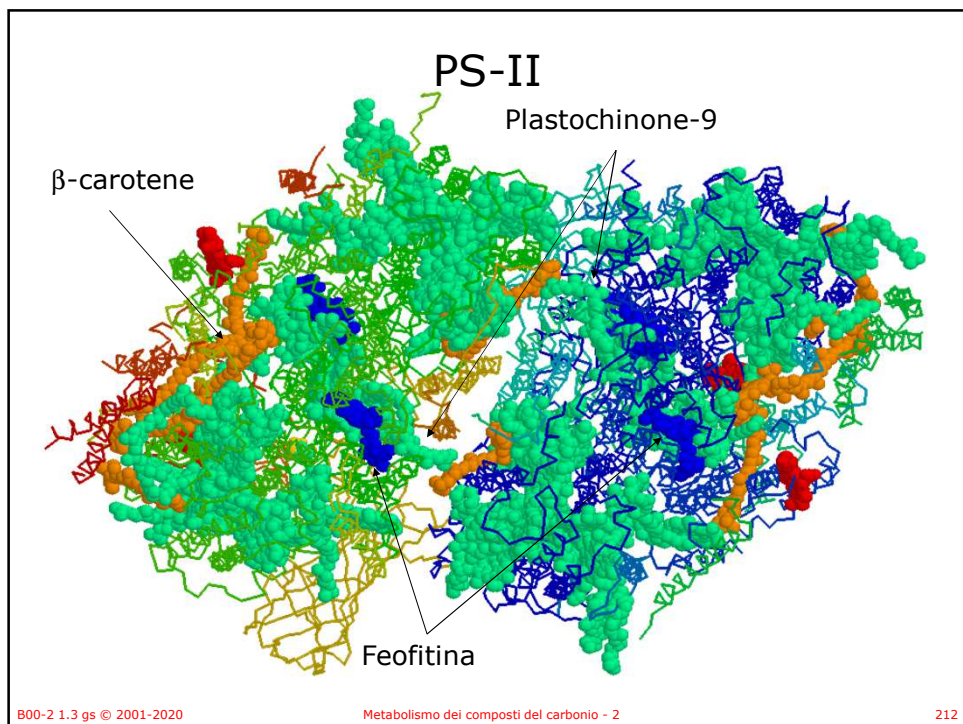
209



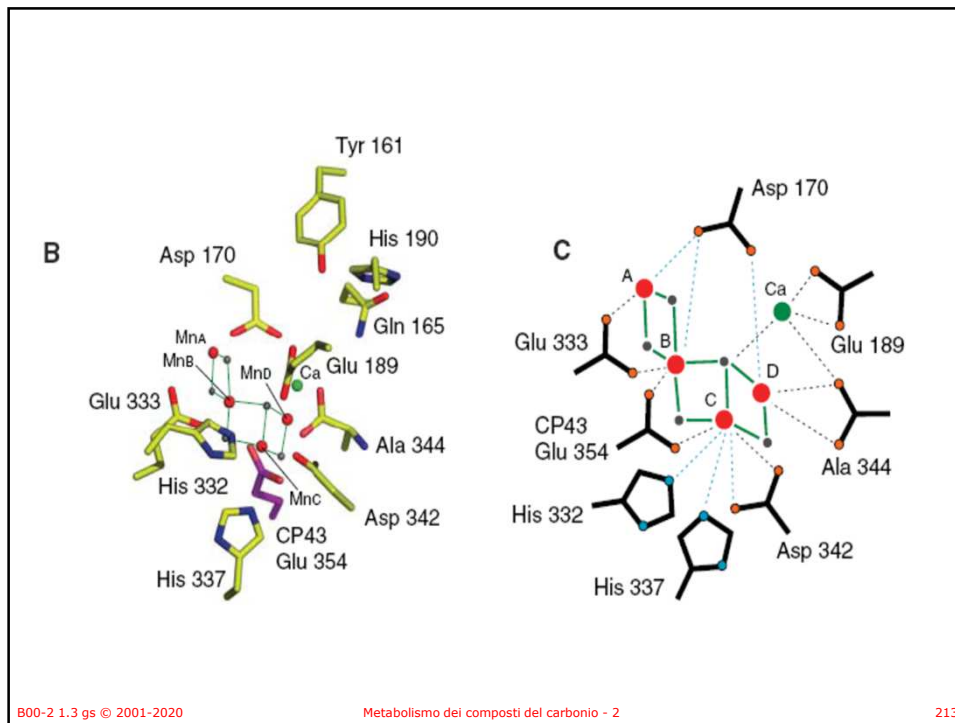
210



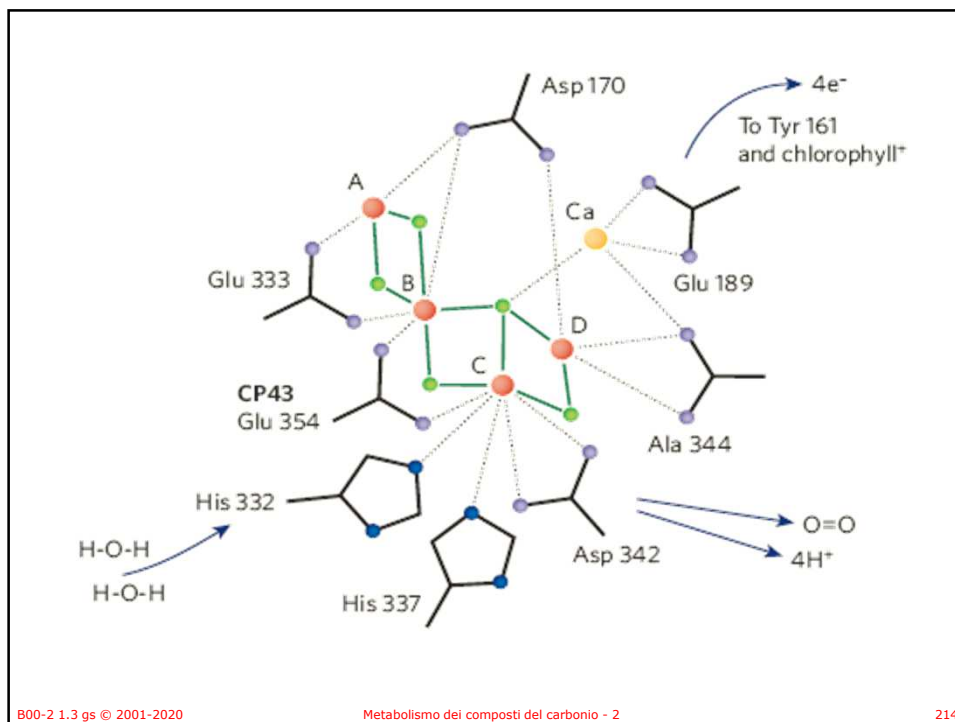
211



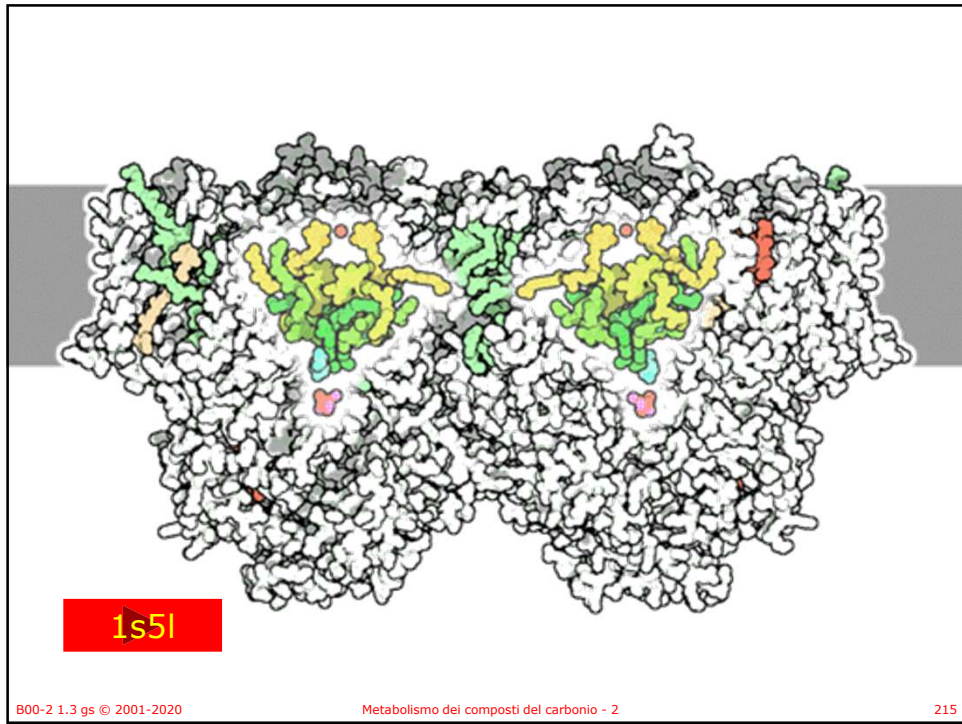
212



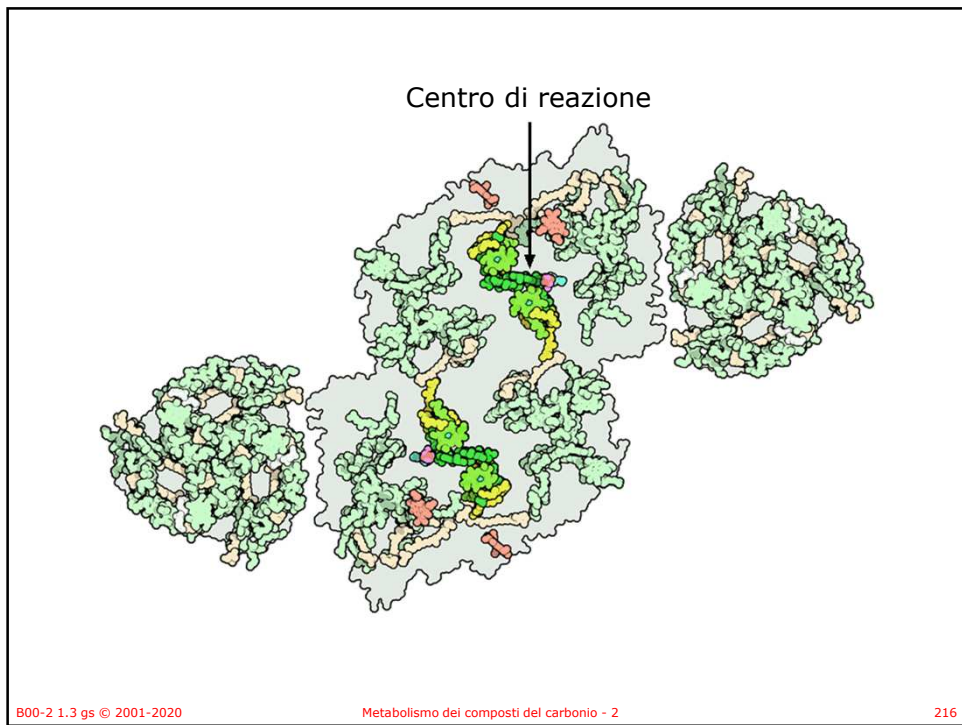
213



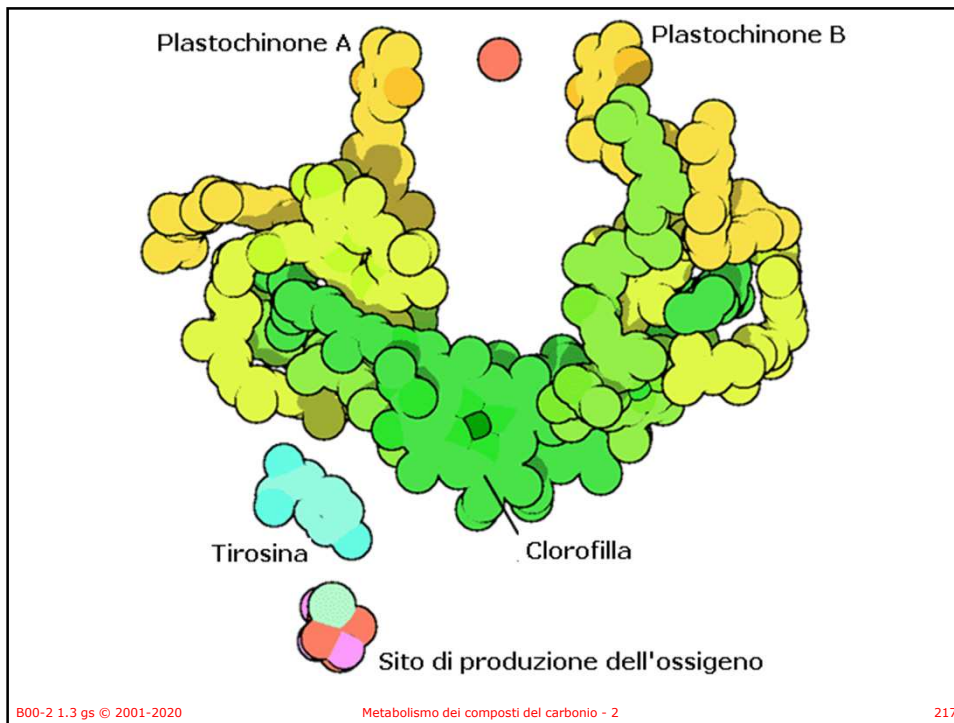
214



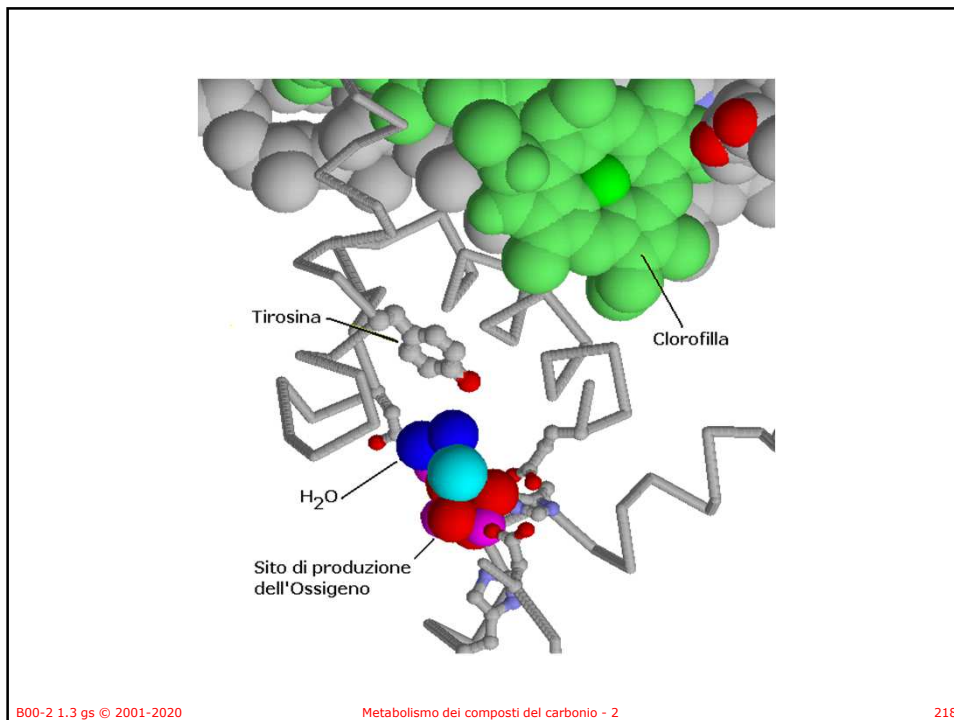
215



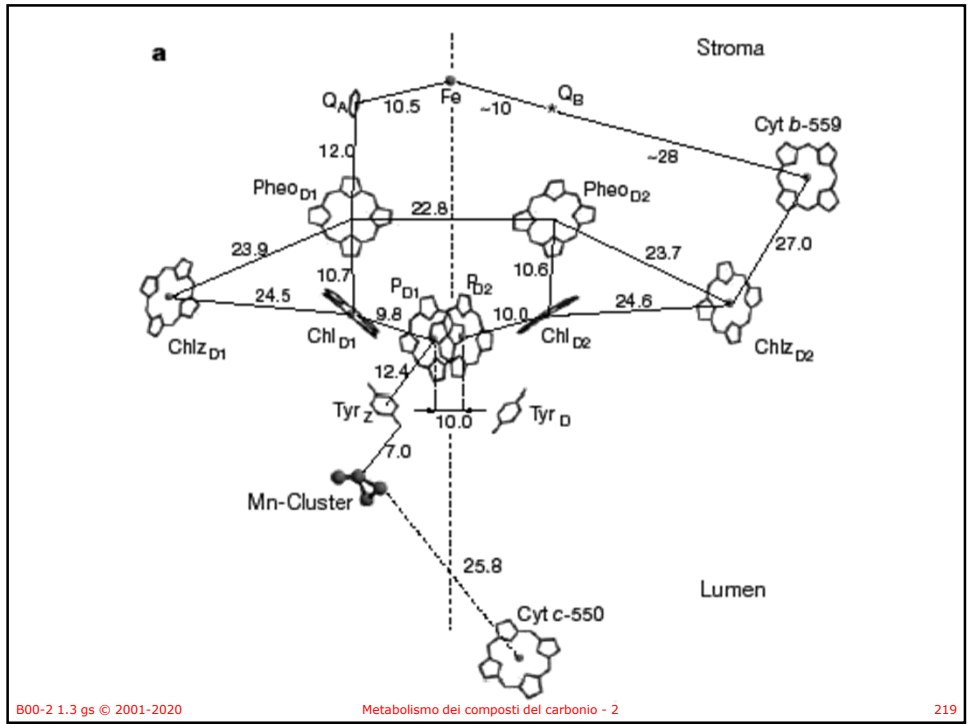
216



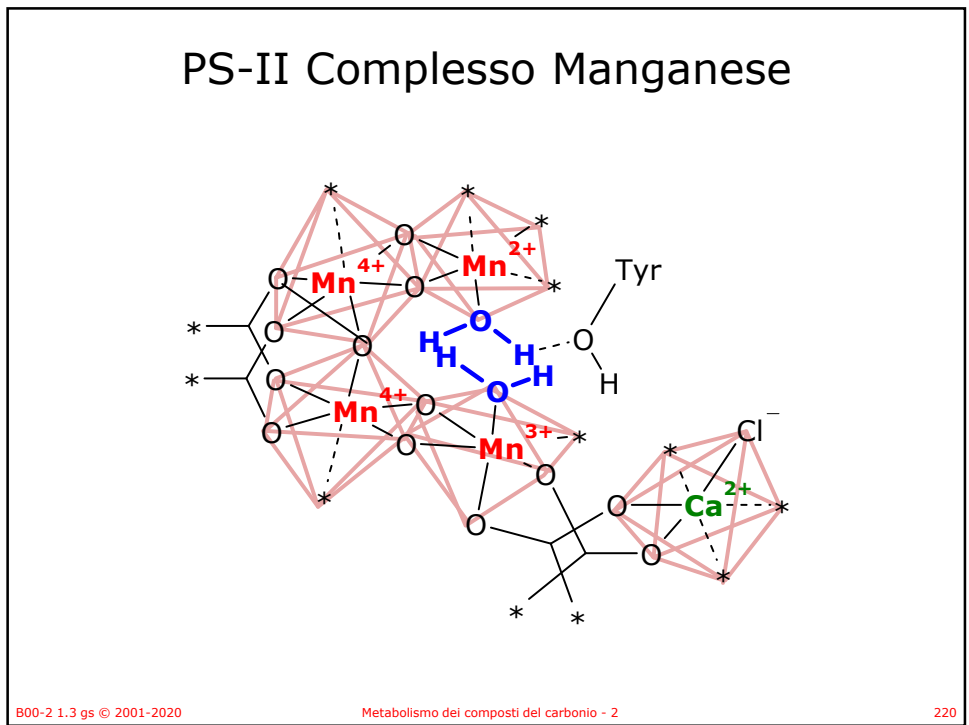
217



218



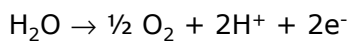
219



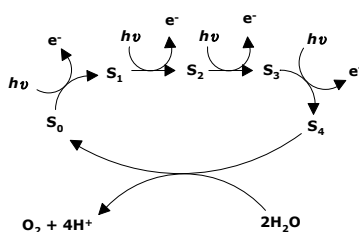
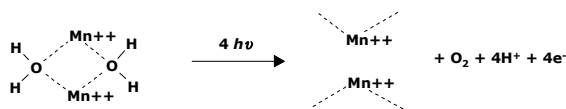
220

