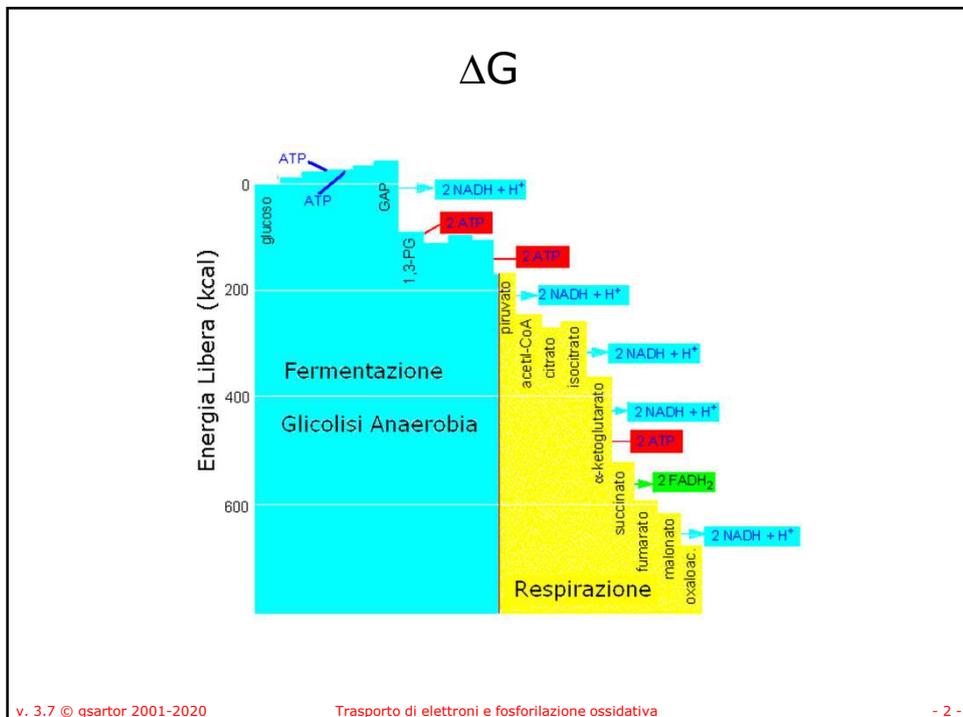
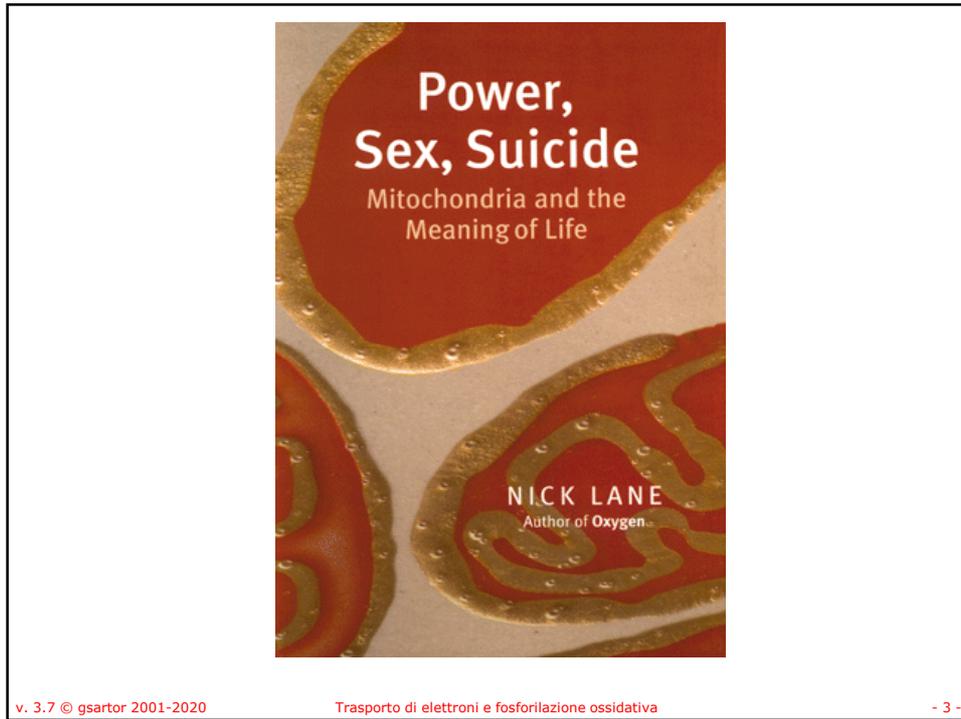