PS-II Complesso Manganese

- È il sito dove avviene la reazione:



- I due elettroni vengono trasportati al P680⁺ (attivato dal P680 per assorbimento di un fotone)



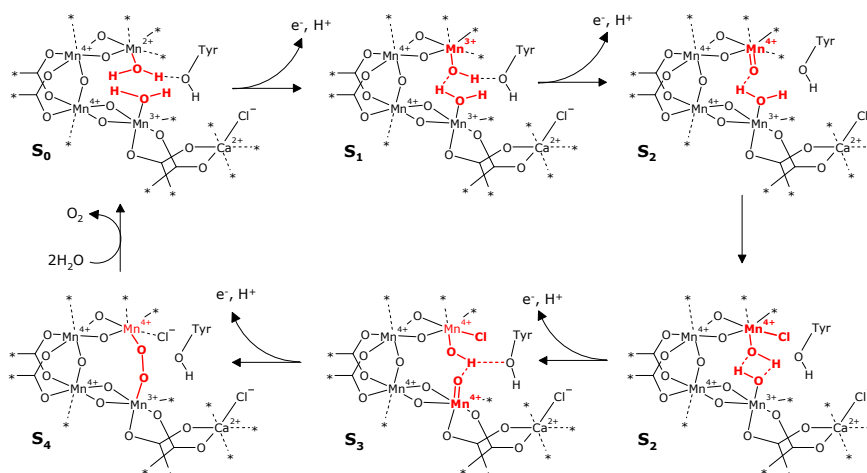
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

221

221

PS-II Complesso Manganese

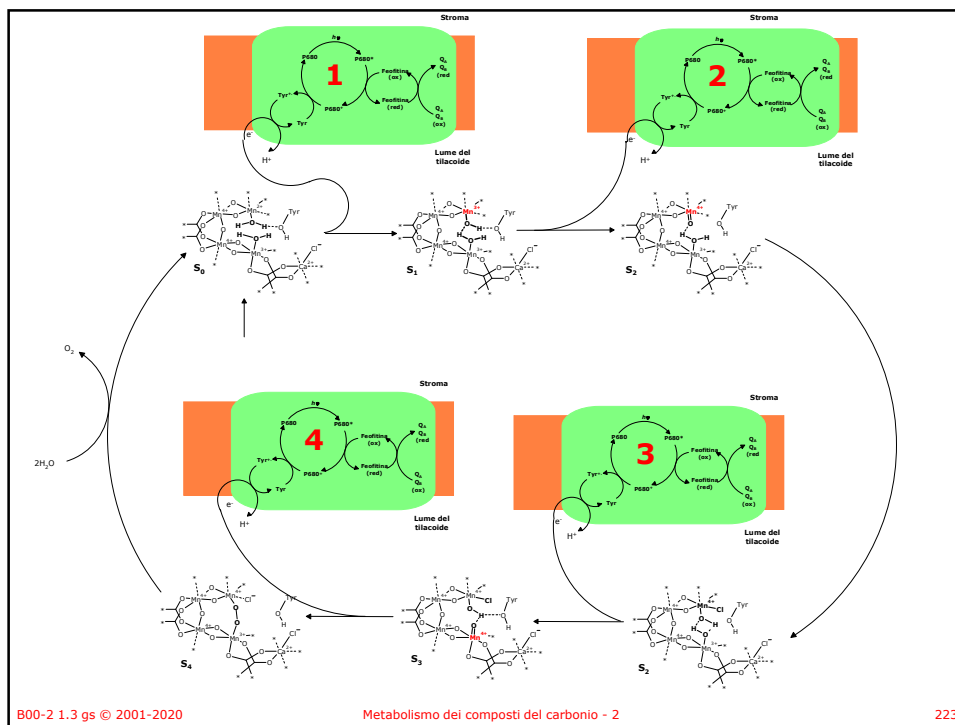


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

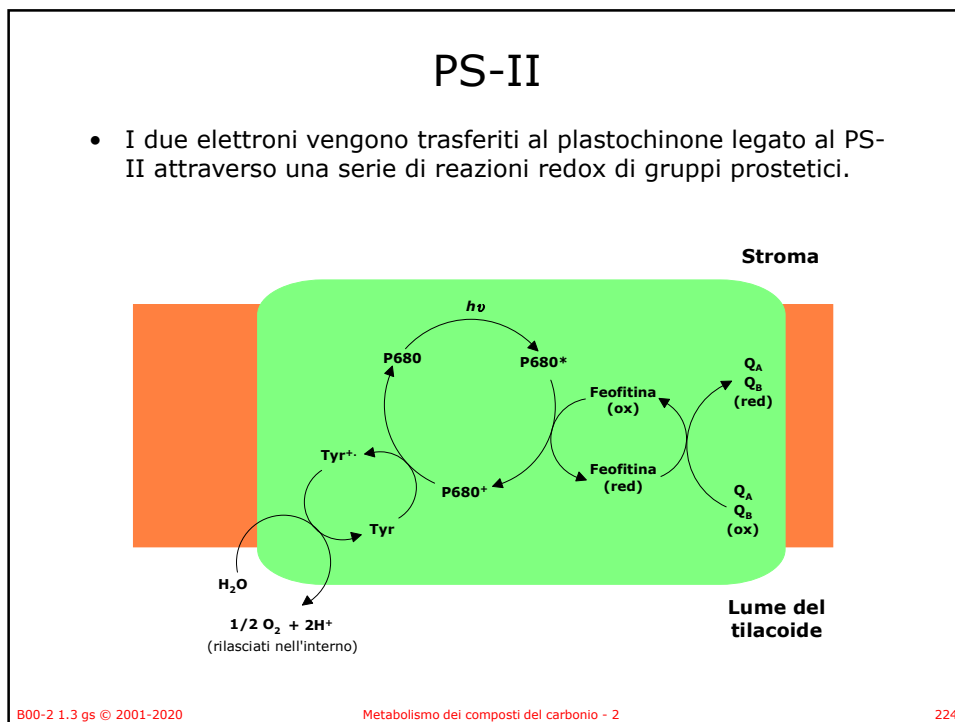
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

222

222

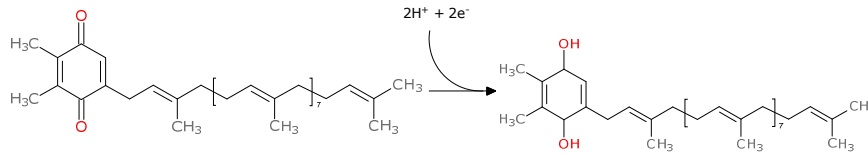


223



224

Plastochinone



- Il plastochinone 9 (nove unità isoprenoidi) è un trasportatore mobile di elettroni,
- Due molecole di plastochinone 9 (Q_A e Q_B) sono legati al PS-II e sono l'ultimo anello della catena redox interna al PS-II.
- Gli elettroni vengono quindi trasferiti al pool di plastochinone che funziona come il CoQ nei mitocondri:

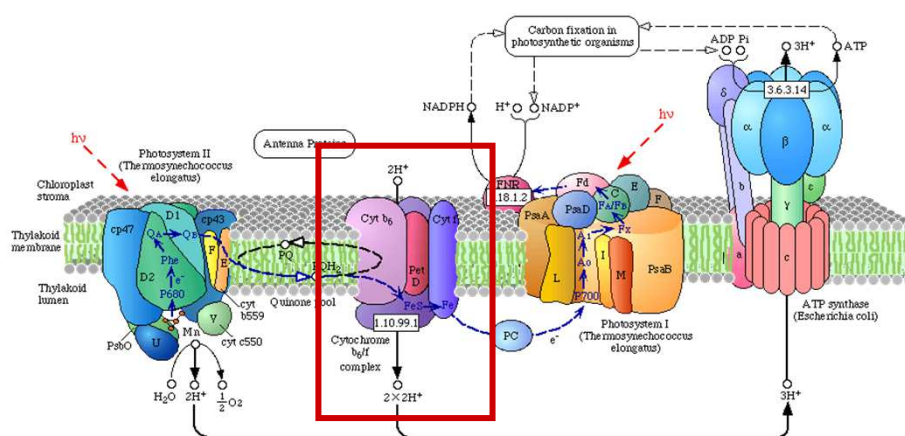
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

225

225

Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

226

226

Q cycle

• Il "Q cycle" è il meccanismo con il quale avviene la ossidoriduzione del CoQ e dipende da:

- La mobilità del CoQ nella membrana
- L'esistenza di un sito di legame che stabilizza il radicale semichinonico CoQ^{•-}.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 227

227

Q cycle

• Il CoQH₂ è legato al proprio sito nella proteina.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 228

228

Q cycle

2

- Il CoQH_2 cede un e^- al Fe^{+++} dell'eme b_L
- Si forma il semichinone carico negativamente
- 2 H^+ sono rilasciati nello spazio intermembrana.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 229

229

Q cycle

3a

- Un e^- passa dal Fe^{++} del gruppo eme b_H al Fe^{+++} del gruppo eme b_L .
- L' e^- va quindi a ridurre un CoQ ossidato (proveniente dal pool dei chinoni) a semichinone

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 230

230

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. It shows the intermembrane space (SPAZIO INTERMEMBRANA) at the top and the matrix (MATRICE) at the bottom. The cycle involves the following steps:

- Electron (e^-) transfer from Cyt b_L to Cyt b_H .
- Electron (e^-) transfer from Cyt b_H to the Fe-S center, which then transfers it to Cyt c_1 .
- Electron (e^-) transfer from Cyt b_L to ubiquinone (CoQ), which is reduced to ubiquinol (CoQH₂) in the matrix.
- Proton ($2H^+$) pumping from the matrix to the intermembrane space.

3b

- Un e^- passa dal Fe^{++} del gruppo eme b_H al Fe^{+++} del gruppo eme b_L .
- In alternativa (secondo le necessità) l' e^- va quindi a ridurre un CoQ^\cdot per riformare il $CoQH_2$ con due H^+ provenienti dalla matrice.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 231

231

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. It shows the intermembrane space (SPAZIO INTERMEMBRANA) at the top and the matrix (MATRICE) at the bottom. The cycle involves the following steps:

- Electron (e^-) transfer from Cyt b_L to Cyt b_H .
- Electron (e^-) transfer from Cyt b_H to the Fe-S center, which then transfers it to Cyt c_1 .
- Electron (e^-) transfer from Cyt b_L to ubiquinone (CoQ), which is reduced to ubiquinol (CoQH₂) in the matrix.
- Proton ($2H^+$) pumping from the matrix to the intermembrane space.

4

- Il CoQ^\cdot , formato per semiossidazione al passo 2, cede un e^- al Fe^{+++} del complesso Fe-S.
- Si forma il CoQ ossidato che va a confluire nel pool.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 232

232

Q cycle

5

- Il Fe^{2+} del complesso Fe-S cede un e^- al Fe^{3+} del cit c_1 legato alla proteina.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 233

233

Q cycle

6

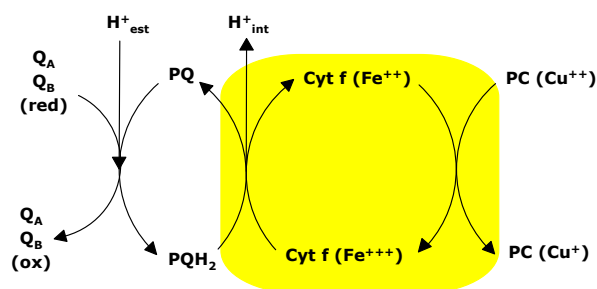
- Il Fe^{2+} del cit c_1 legato alla proteina cede un e^- al Fe^{3+} del cit c mobile.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 234

234

Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

- Gli elettroni provenienti dal pool dei chinoni vengono trasferiti al complesso Cyt b₆/f che contiene due gruppi eme: Cyt b₆ ($E'_0 = -0.06 \text{ V}$) e Cyt f ($E'_0 = +0.365 \text{ V}$).
- Gli elettroni vengono quindi convogliati alla plastocianina.
- In alcune situazioni il Cyt b₆ serve per "cortocircuitare" il P700* per produrre gradiente protonico aggiuntivo piuttosto che NADPH.



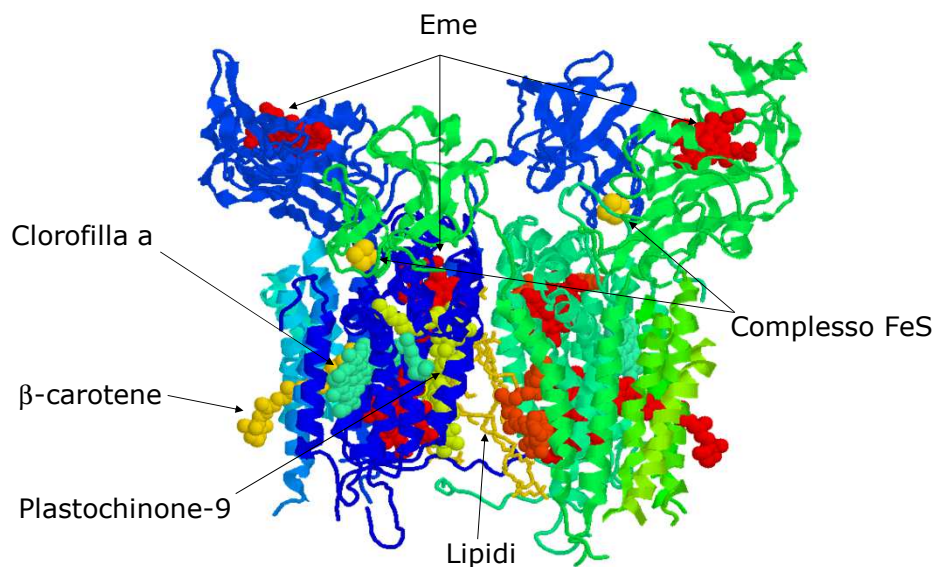
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

235

235

Complesso Cyt b - Cyt f (EC 1.10.99.1)

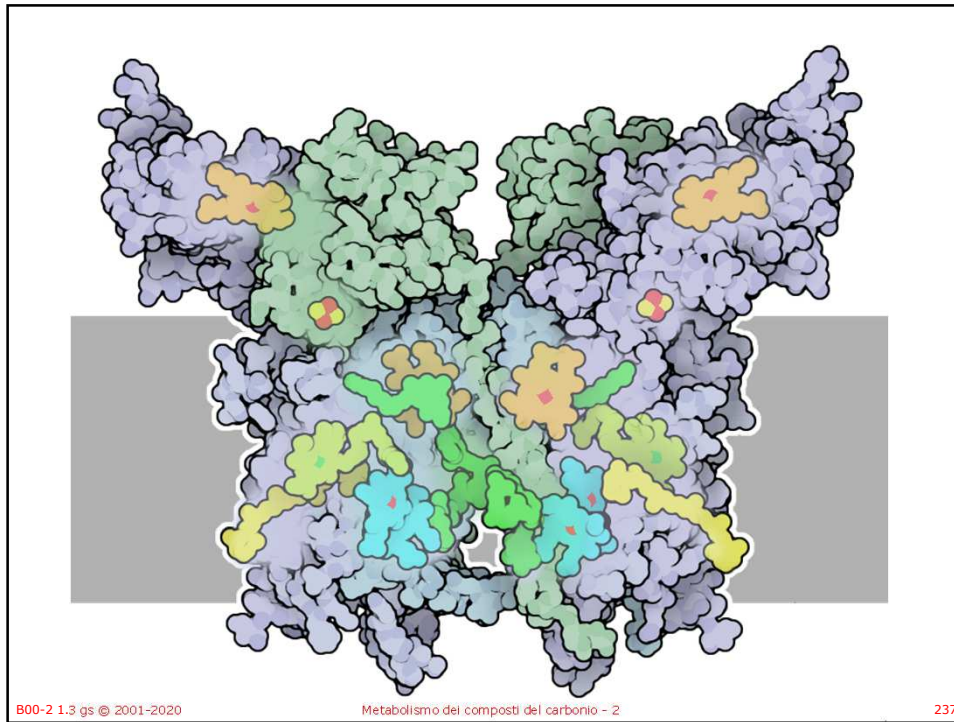


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

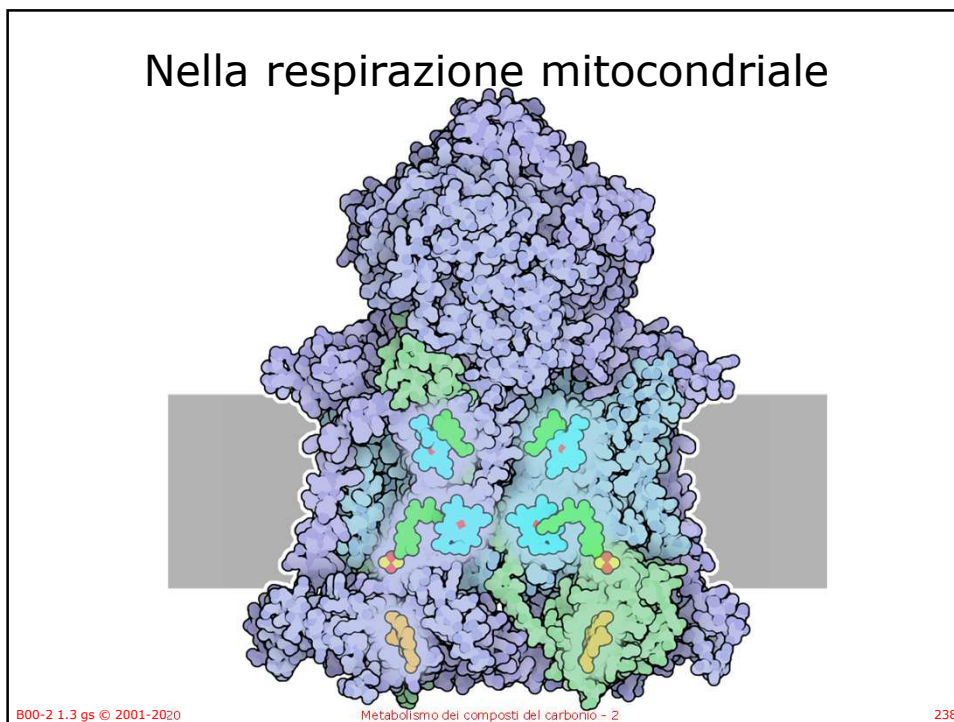
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

236

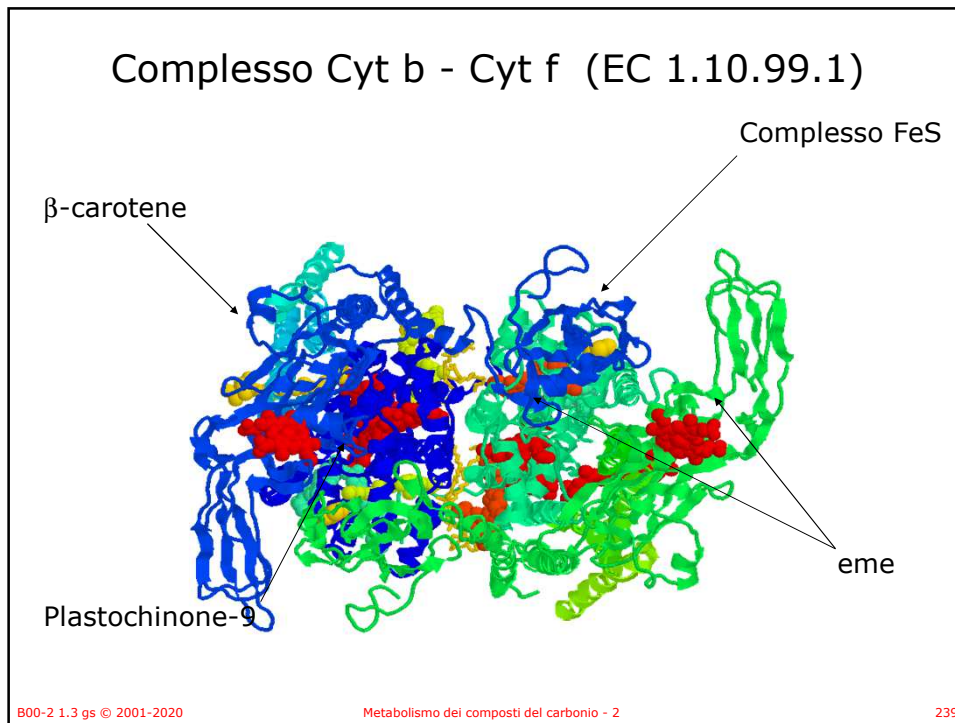
236



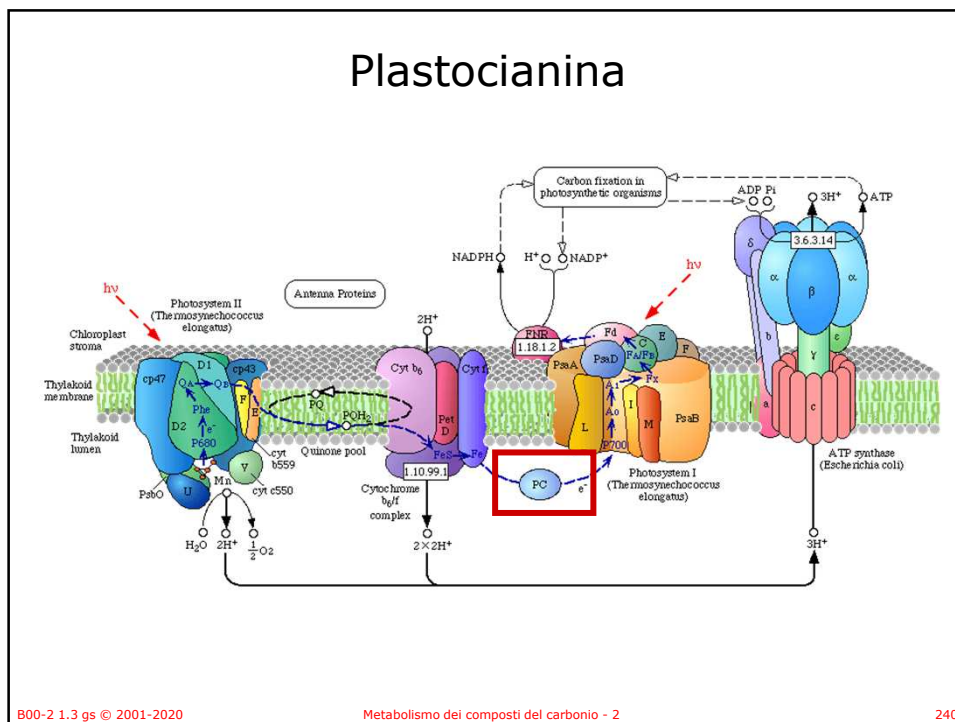
237



238



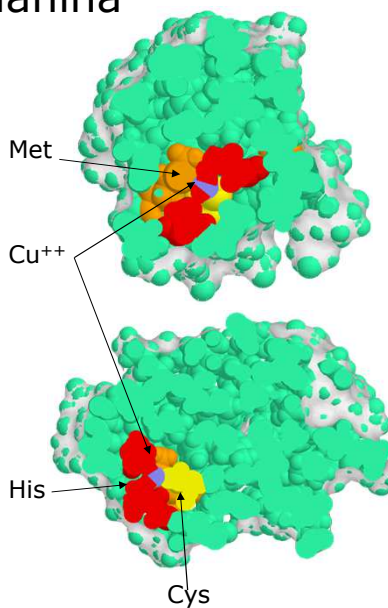
239



240

Plastocianina

- La plastocianina è un trasportatore mobile di elettroni (un elettrone per volta) simile al Cyt c nella catena respiratoria.
- L'elettrone viene trasportato dallo ione rame che si presenta nella forma ossidata (Cu^{++}) e ridotta (Cu^+).



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

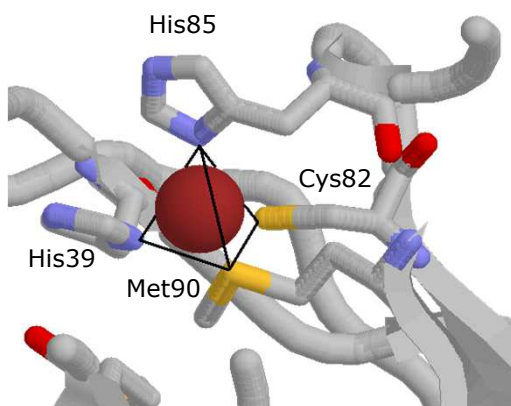
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

241

241

Plastocianina

- Lo ione rame è legato alla proteina da quattro legami di coordinazione (sp^3) che coinvolgono gli atomi di azoto di due residui di His adiacenti e gli atomi di zolfo di un residuo di Cys e di un residuo di Met.

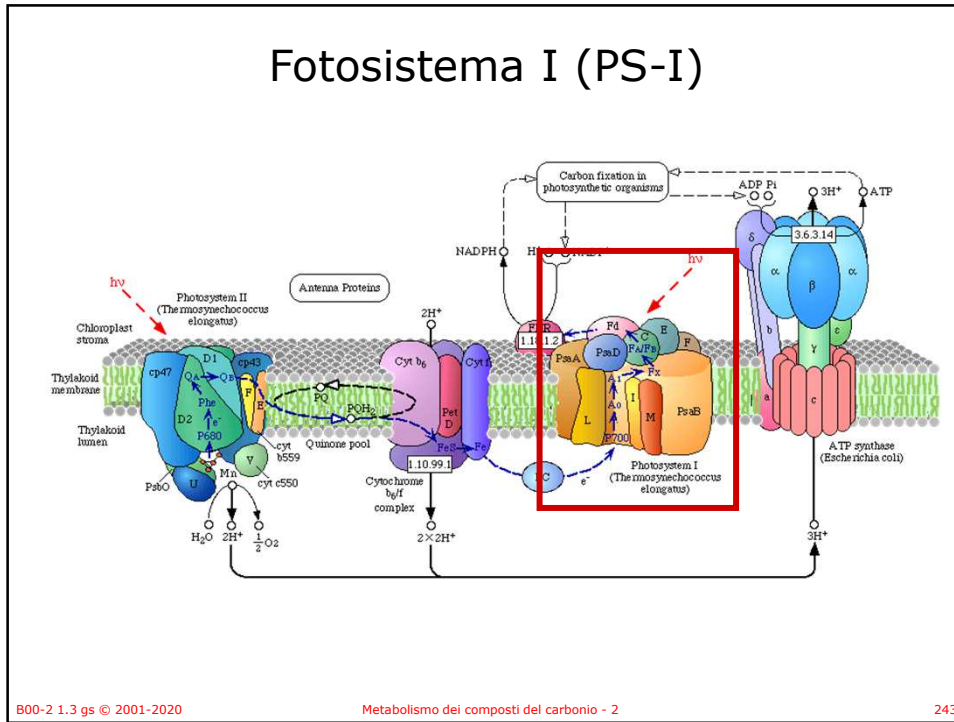


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

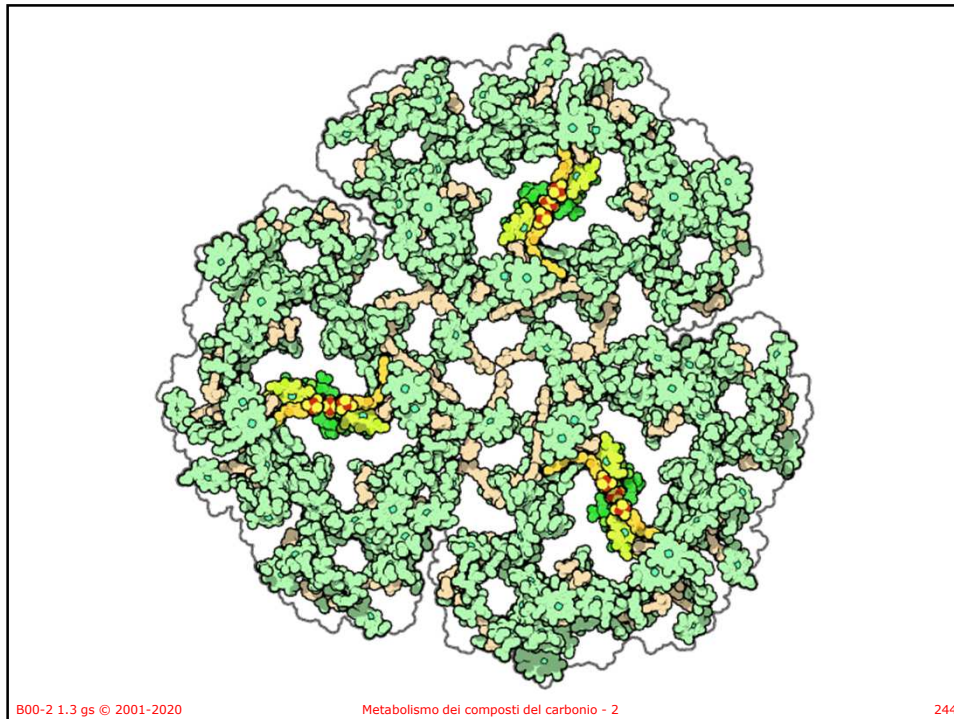
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