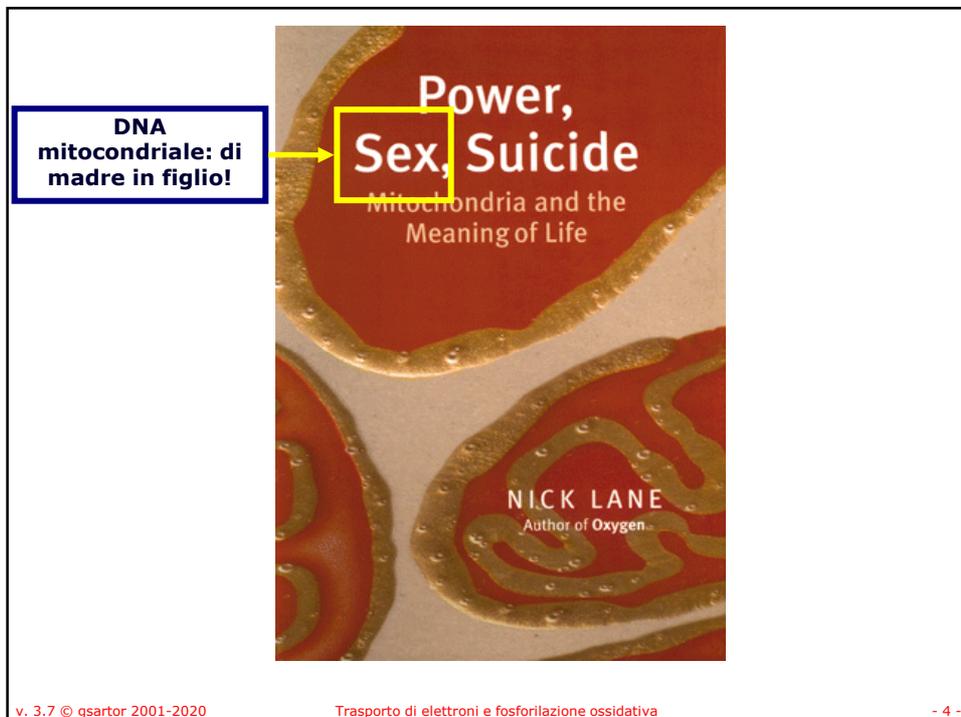
1



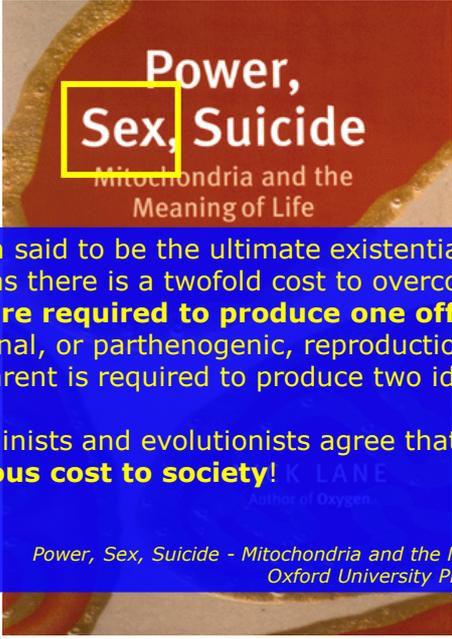
2



3



4



**Power,
Sex, Suicide**
Mitochondria and the
Meaning of Life

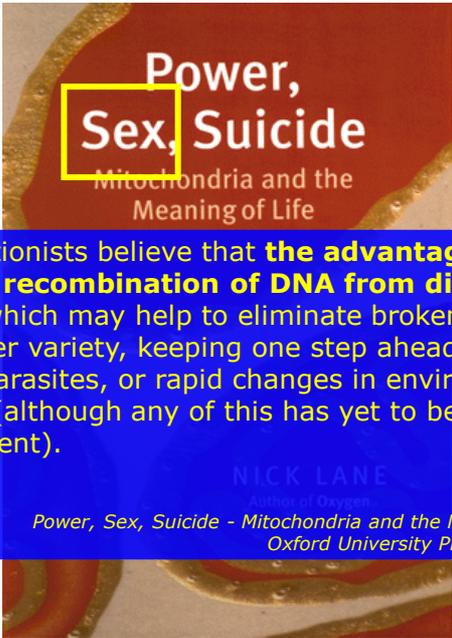
Sex is often said to be the ultimate existential absurdity, as there is a twofold cost to overcome, **two partners are required to produce one off-spring**, while in clonal, or parthenogenic, reproduction (...), only one parent is required to produce two identical copies.
Radical feminists and evolutionists agree that **males are a serious cost to society!**

NICK LANE
Author of Oxygen

Nick Lane
Power, Sex, Suicide - Mitochondria and the Meaning of Life
Oxford University Press - pag 232

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 5 -

5



**Power,
Sex, Suicide**
Mitochondria and the
Meaning of Life

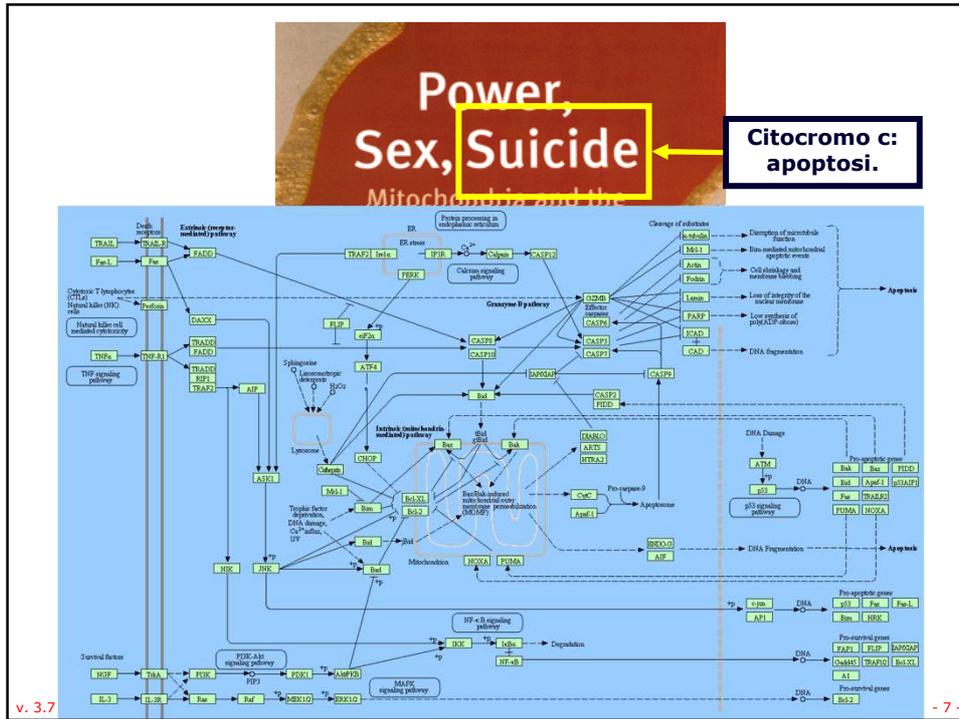
Most evolutionists believe that **the advantage of sex lies in the recombination of DNA from distinct sources**, which may help to eliminate broken genes and to foster variety, keeping one step ahead of inventive parasites, or rapid changes in environmental conditions (although any of this has yet to be proved by experiment).

NICK LANE
Author of Oxygen

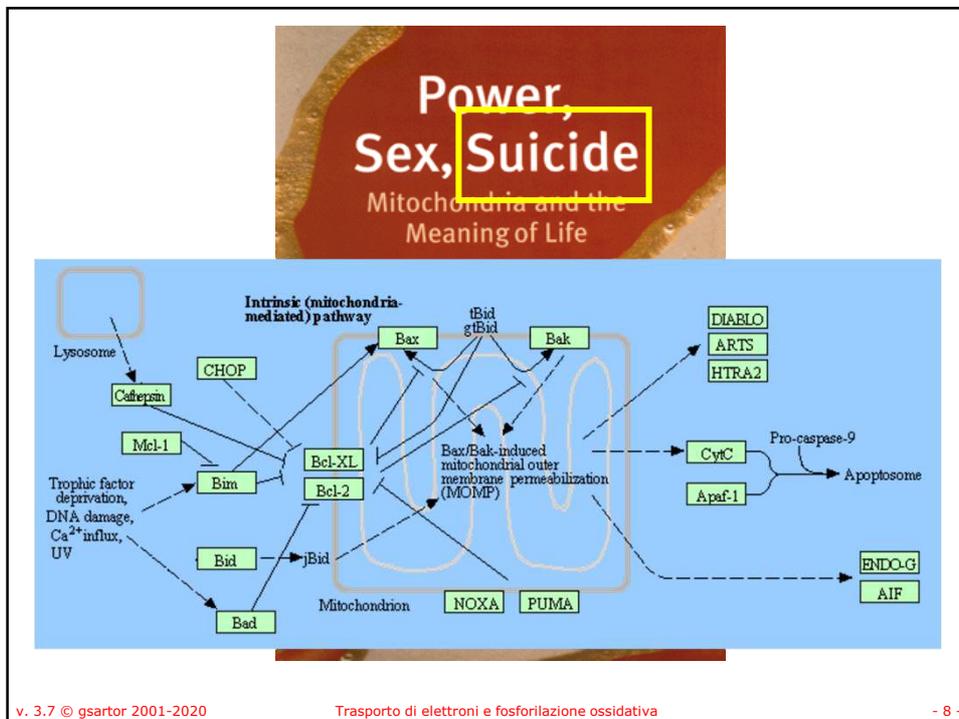
Nick Lane
Power, Sex, Suicide - Mitochondria and the Meaning of Life
Oxford University Press - pag 232