242

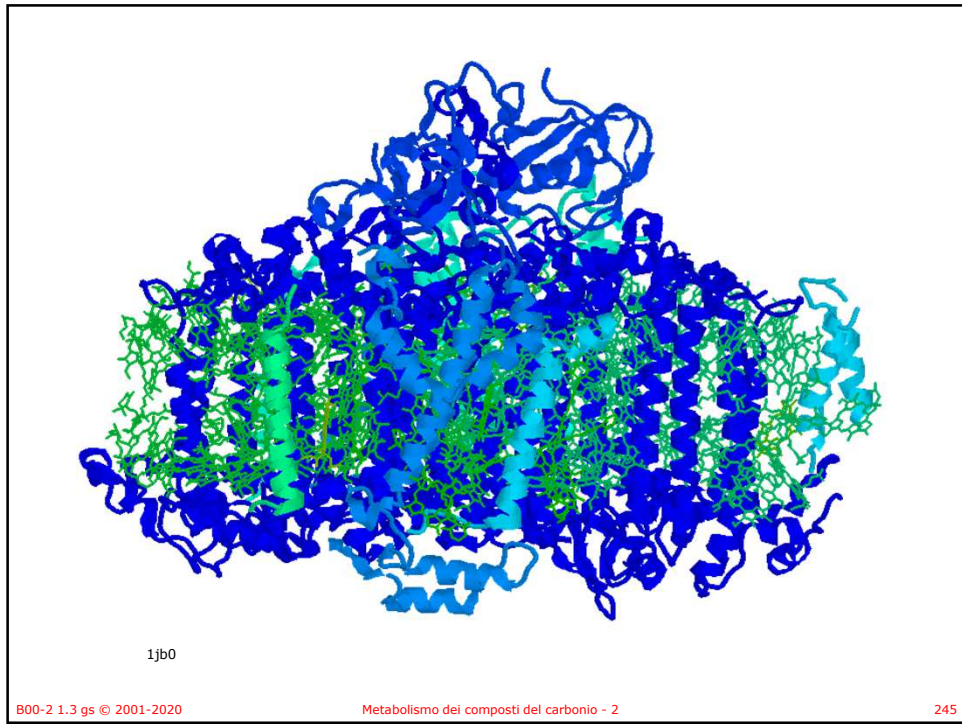
242



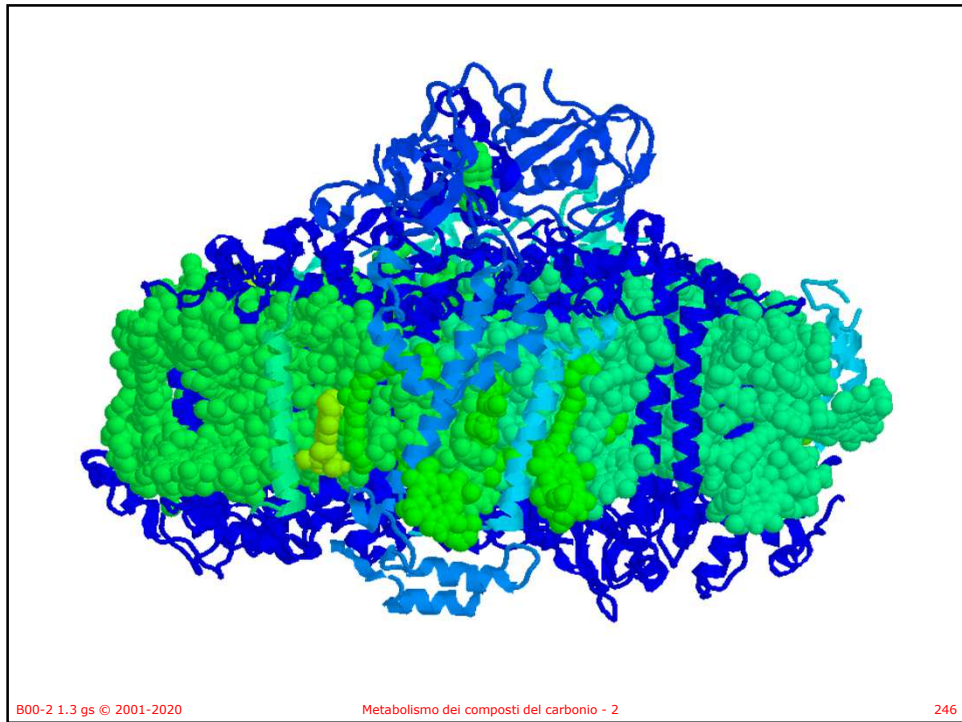
243



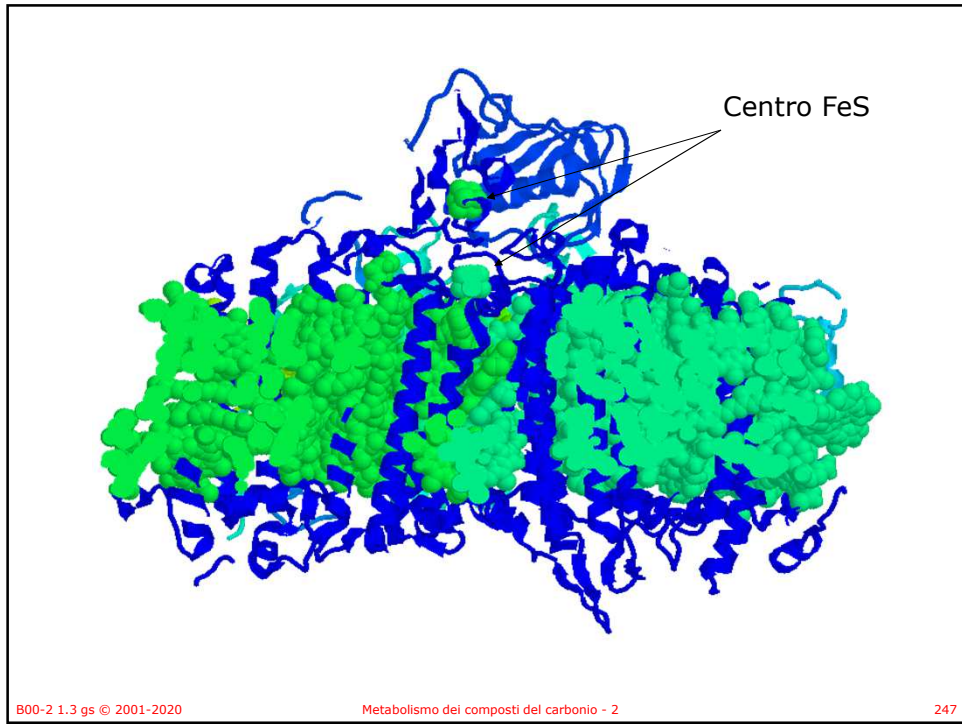
244



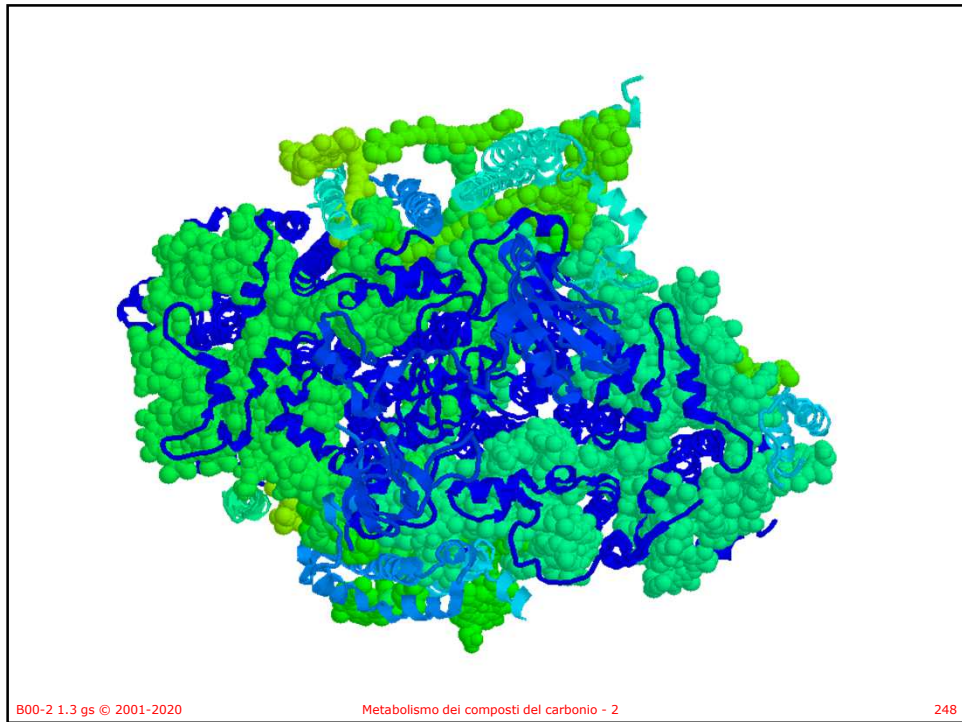
245



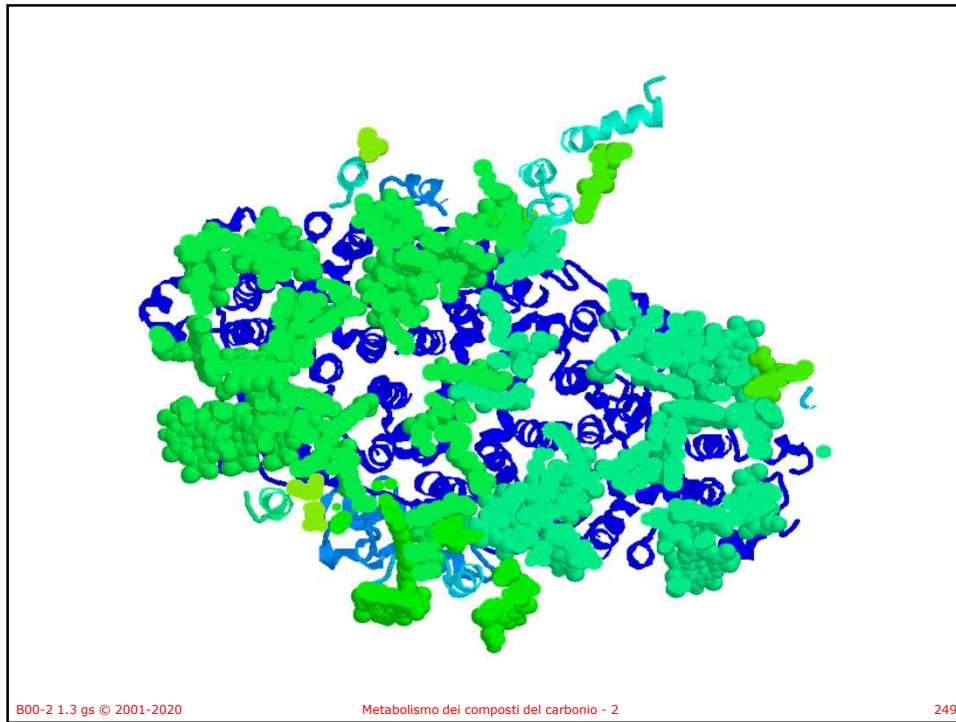
246



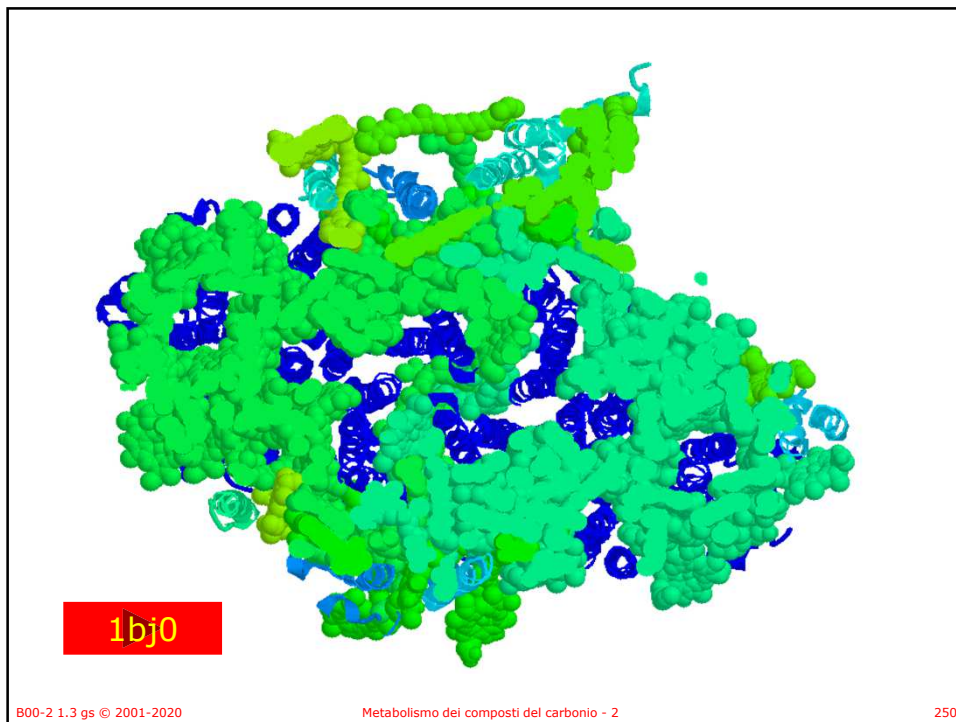
247



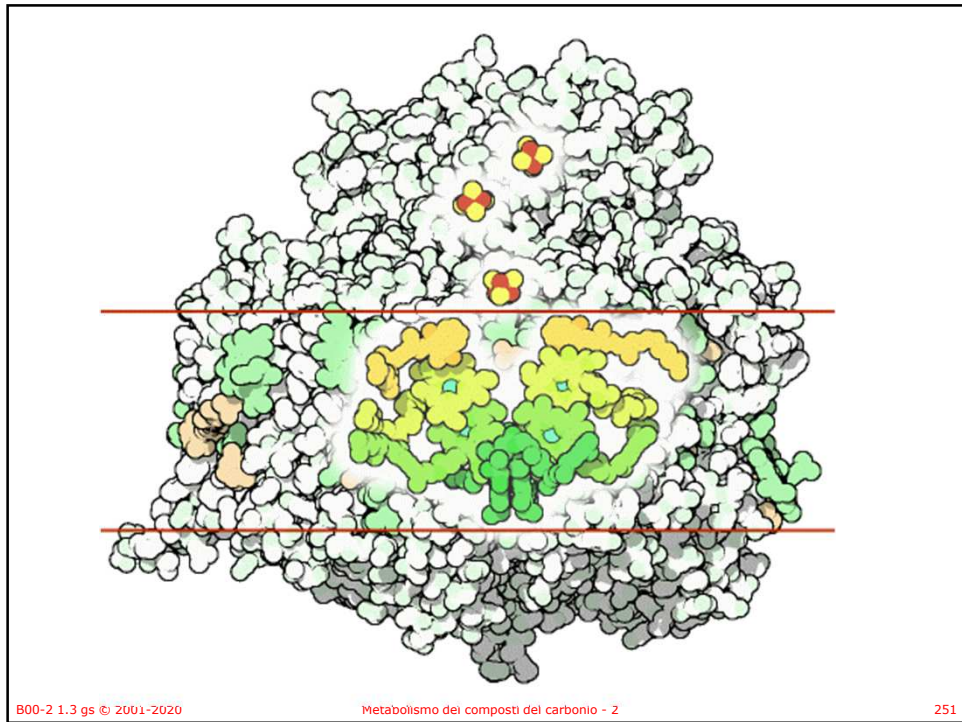
248



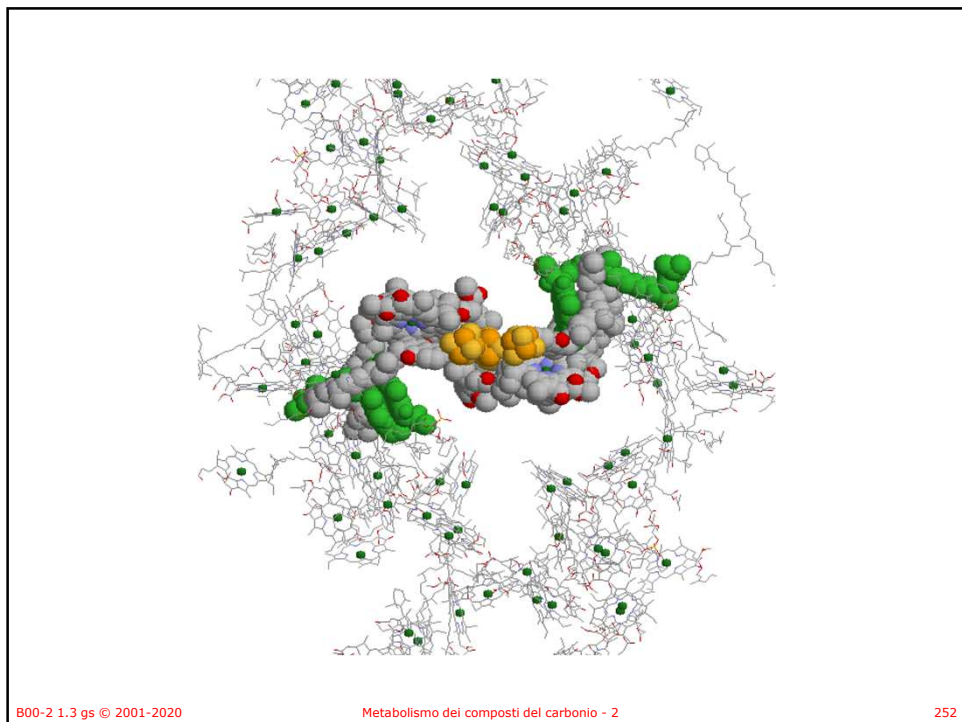
249



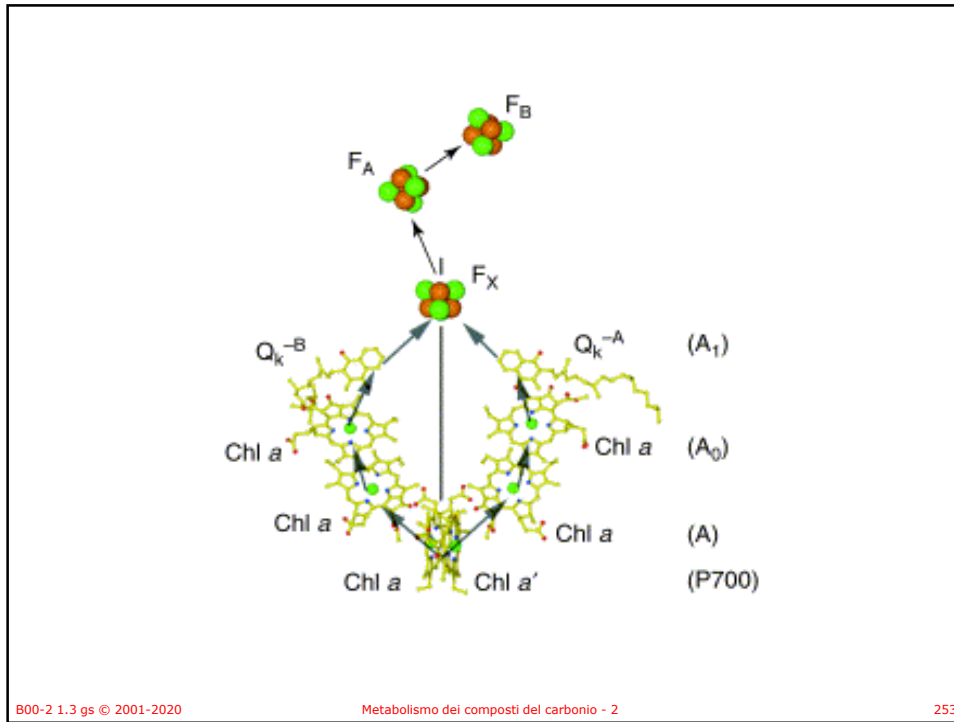
250



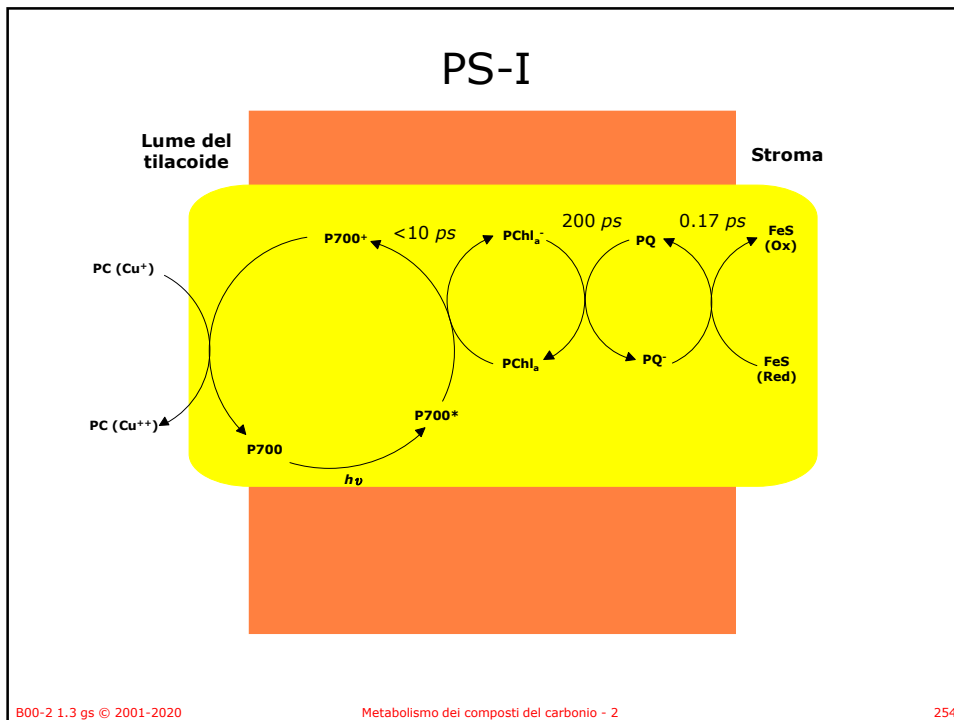
251



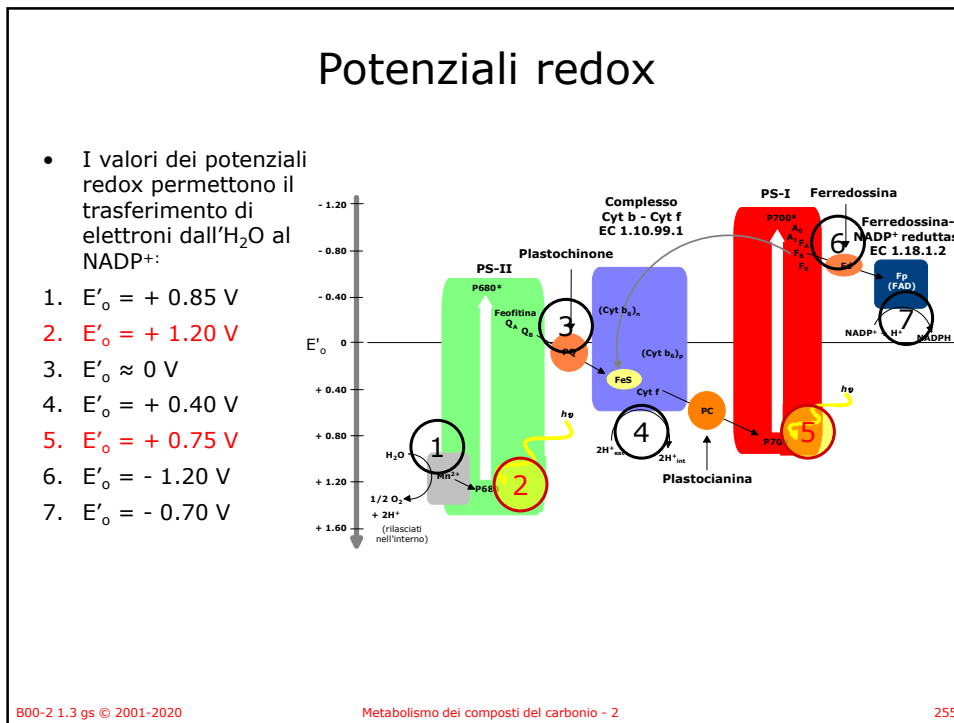
252



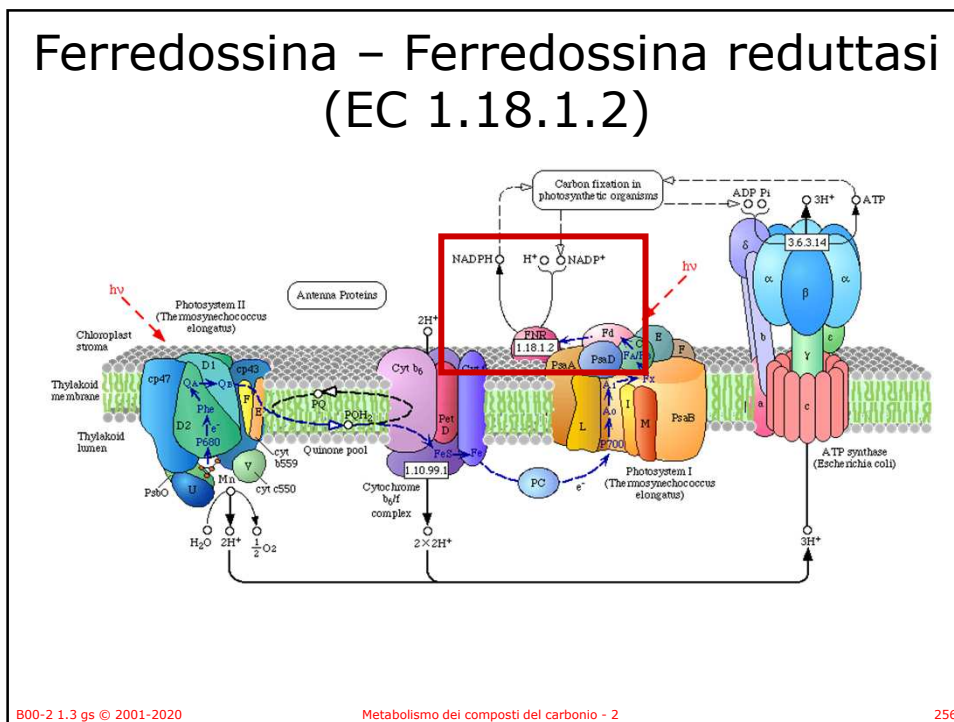
253



254



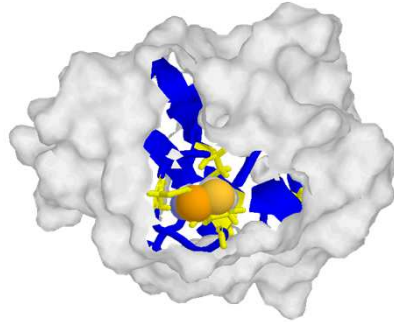
255



256

Ferredossina

- La ferredossina è un trasportatore mobile di elettroni che sfrutta la presenza di un cluster Fe_2S_2 .
- La ferredossina accetta un elettrone dal PS-I e lo trasferisce al NADP^+ .



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

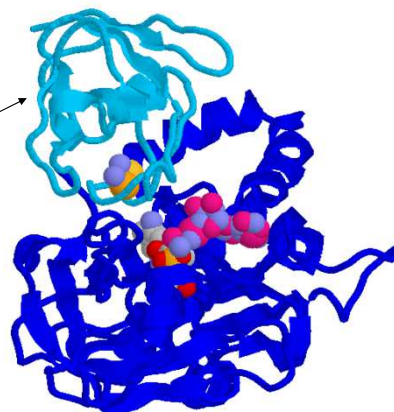
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

257

257

Ferredossina reduttasi (EC 1.18.1.2)

- Il trasferimento di elettroni dalla ferredossina al NADP^+ è catalizzato da una ferredossina-reduttasi.
- È una flavoproteina che lega la ferredossina correttamente orientata.
- Il FAD è convertito in FADH_2 .
- Gli elettroni sono quindi trasferiti al NADP^+ nello stroma.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

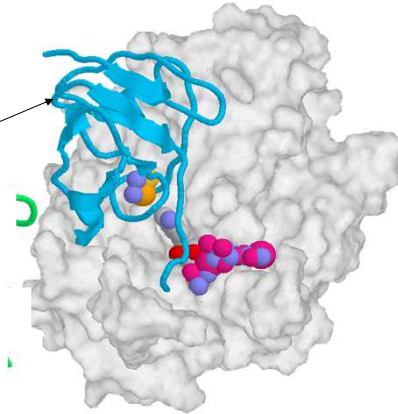
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

258

258

Ferredossina riduttasi (EC 1.18.1.2)

- Il trasferimento di elettroni dalla ferredossina al NADP^+ è catalizzato da una ferredossina-riduttasi.
- È una flavoproteina che lega la ferredossina correttamente orientata
- Il FAD è convertito in FADH_2 ,
- Gli elettroni sono quindi trasferiti al NADP^+ nello stroma.

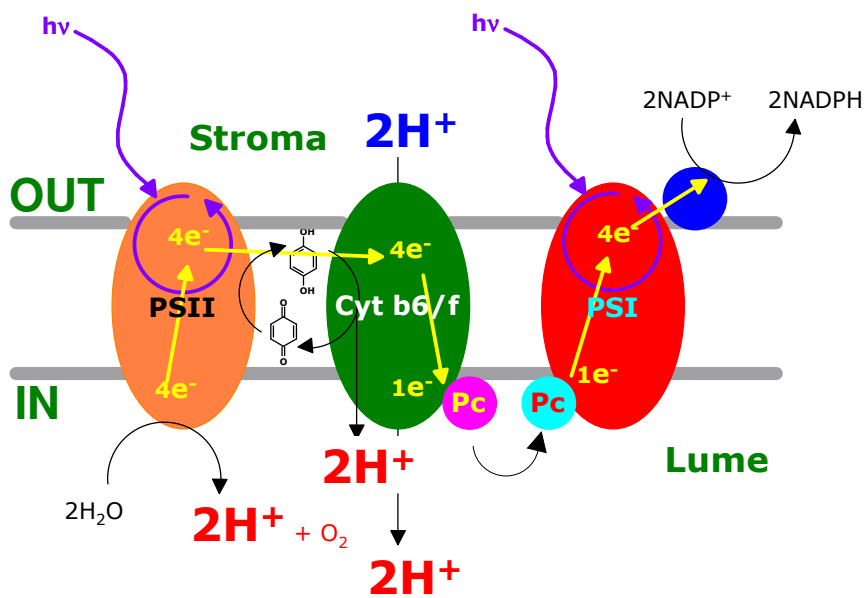


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

259

259



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

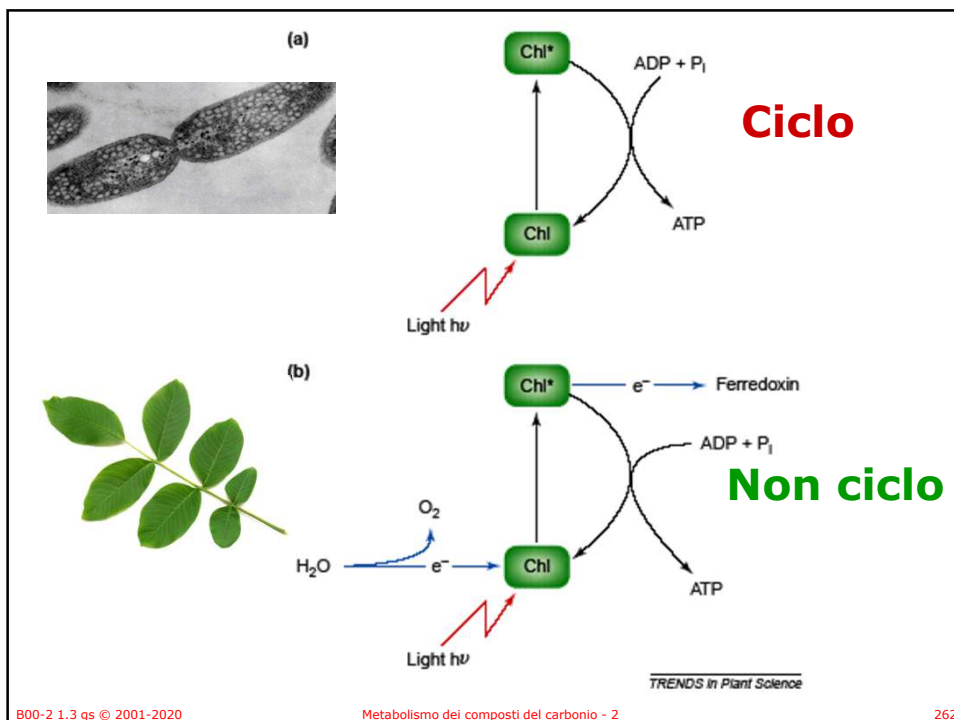
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

260

260



261



262

Fotosintesi in *Rhodobacter sphaeroides*

- *Rhodobacter sphaeroides* appartiene ad un gruppo di batteri rossi che ottengono energia dalla fotosintesi.
- Crescono alla luce in anaerobiosi (fototrofia) e come chemoeterotrofi in assenza di luce.
- Sono in grado di fissare l'azoto.



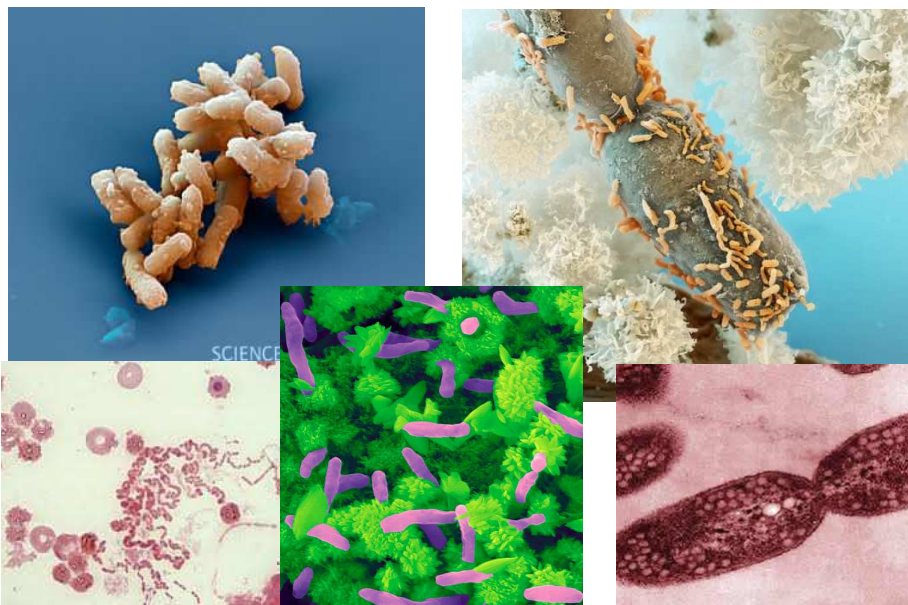
B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

263

263

Rhodobacter sphaeroides

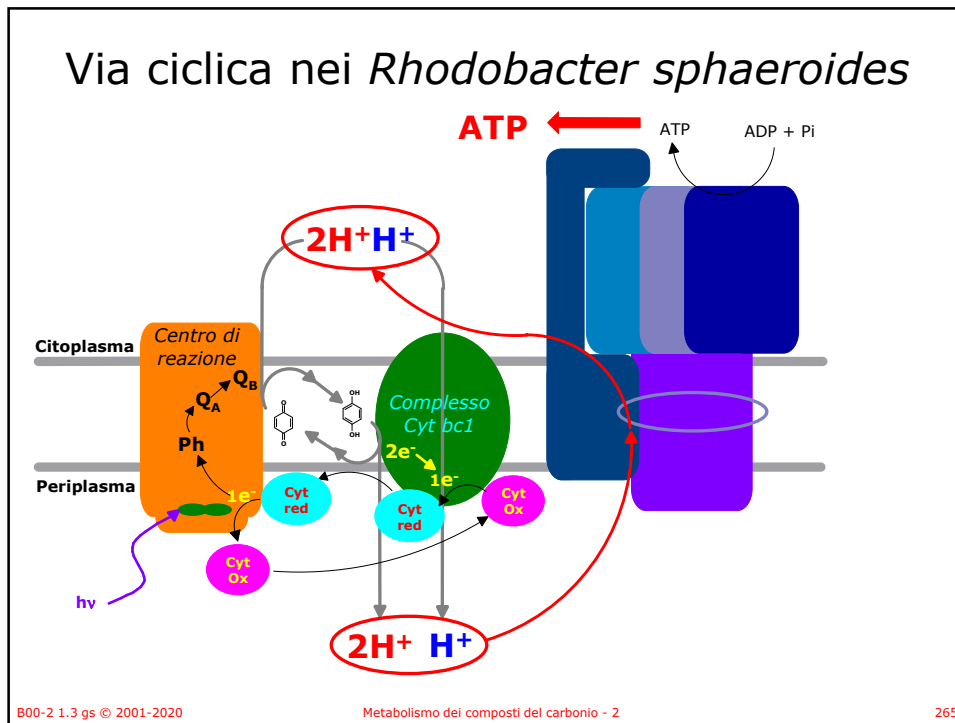


B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

264

264



265

Via fotosintetica non ciclica

$$2\text{H}_2\text{O} + 2\text{NADP}^+ \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{NADPH}$$

$$\text{H}_2\text{S} + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{S} + \text{H}^+ + \text{NADH}$$

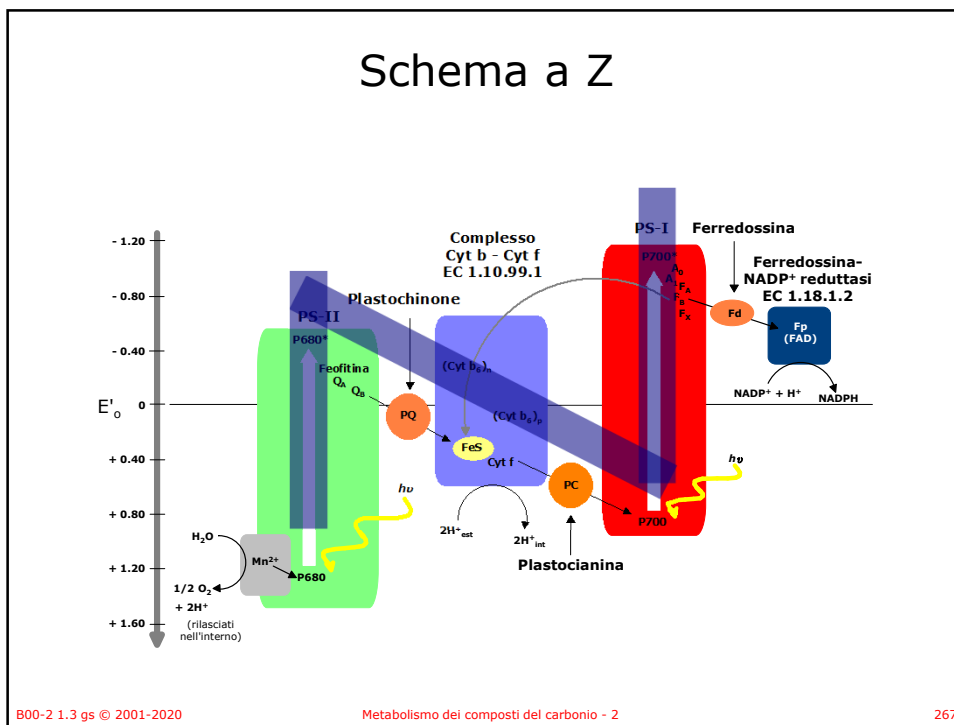
$$\text{H}_2 + \text{NAD}^+ \rightarrow \text{H}^+ + \text{NADH}$$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

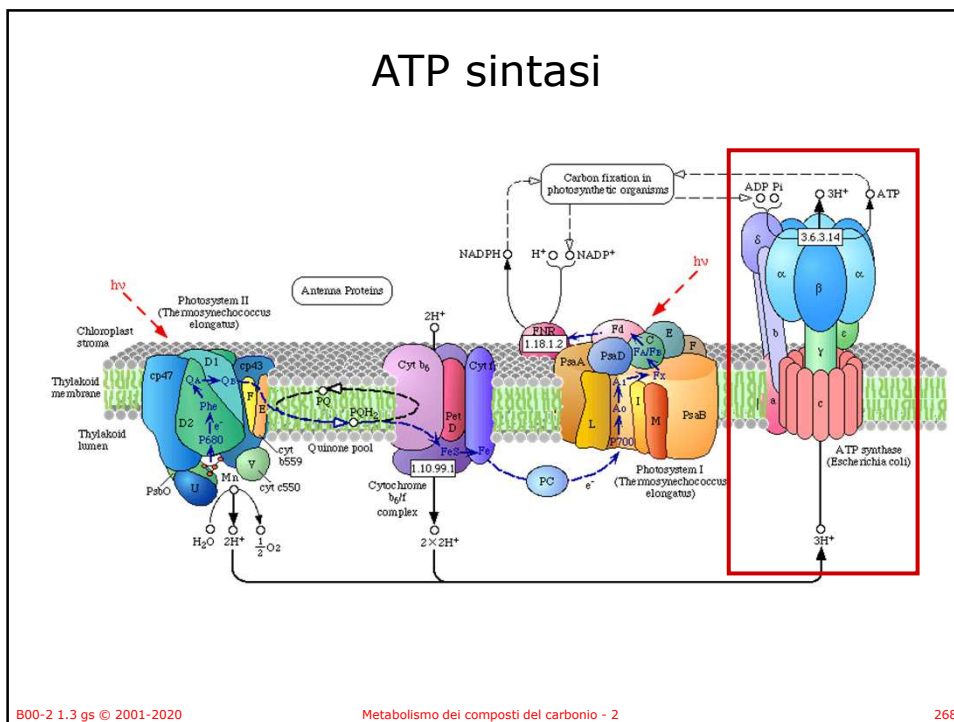
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

266

266



267



268

FASE BUIA

269

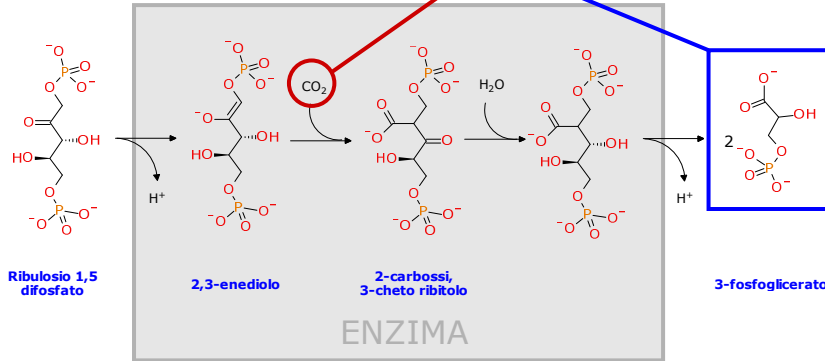
FASE BUIA

$\text{NADPH} + \text{ATP} + \text{CO}_2 \rightarrow \text{glucosio}$

270

Fissazione della CO₂

- Solo gli organismi fototrofi possono fissare la CO₂, gli animali, pur potendo legare la CO₂ in molecole più complesse, non sono in grado di accumulare composti organici da CO₂.
- Nelle piante e nei batteri fotosintetici la CO₂ viene convertita, in prima istanza, in 3-fosfoglicerato.