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 6 -

6



7



8

**Power,
Sex, Suicide**
Mitochondria and the
Meaning of Life
**Respirazione
cellulare e
produzione di ATP.**
NICK LANE
Author of Oxygen

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 9 -

9

Simbiosi!

nature Vol 446(71) March 2007 | doi:10.1038/nature05572

LETTERS

Specific role of mitochondrial electron transport in blood-stage *Plasmodium falciparum*

Heather J. Painter¹, Joanne M. Morrissey¹, Michael W. Mather² & Akhil B. Vaidya¹

The origin of all mitochondria can be traced to the symbiotic arrangement that resulted in the emergence of eukaryotes in a world that was exclusively populated by prokaryotes¹⁻³.

hypothesis

The hydrogen hypothesis for the first eukaryote

William Martin^{*} & Miklós Müller[†]

^{*} Institut für Genetik, Technische Universität Braunschweig, Spielmannstrasse 7, D-38023 Braunschweig, Germany
[†] The Rockefeller University, 1230 York Avenue, New York, New York 10021, USA

A new hypothesis for the origin of eukaryotic cells is proposed, based on the comparative biochemistry of energy metabolism. Eukaryotes are suggested to have arisen through symbiotic association of an anaerobic, strictly hydrogen-dependent, strictly autotrophic archaeobacterium (the host) with a eubacterium (the symbiont) that was able to respire, but generated molecular hydrogen as a waste product of anaerobic heterotrophic metabolism. The host's dependence upon molecular hydrogen produced by the symbiont is put forward as the selective principle that forged the common ancestor of eukaryotic cells.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 10 -

10

Simbiosi?

Vol 440|30 March 2006|doi:10.1038/nature04546

nature

REVIEWS

Eukaryotic evolution, changes and challenges

T. Martin Embley¹ & William Martin²

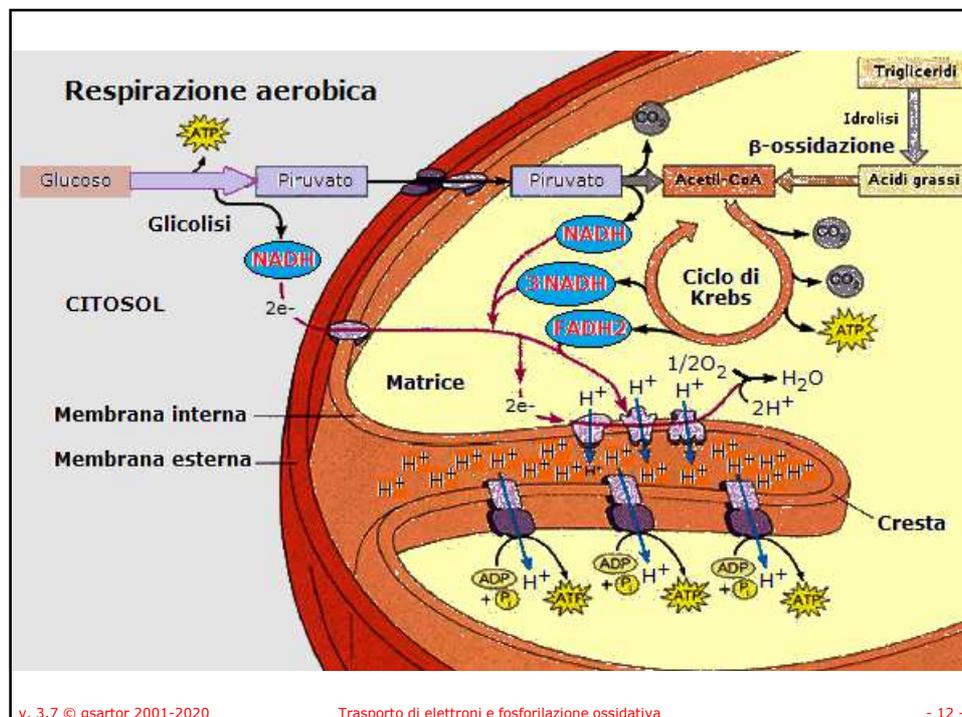
The idea that some eukaryotes primitively lacked mitochondria and were true intermediates in the prokaryote-to-eukaryote transition was an exciting prospect. It spawned major advances in understanding anaerobic and parasitic eukaryotes and those with previously overlooked mitochondria. But the evolutionary gap between prokaryotes and eukaryotes is now deeper, and the nature of the host that acquired the mitochondrion more obscure, than ever before