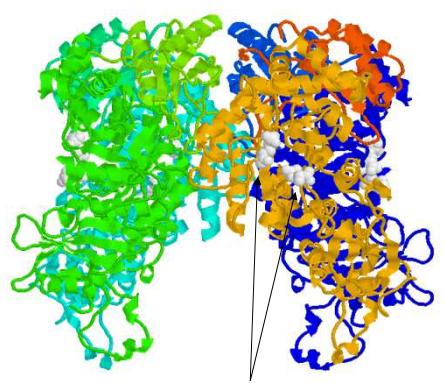
ENZIMA

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 271

271

Fissazione della CO₂

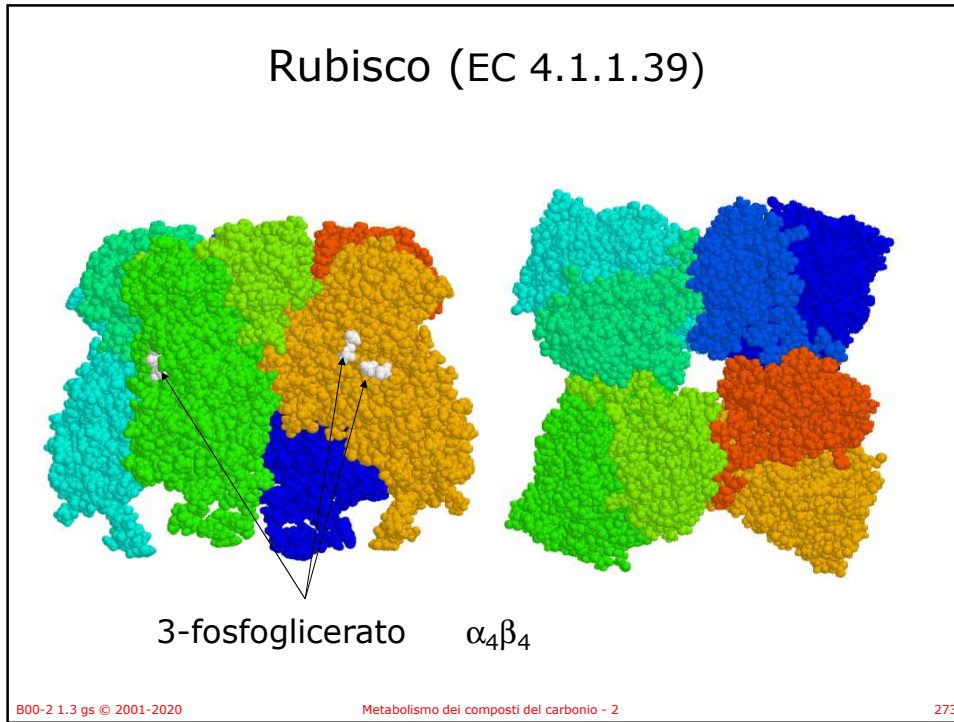
- Queste reazioni sono catalizzate dall'enzima: D-ribuloso 1,5-difosfato carbossilasi (EC 4.1.1.39), RUBISCO.
- Un enzima stromale dal peso molecolare di 550kD ($\alpha_8\beta_8$).
- Si ritiene che sia l'enzima maggiormente presente sulla terra.
- Responsabile della selezione isotopica.



3-fosfoglicerato
 $\alpha_4\beta_4$

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 272


272



273

Ciclo di Calvin-Benson

"for his research on the carbon dioxide assimilation in plants"