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 11 -

11

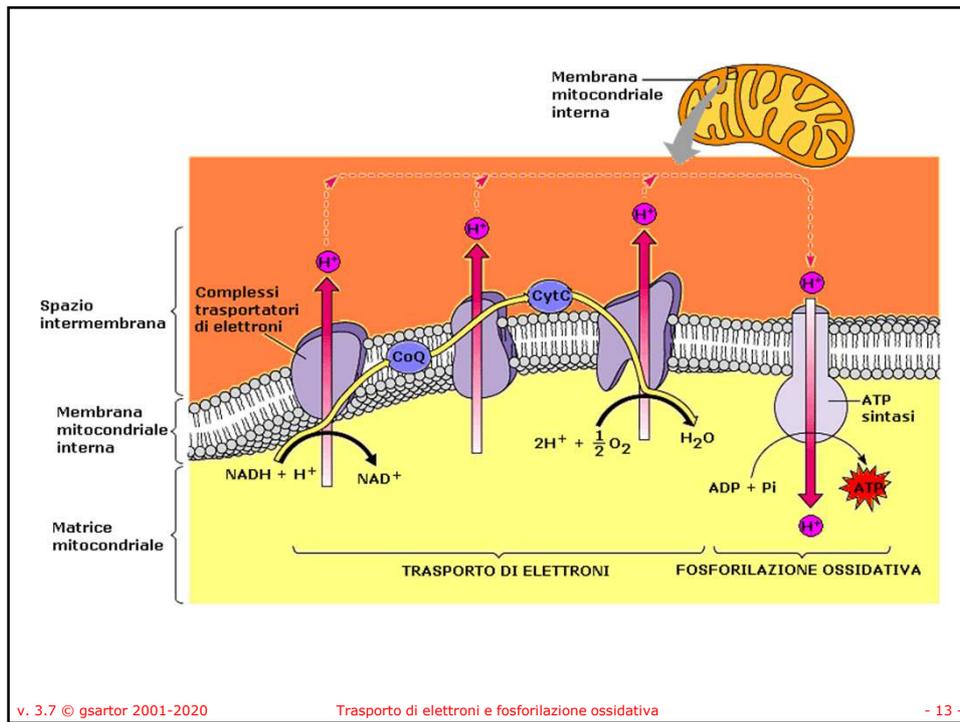


v. 3.7 © gsartor 2001-2020

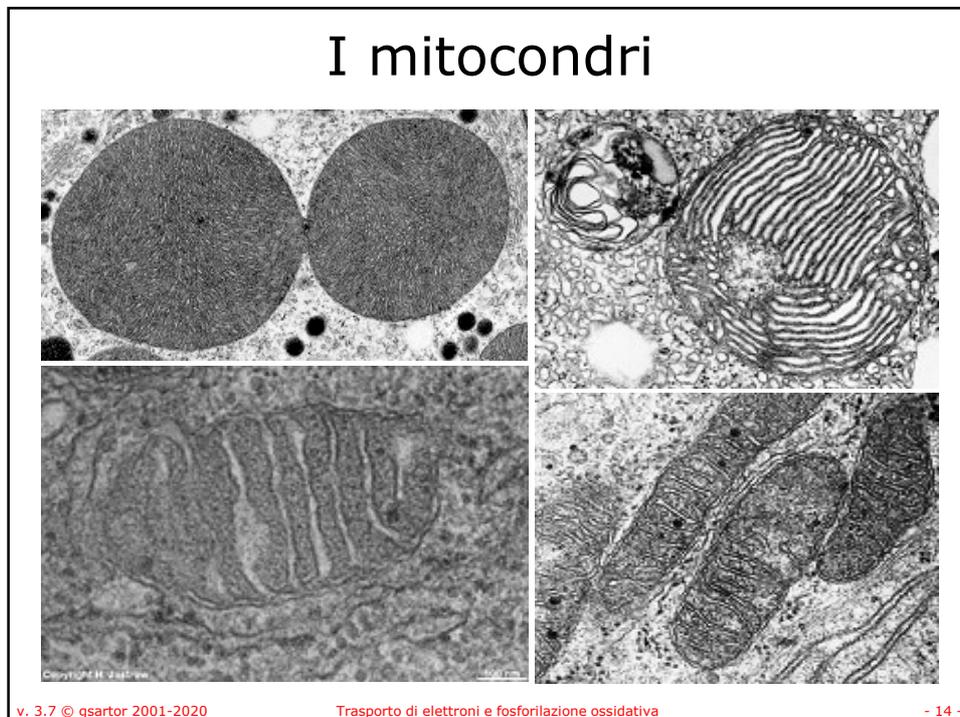
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 12 -

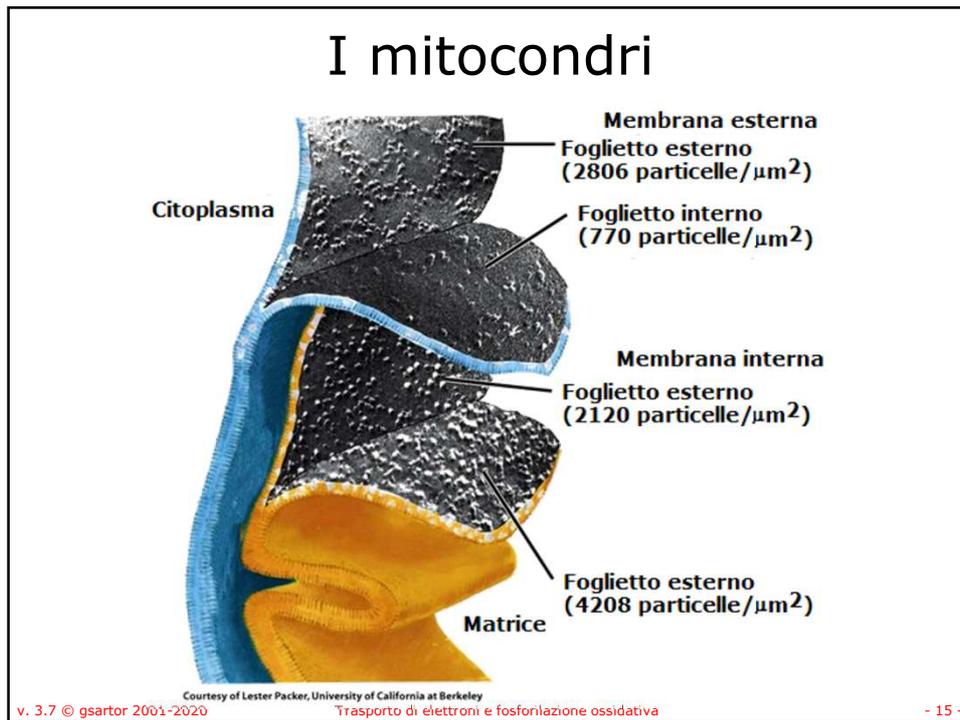
12



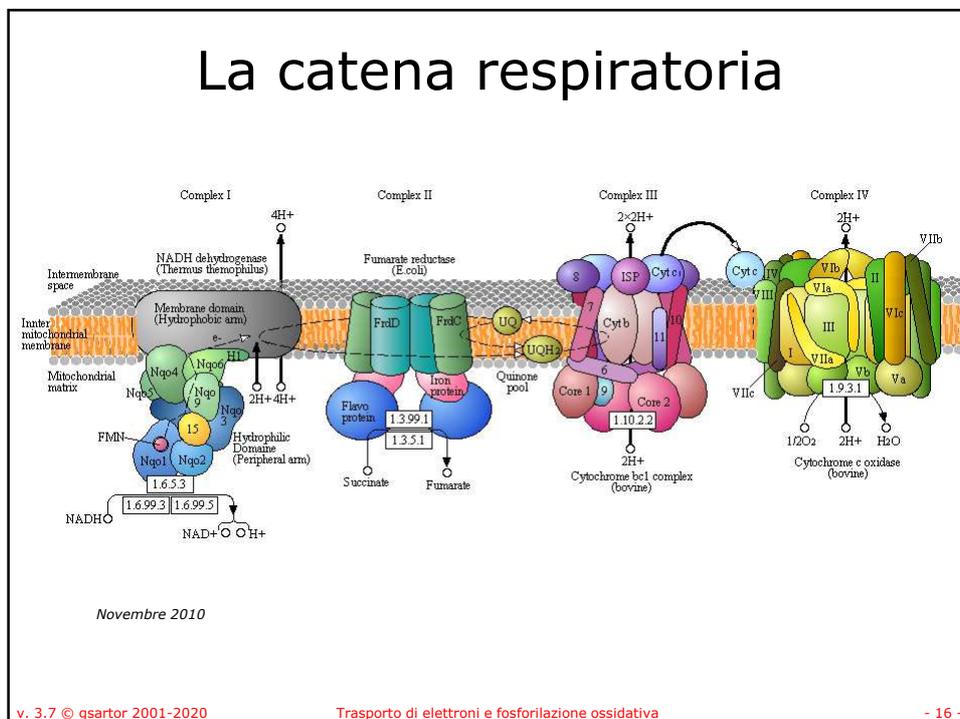
13



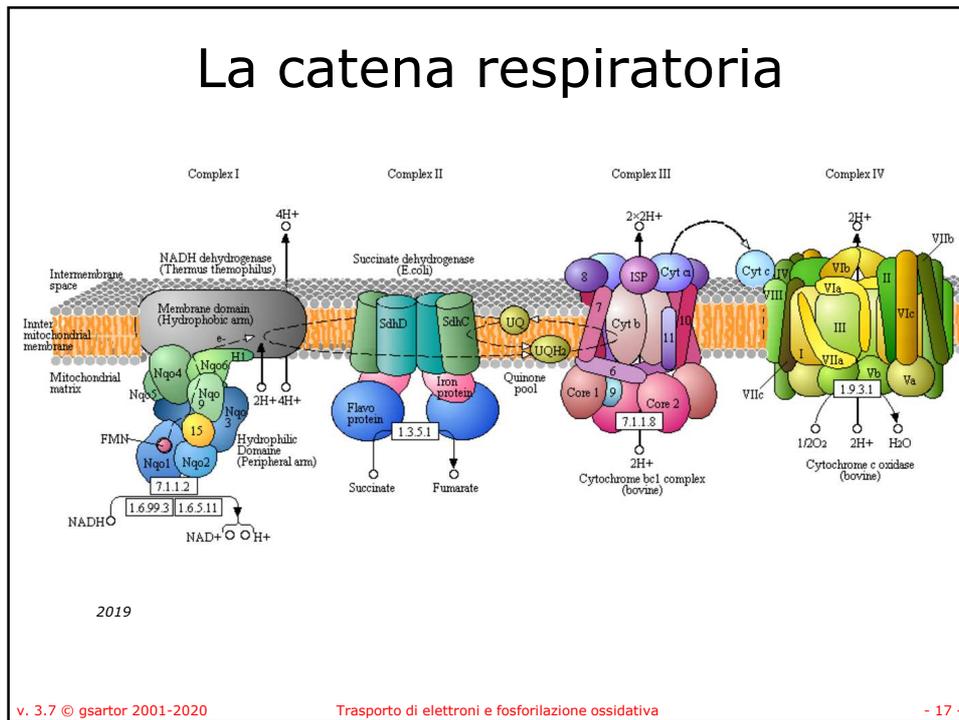
14



15



16



17

La catena respiratoria

- Molti componenti della catena respiratoria sono localizzati nella membrana interna mitocondriale (o nella membrana citoplasmatica dei batteri aerobi).
- La membrana interna mitocondriale è ripiegata a formare delle creste che aumentano la superficie.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 18 -

18

Complex I: NADH dehydrogenase (Thermus thermophilus). Membrane domain (Hydrophobic arm) and Hydrophilic Domains (Peripheral arm). Components include Npq4, Npq5, Npq6, Npq3, Npq2, Npq1, FMN, and NADPH dehydrogenase (Npq1-5). Electrons flow from NADH to NAD⁺ + H⁺. Protons are pumped from the matrix to the intermembrane space.

Complex II: Succinate dehydrogenase (E.coli). Components include SdhD, SdhC, Flavo protein, and Iron protein. Electrons flow from Succinate to Fumarate. Protons are pumped from the matrix to the intermembrane space.

Complex III: Cytochrome bc1 complex (bovine). Components include Cyt b, Cyt c, Cyt c1, Cyt c2, Cyt c3, Cyt c4, Cyt c5, Cyt c6, Cyt c7, Cyt c8, Cyt c9, Cyt c10, Cyt c11, Cyt c12, Cyt c13, Cyt c14, Cyt c15, Cyt c16, Cyt c17, Cyt c18, Cyt c19, Cyt c20, Cyt c21, Cyt c22, Cyt c23, Cyt c24, Cyt c25, Cyt c26, Cyt c27, Cyt c28, Cyt c29, Cyt c30, Cyt c31, Cyt c32, Cyt c33, Cyt c34, Cyt c35, Cyt c36, Cyt c37, Cyt c38, Cyt c39, Cyt c40, Cyt c41, Cyt c42, Cyt c43, Cyt c44, Cyt c45, Cyt c46, Cyt c47, Cyt c48, Cyt c49, Cyt c50, Cyt c51, Cyt c52, Cyt c53, Cyt c54, Cyt c55, Cyt c56, Cyt c57, Cyt c58, Cyt c59, Cyt c60, Cyt c61, Cyt c62, Cyt c63, Cyt c64, Cyt c65, Cyt c66, Cyt c67, Cyt c68, Cyt c69, Cyt c70, Cyt c71, Cyt c72, Cyt c73, Cyt c74, Cyt c75, Cyt c76, Cyt c77, Cyt c78, Cyt c79, Cyt c80, Cyt c81, Cyt c82, Cyt c83, Cyt c84, Cyt c85, Cyt c86, Cyt c87, Cyt c88, Cyt c89, Cyt c90, Cyt c91, Cyt c92, Cyt c93, Cyt c94, Cyt c95, Cyt c96, Cyt c97, Cyt c98, Cyt c99, Cyt c100. Electrons flow from UQH₂ to UQ. Protons are pumped from the matrix to the intermembrane space.

Complex IV: Cytochrome c oxidase (bovine). Components include Cyt c, Cyt c1, Cyt c2, Cyt c3, Cyt c4, Cyt c5, Cyt c6, Cyt c7, Cyt c8, Cyt c9, Cyt c10, Cyt c11, Cyt c12, Cyt c13, Cyt c14, Cyt c15, Cyt c16, Cyt c17, Cyt c18, Cyt c19, Cyt c20, Cyt c21, Cyt c22, Cyt c23, Cyt c24, Cyt c25, Cyt c26, Cyt c27, Cyt c28, Cyt c29, Cyt c30, Cyt c31, Cyt c32, Cyt c33, Cyt c34, Cyt c35, Cyt c36, Cyt c37, Cyt c38, Cyt c39, Cyt c40, Cyt c41, Cyt c42, Cyt c43, Cyt c44, Cyt c45, Cyt c46, Cyt c47, Cyt c48, Cyt c49, Cyt c50, Cyt c51, Cyt c52, Cyt c53, Cyt c54, Cyt c55, Cyt c56, Cyt c57, Cyt c58, Cyt c59, Cyt c60, Cyt c61, Cyt c62, Cyt c63, Cyt c64, Cyt c65, Cyt c66, Cyt c67, Cyt c68, Cyt c69, Cyt c70, Cyt c71, Cyt c72, Cyt c73, Cyt c74, Cyt c75, Cyt c76, Cyt c77, Cyt c78, Cyt c79, Cyt c80, Cyt c81, Cyt c82, Cyt c83, Cyt c84, Cyt c85, Cyt c86, Cyt c87, Cyt c88, Cyt c89, Cyt c90, Cyt c91, Cyt c92, Cyt c93, Cyt c94, Cyt c95, Cyt c96, Cyt c97, Cyt c98, Cyt c99, Cyt c100. Electrons flow from UQH₂ to 1/2 O₂, 2H⁺, and H₂O. Protons are pumped from the matrix to the intermembrane space.