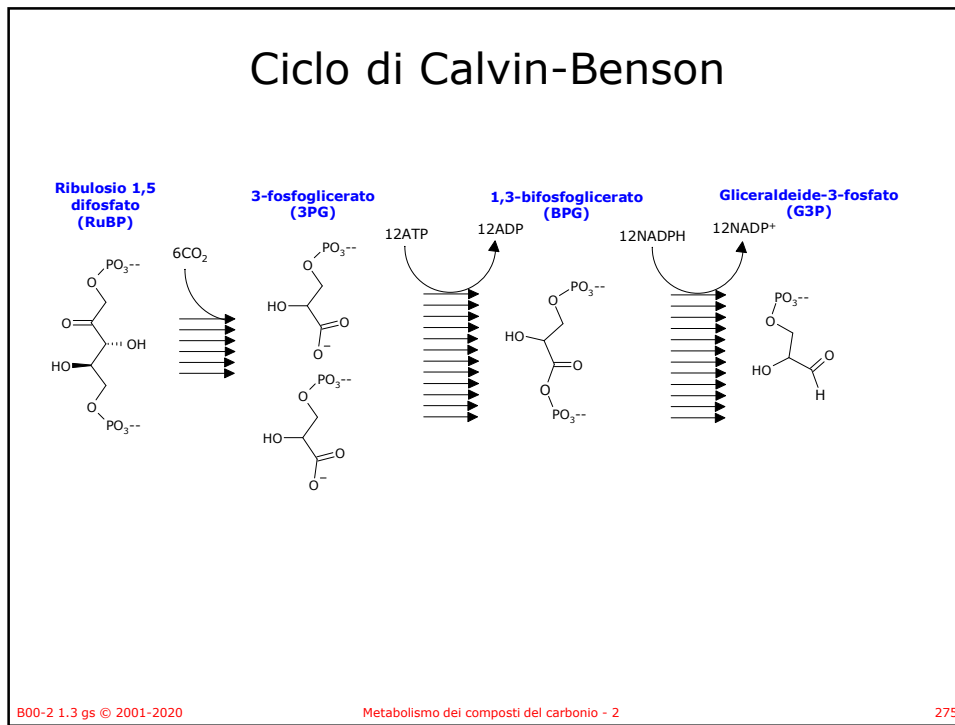


The Nobel Prize in Chemistry 1961

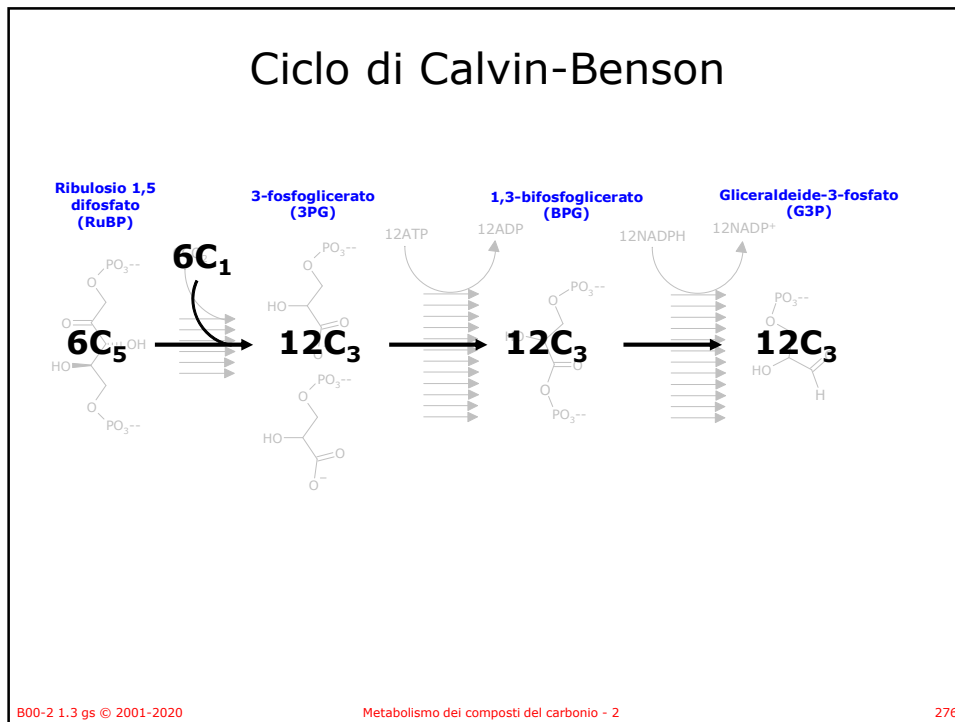
Melvin Calvin

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 274

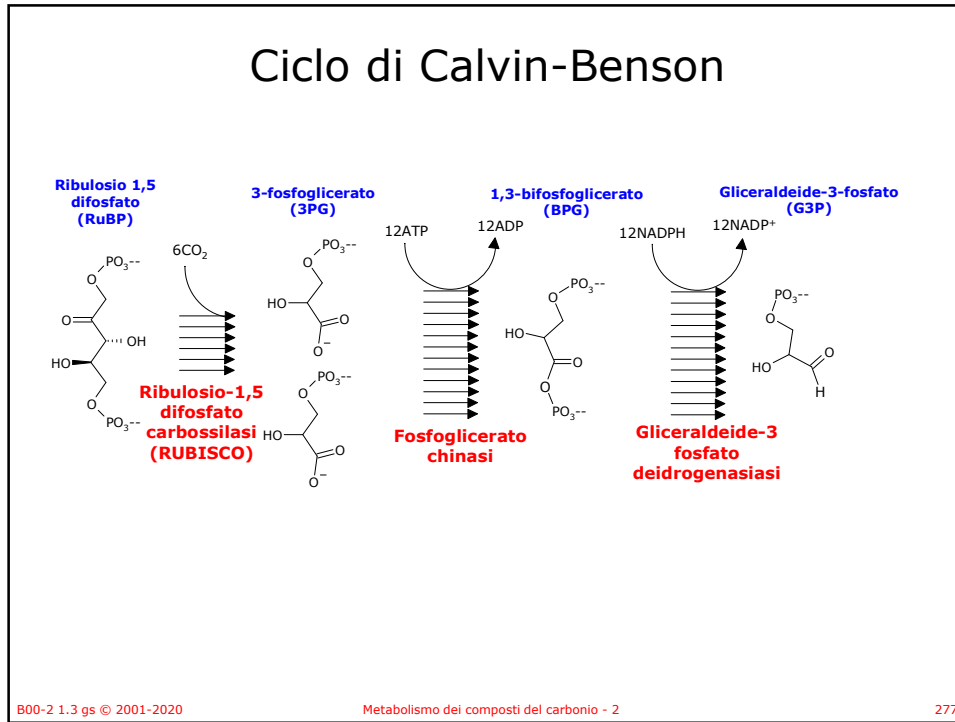
274



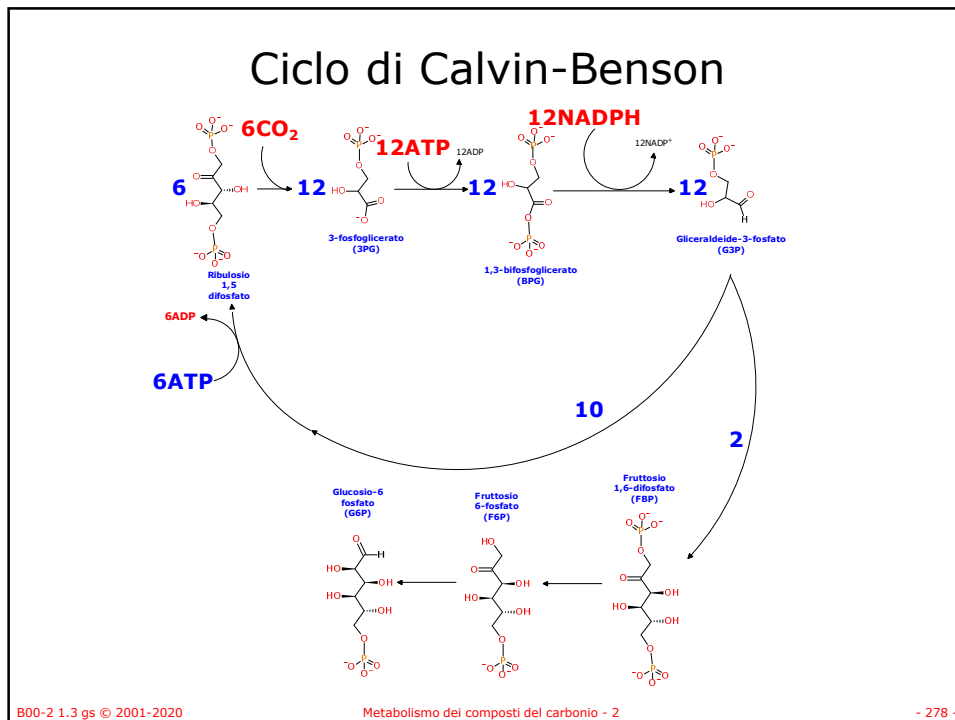
275



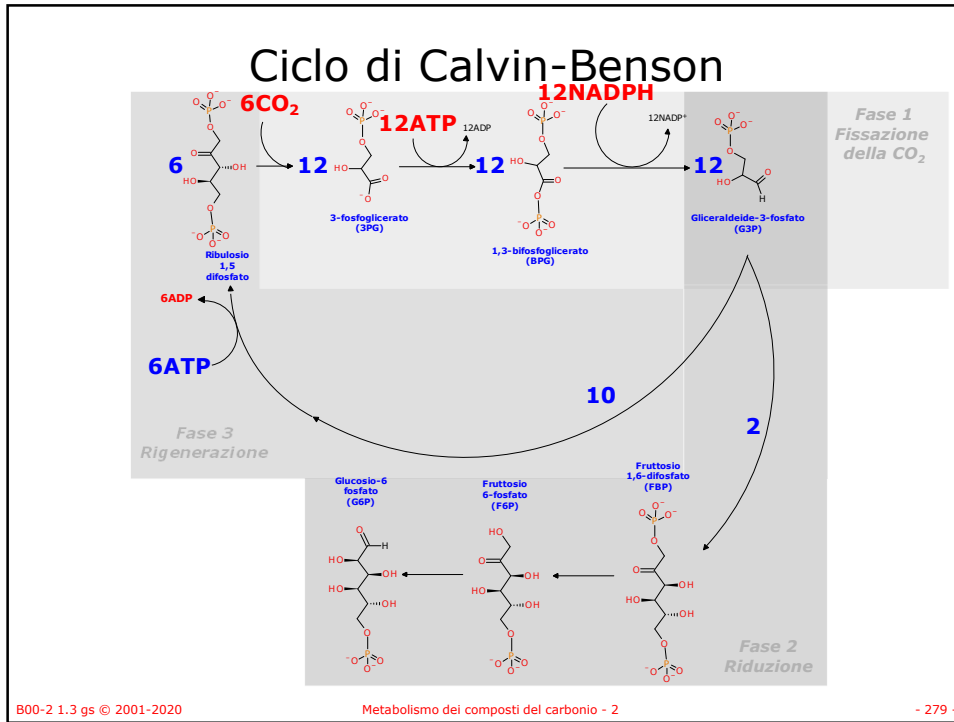
276



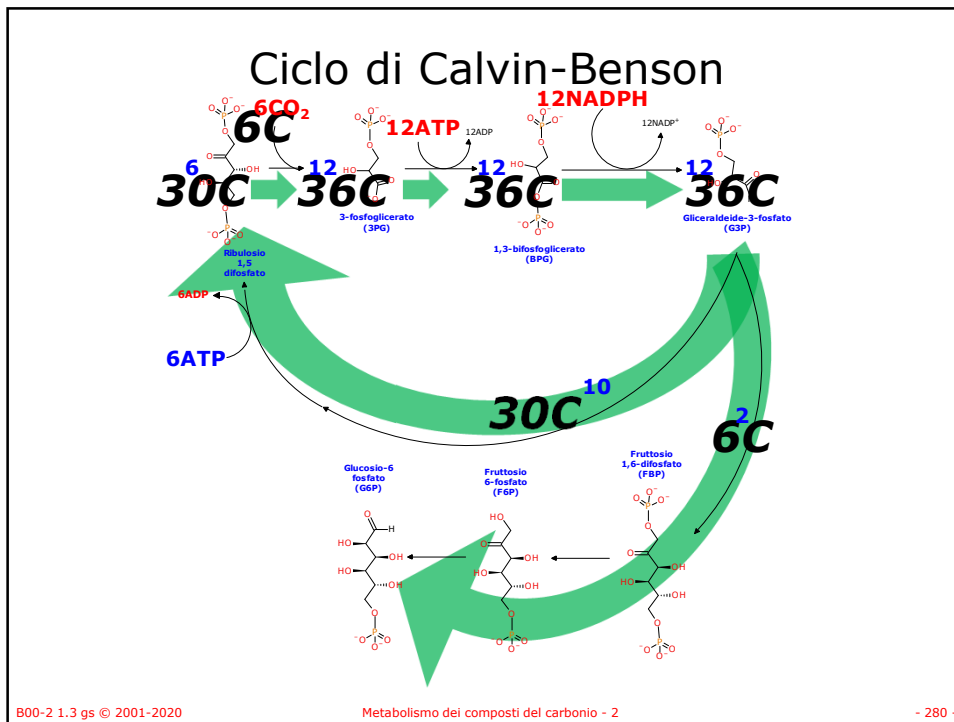
277



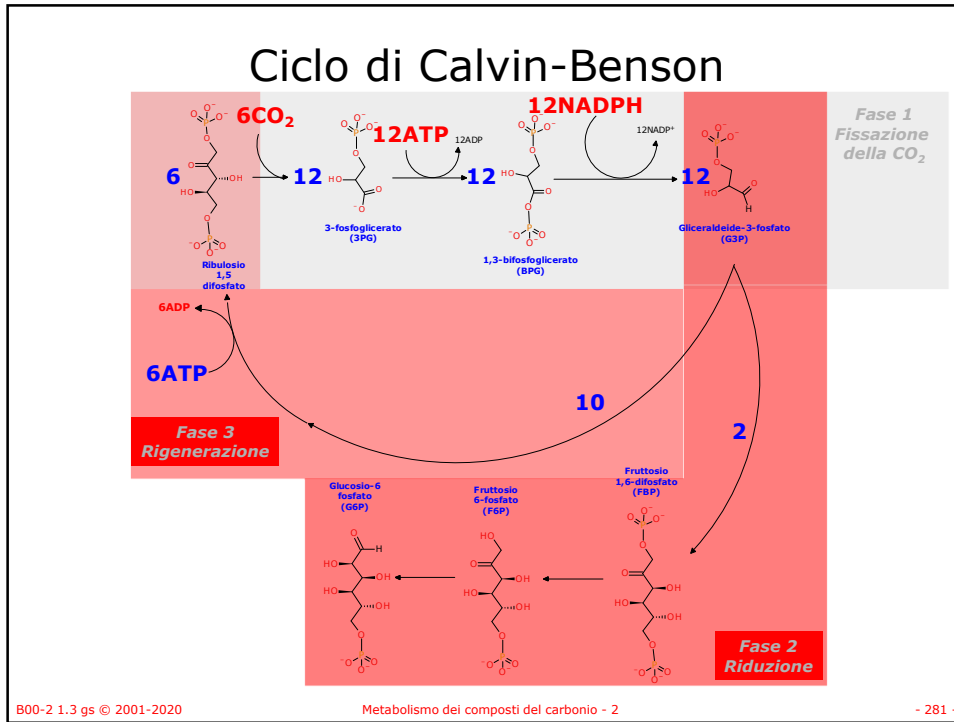
278



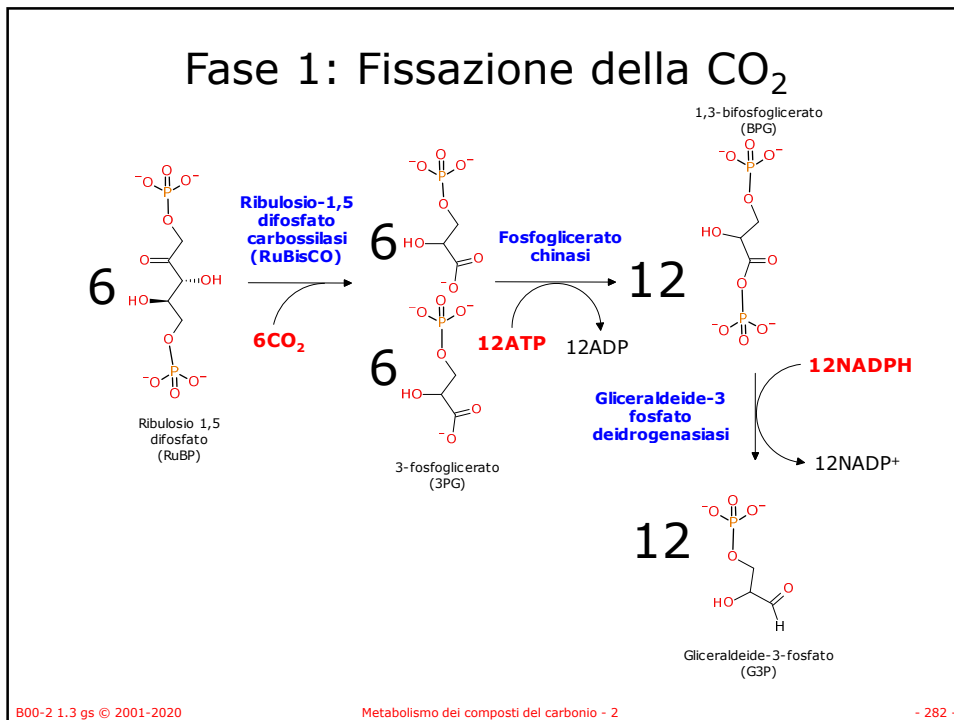
279



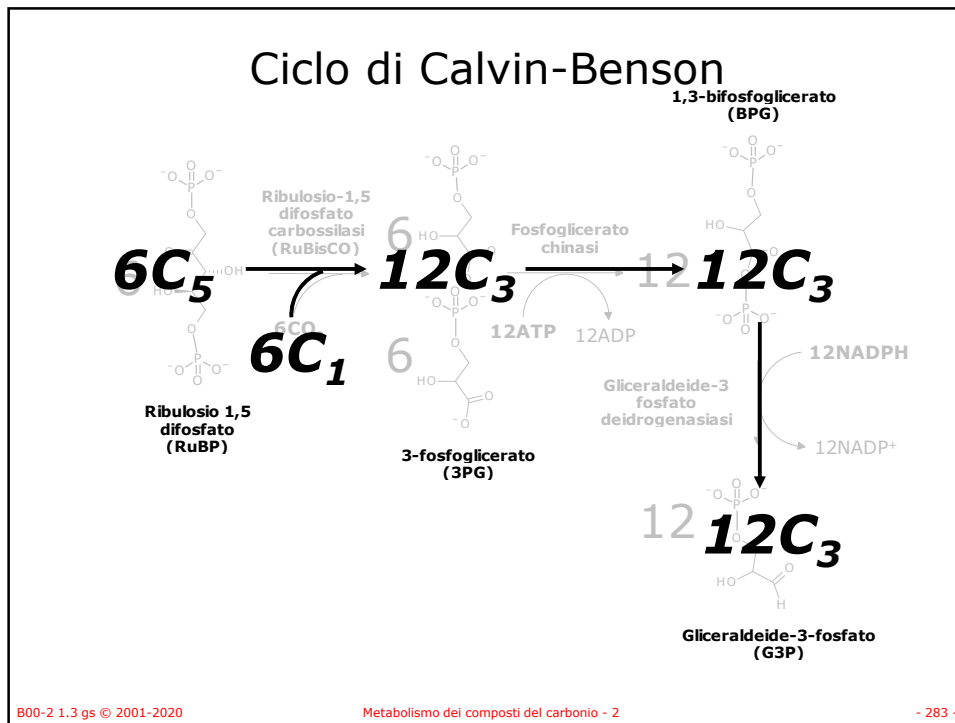
280



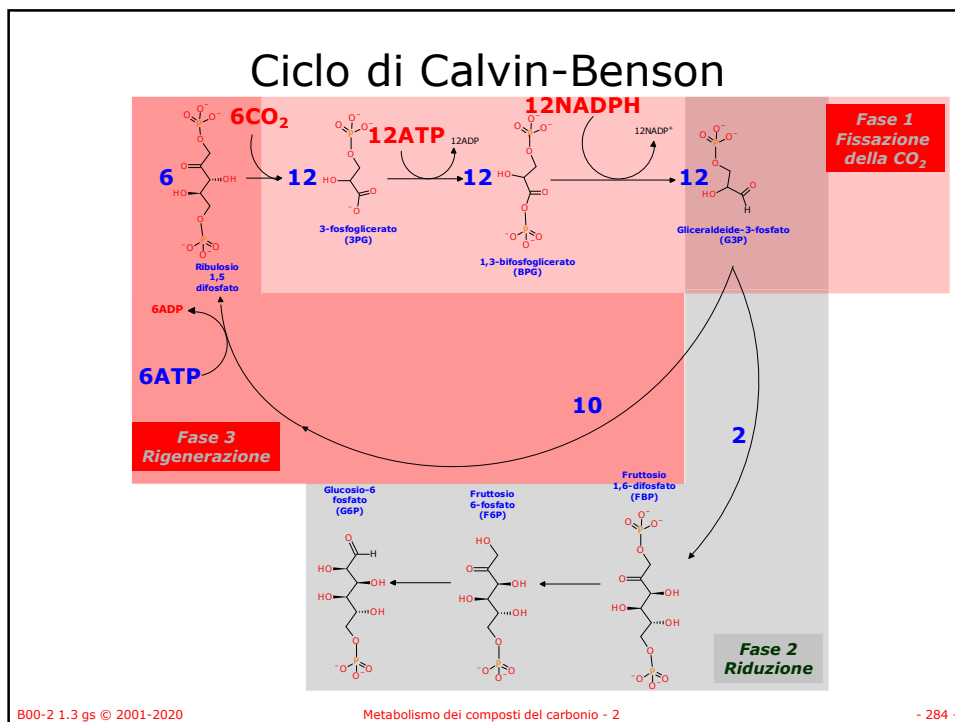
281



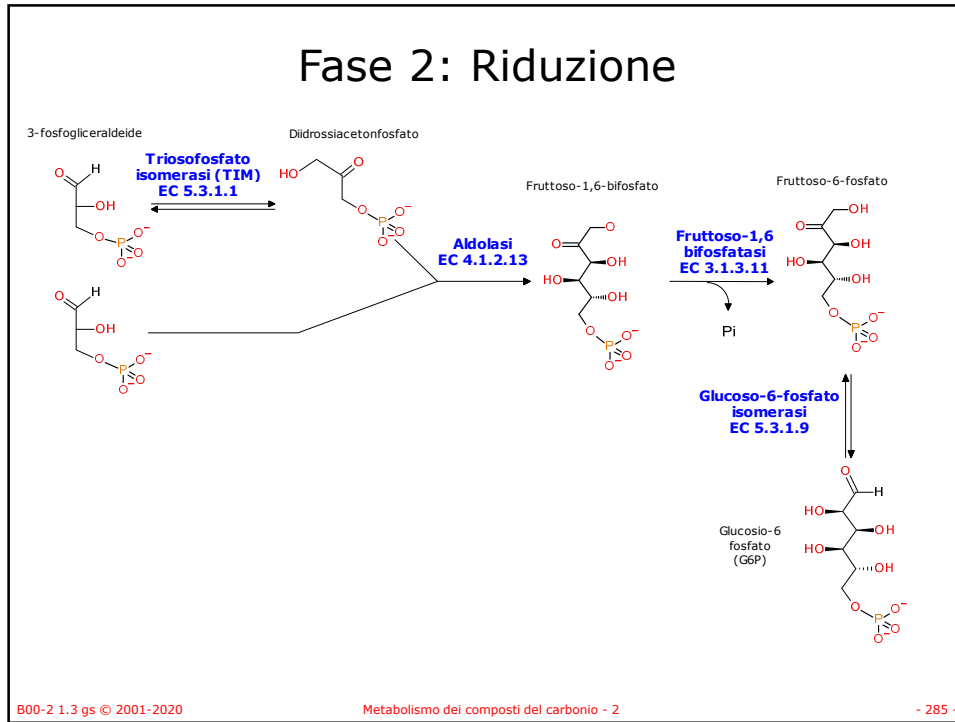
282



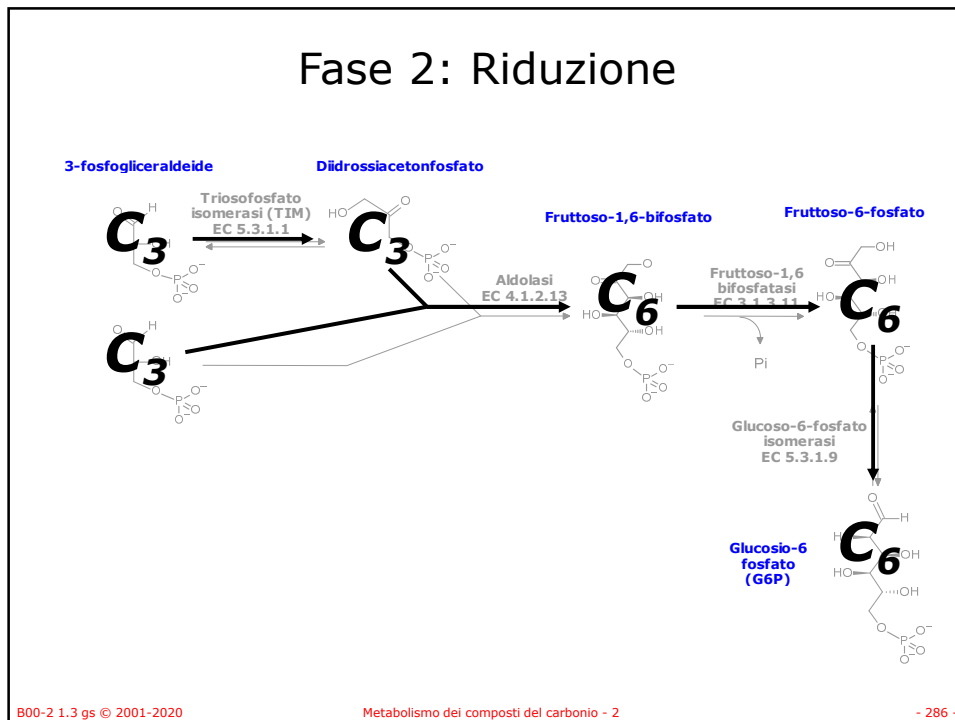
283



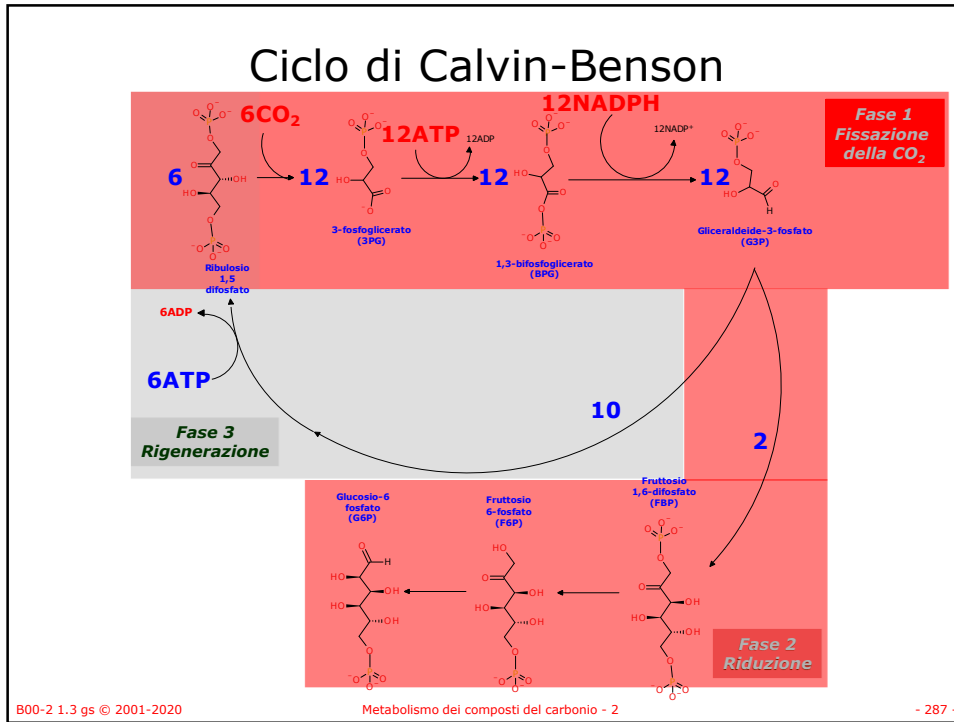
284



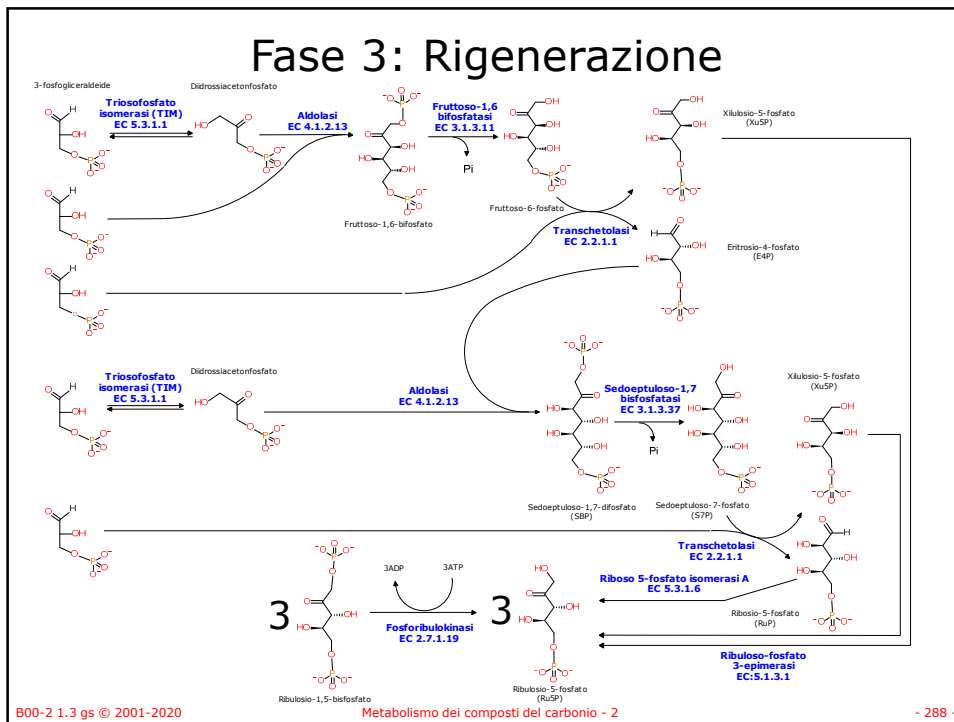
285



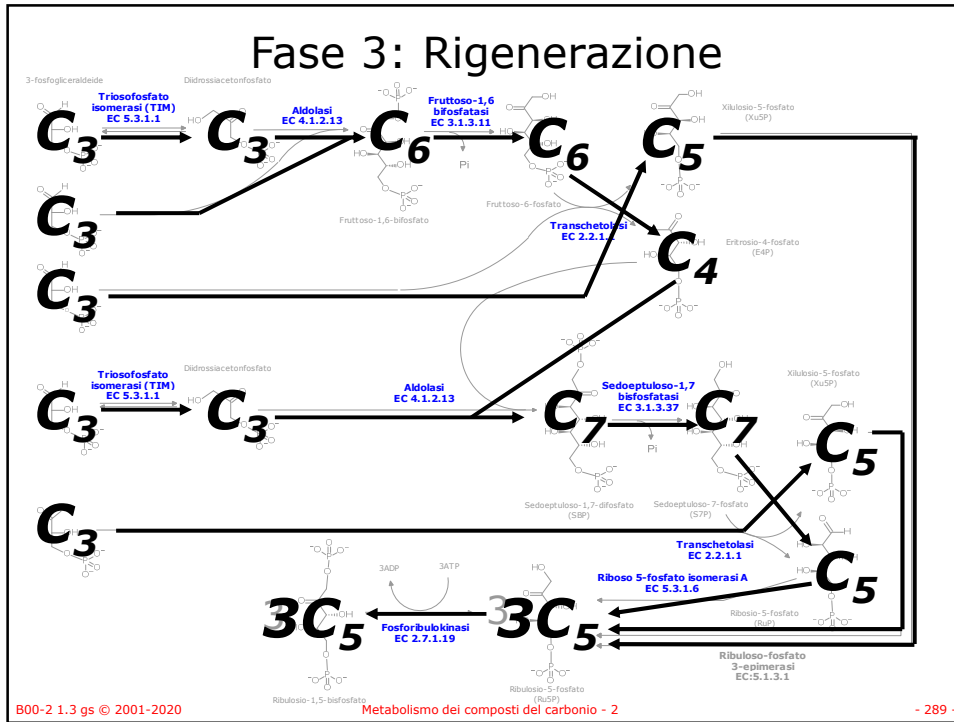
286



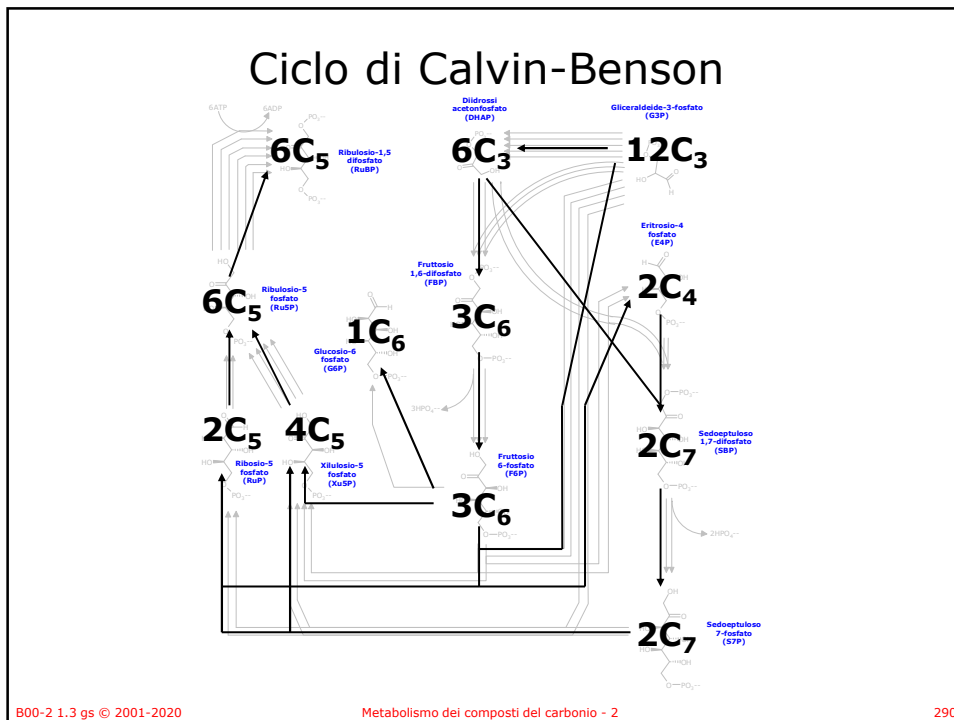
287



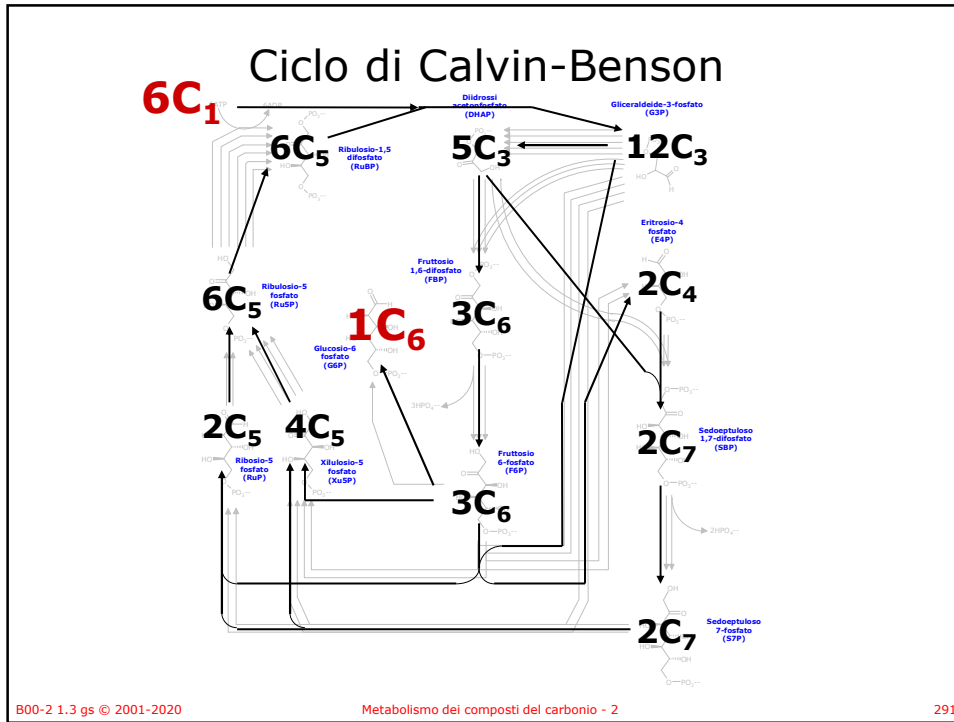
288



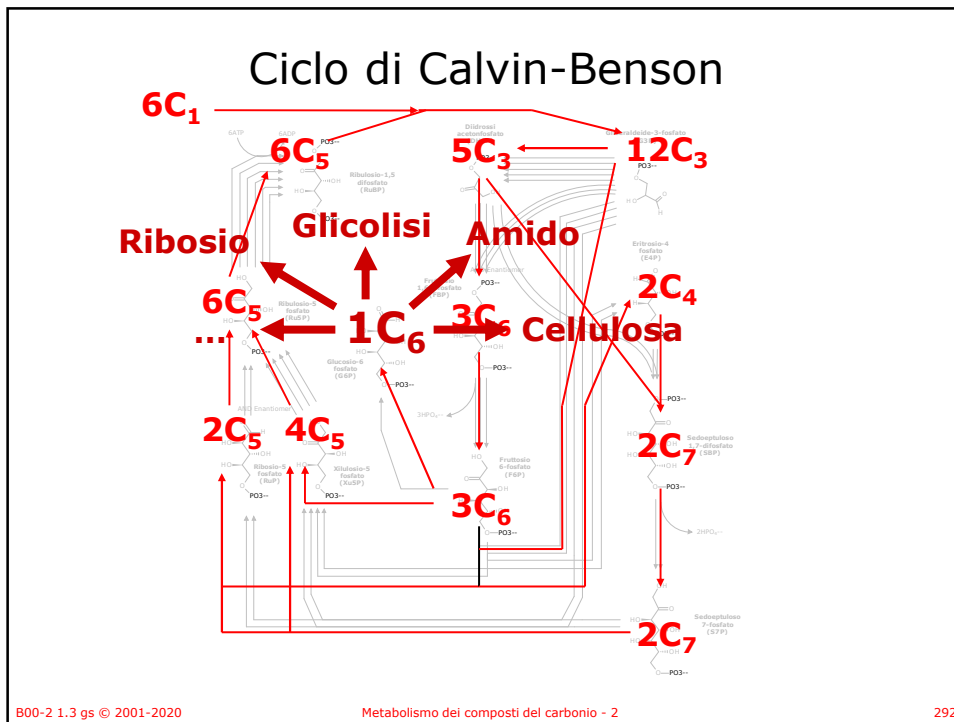
289



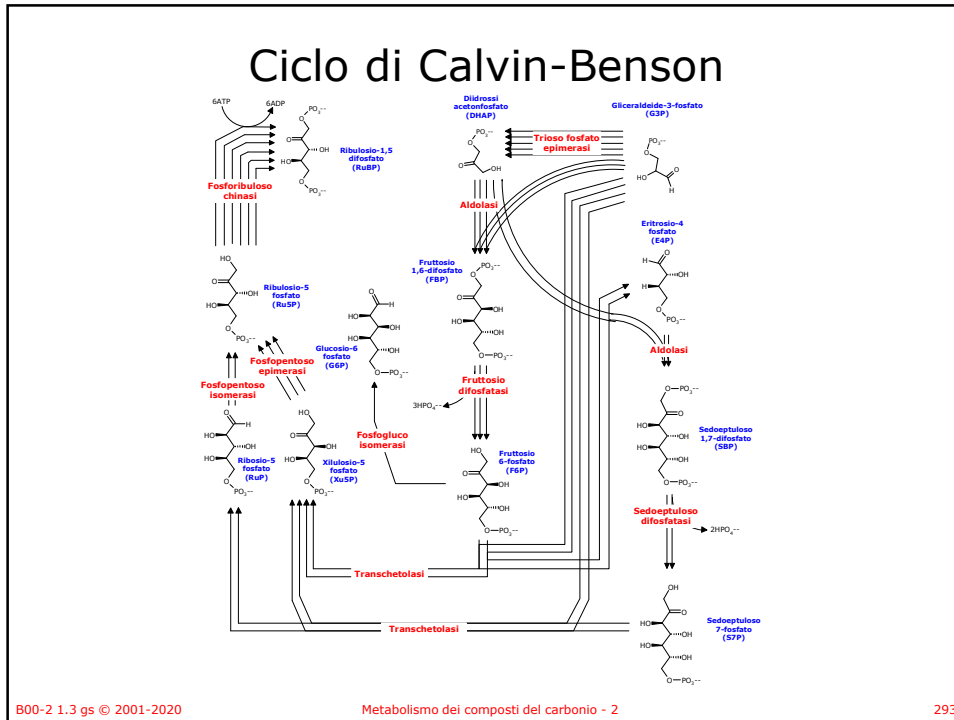
290



291



292



293

Bilancio

- Delle 18 molecole di ATP 12 sono usate per la fosforilazione 12 (6x2) molecole di 3PG e 6 per ricostituire 6 molecole di RuBP.
- Le 12 molecole di NADPH servono per ridurre il BPG a G3P.
- Quasi tutti gli enzimi del ciclo di Calvin-Benson sono comuni con la glicolisi e con il ciclo dei pentosi, una differenza è che la gliceraldeide -3-fosfato deidrogenasi è NADPH specifica mentre nella glicolisi è NAD⁺ dipendente.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020 Metabolismo dei composti del carbonio - 2 294

294

Bilancio

- Da un punto di vista termodinamico il ciclo di Calvin-Benson è una reazione favorita.
- La reazione aldolasi nella glicolisi ha un $\Delta G'_0$ di $+24 \text{ kJ}\cdot\text{mole}^{-1}$, nel ciclo di Calvin-Benson avviene in senso opposto.
- Nella fase buia avvengono anche la glicolisi, il ciclo di Krebs e la fosforilazione ossidativa per produrre energia.

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

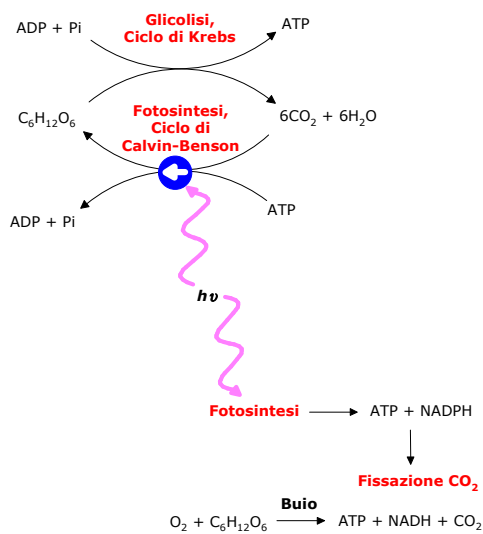
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

295

295

Bilancio

- Non è un ciclo futile.
- Futile è produrre $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ scendendo ATP per rigenerarlo consumando ATP.
- Gli enzimi del ciclo di Calvin-Benson rispondono indirettamente alla luce: sono attivati quando le cellule sono illuminate.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

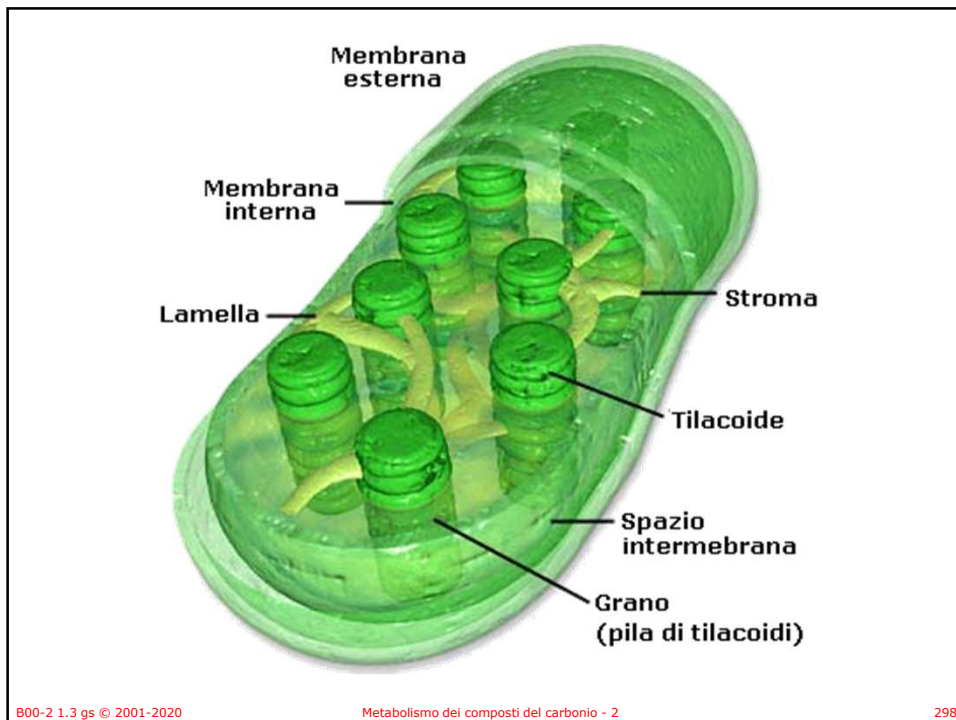
Metabolismo dei composti del carbonio - 2

296

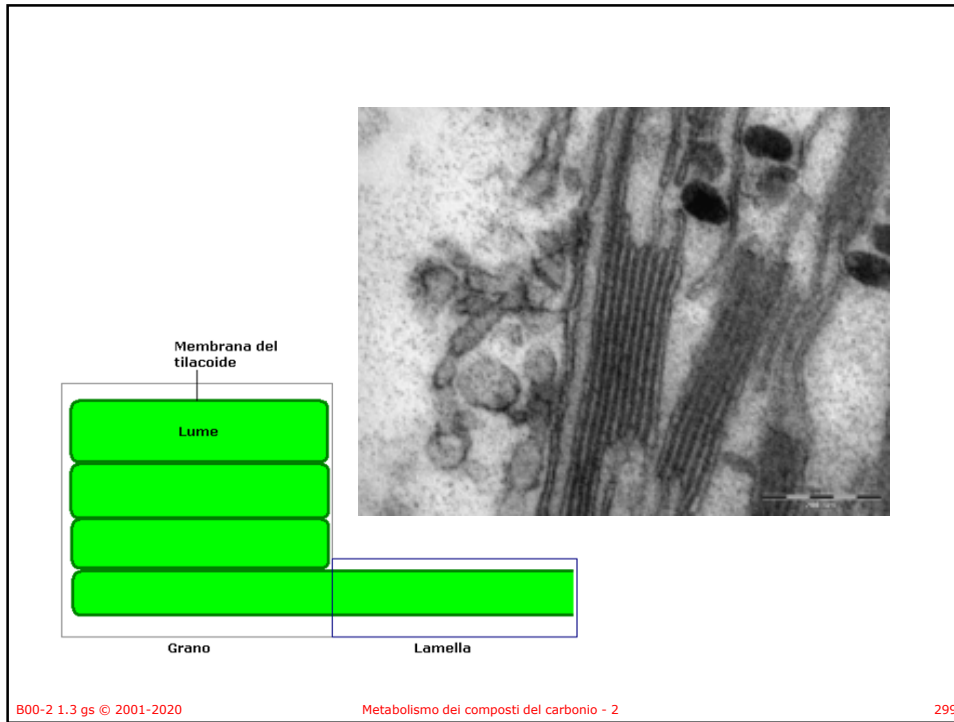
296



297



298

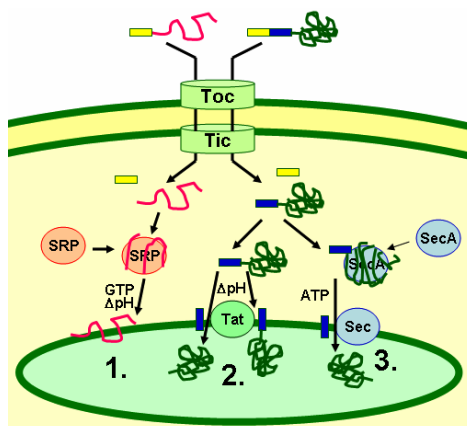


299



300

- Le proteine del tilacoide sono etichettate al loro bersaglio da un peptide segnale e da una via secretoria nel cloroplasto.
- Molte delle proteine del tilacoide sono codificate dal genoma nucleare e necessitano di due segnali per raggiungere il bersaglio: un **segnale N-terminale** e un **segnale per il bersaglio** all'interno del tilacoide.



B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

301

301

Referenze sul WEB

- Vie metaboliche
 - KEGG: <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Degradazione degli xenobiotici: <http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway/map/map01196.html>
- Struttura delle proteine:
 - Protein data bank (Brookhaven): <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Hexpasy
 - Expert Protein Analysis System: <http://us.expasy.org/sprot/>
 - Prosite (protein families and domains): <http://www.expasy.org/prosite/>
 - Enzyme (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
 - Scop (famiglie strutturali): <http://scop.berkeley.edu/>
- Enzimi:
 - Nomenclatura - IUBMB: <http://www.chem.qmw.ac.uk/iubmb/>
 - Proprietà - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Expasy (Enzyme nomenclature database): <http://www.expasy.org/enzyme/>
- Database di biocatalisi e biodegradazione: <http://umbbd.ahc.umn.edu/>
- Citocromo P450: <http://www.icgeb.org/~p450srv/>
- Metallotioneine: <http://www.unizh.ch/~mtpage/MT.html>
- Tossicità degli xenobiotici: Agency for Toxic Substances and Disease Registry <http://www.atsdr.cdc.gov>

B00-2 1.3 gs © 2001-2020

Metabolismo dei composti del carbonio - 2

302

302

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
 - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] - Zanichelli
 - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
 - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - Zanichelli
 - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] - Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
 - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>
- Il materiale è stato inoltre rivisto e corretto dalla **Prof. Giancarla Orlandini** dell'Università di Parma alla quale va il mio sentito ringraziamento.

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da: <http://www.gsartor.org/pro>

- Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor
Università di Bologna

Giorgio Sartor
Ufficiale: giorgio.sartor@unibo.it
Personale: giorgio.sartor@gmail.com

Aggiornato il 06/05/2020 11:11:51