- Il trasferimento di elettroni dal NADH all'O₂ coinvolge dei complessi enzimatici composti di più subunità (complessi I, III e IV) alloggiati nella membrana interna mitocondriale.
- Sono anche coinvolti i trasportatori mobili CoQ e Cyt c.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 19 -

19

- All'interno di ogni complesso gli elettroni passano sequenzialmente attraverso una serie di trasportatori di elettroni.
- Il CoQ è localizzato nella fase lipidica della membrana ed ha siti di legame sui complessi proteici.
- Il cyt c è localizzato nello spazio intermembrana, si lega alternativamente al complesso III e IV durante il trasporto di elettroni.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 20 -

20

Complex I: NADH dehydrogenase (Thermus thermophilus). Membrane domain (Hydrophobic arm) and Hydrophilic Domain (Peripheral arm). Electrons flow from NADH through FMN, NADPH dehydrogenase (Npq1-4, Npq15), and ubiquinone (UQ) to ubiquinol (UQH₂).

Complex II: Succinate dehydrogenase (E. coli). Electrons flow from Succinate through Flavoprotein and Iron protein to Fumarate.

Complex III: Cytochrome bc₁ complex (bovine). Electrons flow from UQH₂ through hemes (8, 7, 6, 9, 11) and cytochromes (ISP, Cyt b, Cyt c₁) to reduce ubiquinol to ubiquinol.

Complex IV: Cytochrome c oxidase (bovine). Electrons flow from Cyt c through hemes (VIII, VIIc, VIa, VIb, Vb, Va) and cytochromes (I, II, III) to reduce 1/2 O₂ to H₂O.

- All'interno di ogni complesso gli elettroni passano sequenzialmente attraverso una serie di trasportatori di elettroni.
- Il CoQ è localizzato nella fase lipidica della membrana ed ha siti di legame sui complessi proteici.
- Il cyt c è localizzato nello spazio intermembrana, si lega alternativamente al complesso III e IV durante il trasporto di elettroni.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 21 -

21

Complex I: NADH dehydrogenase (Thermus thermophilus). Membrane domain (Hydrophobic arm) and Hydrophilic Domain (Peripheral arm). Electrons flow from NADH through FMN, NADPH dehydrogenase (Npq1-4, Npq15), and ubiquinone (UQ) to ubiquinol (UQH₂).

Complex II: Succinate dehydrogenase (E. coli). Electrons flow from Succinate through Flavoprotein and Iron protein to Fumarate.

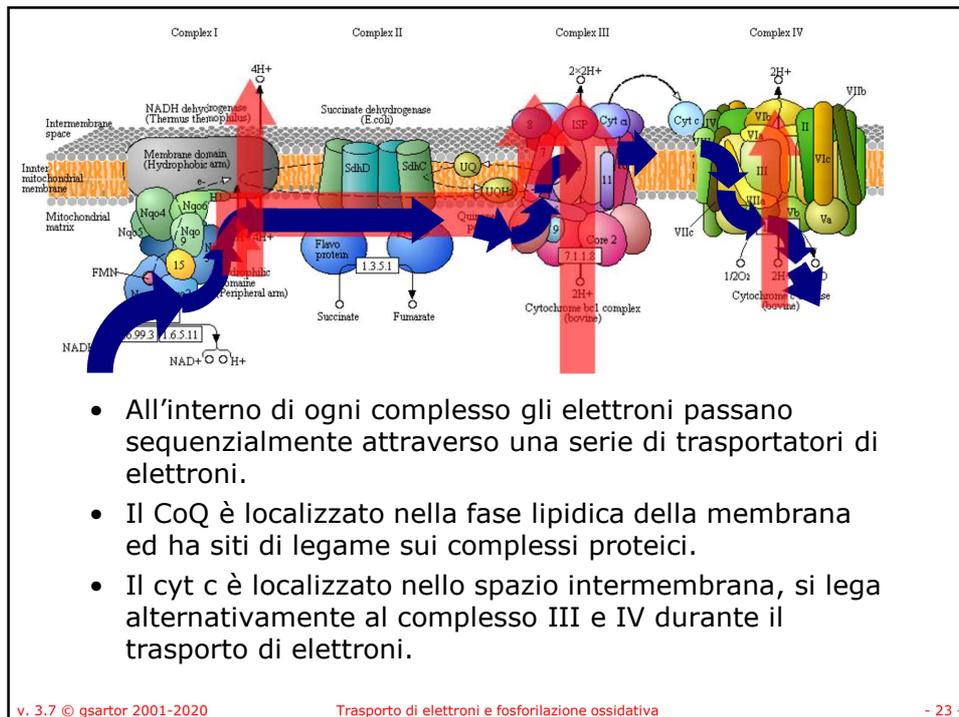
Complex III: Cytochrome bc₁ complex (bovine). Electrons flow from UQH₂ through hemes (8, 7, 6, 9, 11) and cytochromes (ISP, Cyt b, Cyt c₁) to reduce ubiquinol to ubiquinol.

Complex IV: Cytochrome c oxidase (bovine). Electrons flow from Cyt c through hemes (VIII, VIIc, VIa, VIb, Vb, Va) and cytochromes (I, II, III) to reduce 1/2 O₂ to H₂O.

- All'interno di ogni complesso gli elettroni passano sequenzialmente attraverso una serie di trasportatori di elettroni.
- Il CoQ è localizzato nella fase lipidica della membrana ed ha siti di legame sui complessi proteici.
- Il cyt c è localizzato nello spazio intermembrana, si lega alternativamente al complesso III e IV durante il trasporto di elettroni.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 22 -

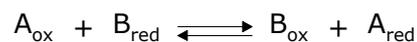
22



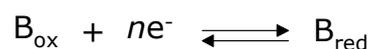
23

Trasporto di elettroni

- In una reazione di ossidoriduzione



- 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:



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

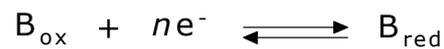
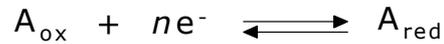
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 24 -

24

Trasporto di elettroni

- Per ogni semireazione vale



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

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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 25 -

25

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 ($E^{\circ'}$) del donatore è più negativo del potenziale ($E^{\circ'}$) dell'accettore.
- Se $\Delta E^{\circ'}$ è positivo la reazione è spontanea.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

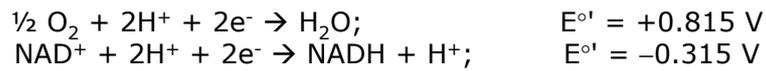
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 26 -

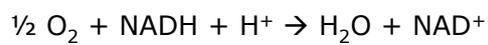
26

Trasporto di elettroni

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



- Sottraendo la seconda dalla prima:



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

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

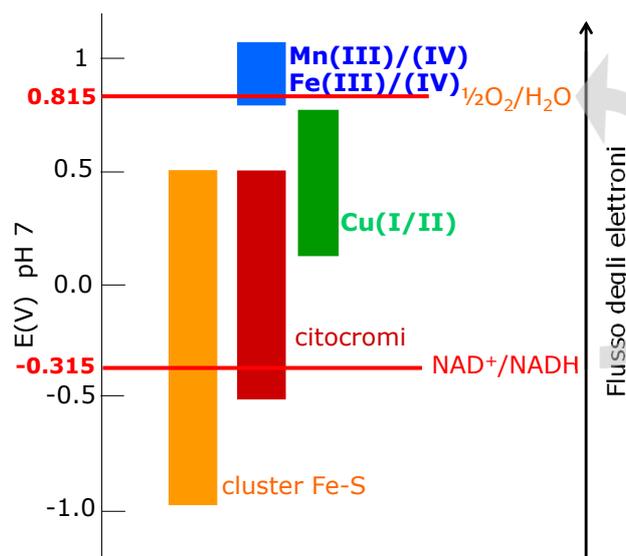
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 27 -

27

Potenziale

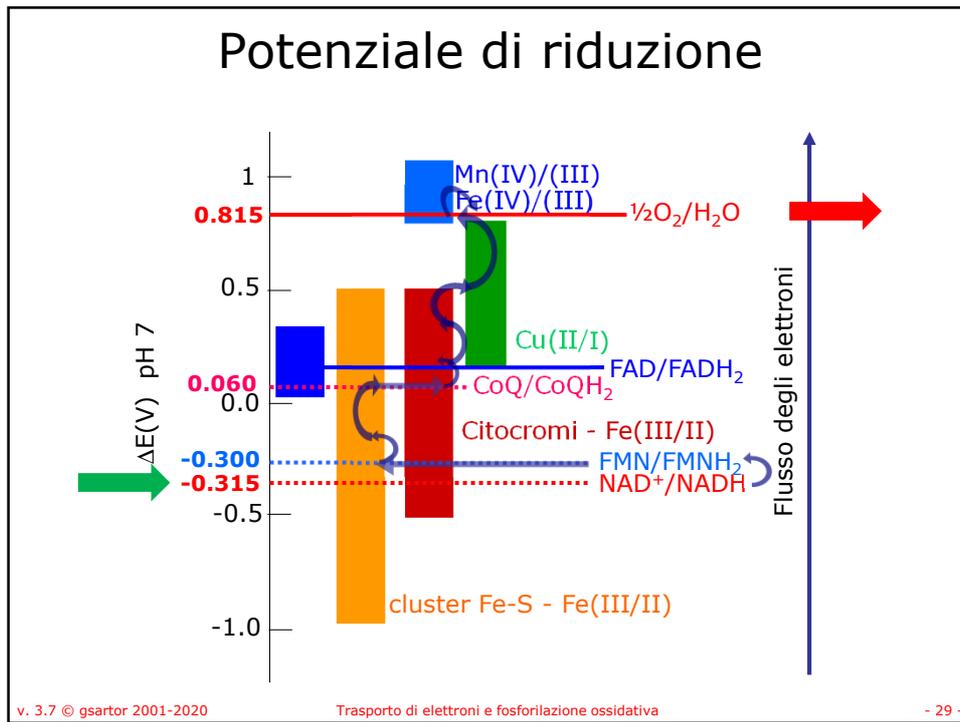


v. 3.7 © gsartor 2001-2020

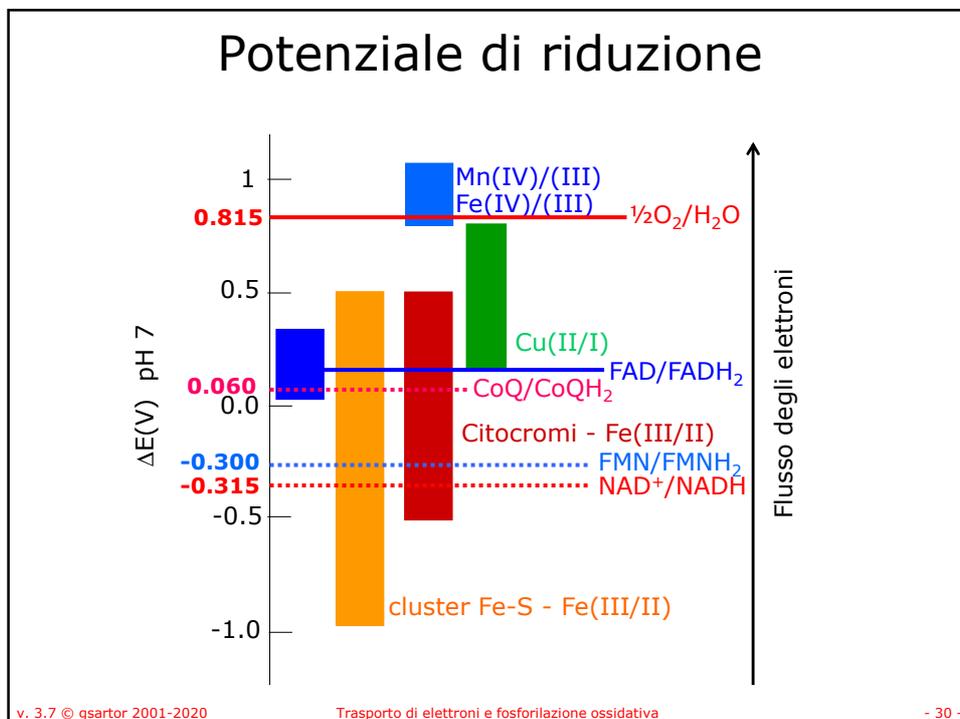
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 28 -

28



29



30

Personaggi ed interpreti

- I trasportatori di elettroni:
 - Nucleotidi:
 - NAD^+/NADH ,
 - $\text{FAD}/\text{FADH}^+/\text{FADH}_2$,
 - $\text{FMN}/\text{FMNH}^+/\text{FMNH}_2$
 - Trasportatori mobili:
 - Coenzima Q,
 - Citocromo c
 - Composti ionici:
 - $\text{Fe}^{+++}/\text{Fe}^{++}$ nei:
 - citocromi a, b, c e
 - nei centri ferro-zolfo

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 31 -

31

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 .

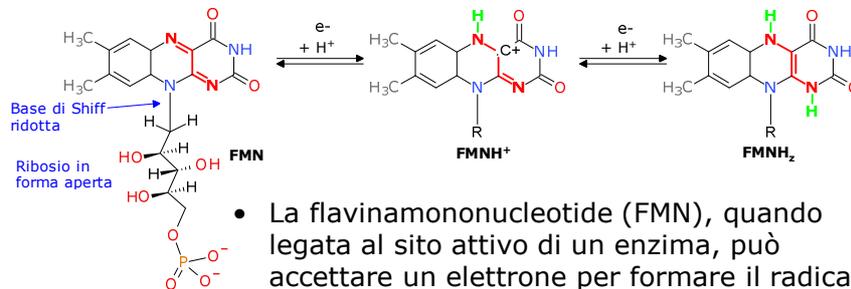
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 32 -

32

Trasportatori di elettroni: FMN



- La flavinammonucleotide (FMN), quando legata al sito attivo di un enzima, può accettare un elettrone per formare il radicale semichinonico. Il semichinone può accettare un secondo elettrone per formare FMNH₂.
- Poiché può accettare o donare uno o due elettroni, FMN ha un ruolo importante per trasferire elettroni tra trasportatori che portano due elettroni (NADH) e quelli che ne possono accettare uno solo (Fe⁺⁺⁺).

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 33 -

33

Personaggi ed interpreti

- **Complessi enzimatici:**
 - Complesso I:
 - NADH-CoenzimaQ 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 1.10.2.2)
 - Complesso IV:
 - Citocromo ossidasi (EC 1.9.3.1)
 - Complesso V: ATP sintasi

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 34 -

34

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 ₅₆₀ , 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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 35 -

35

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 ₅₆₀ , 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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

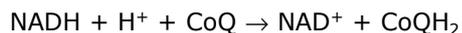
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 36 -

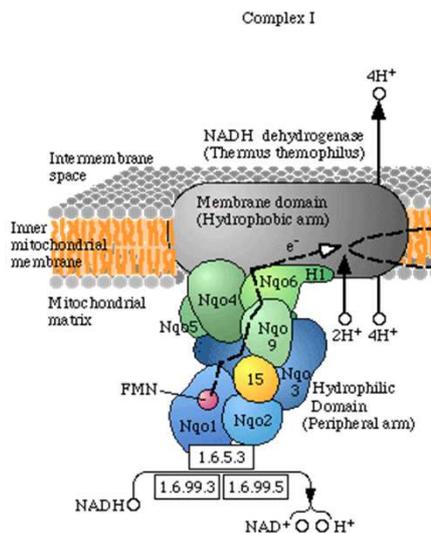
36

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.



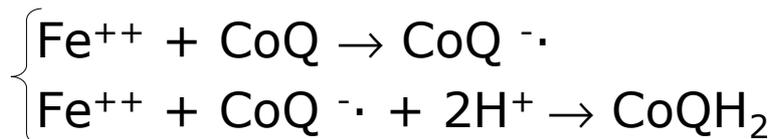
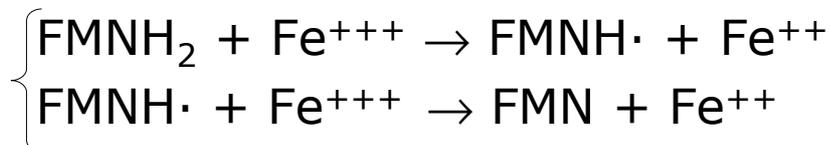
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 37 -

37

Complesso I

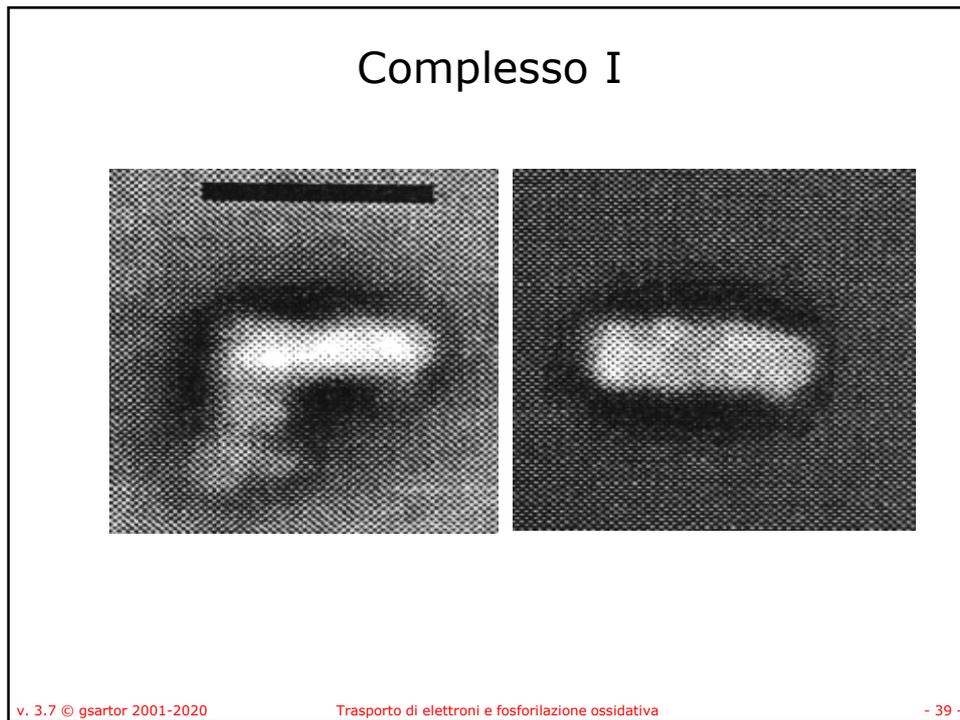


v. 3.7 © gsartor 2001-2020

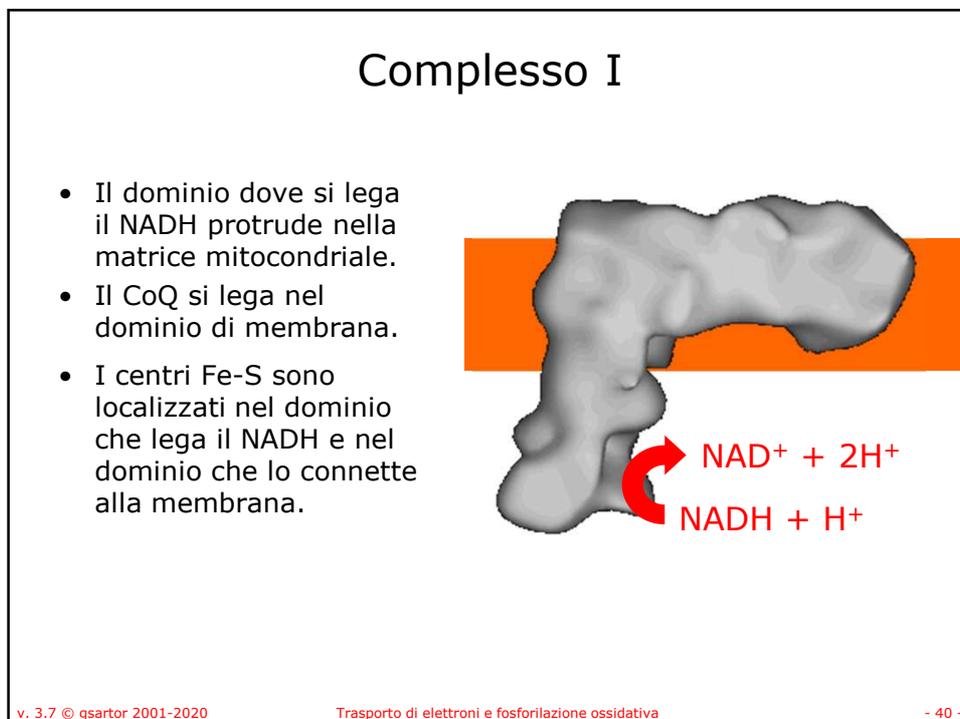
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 38 -

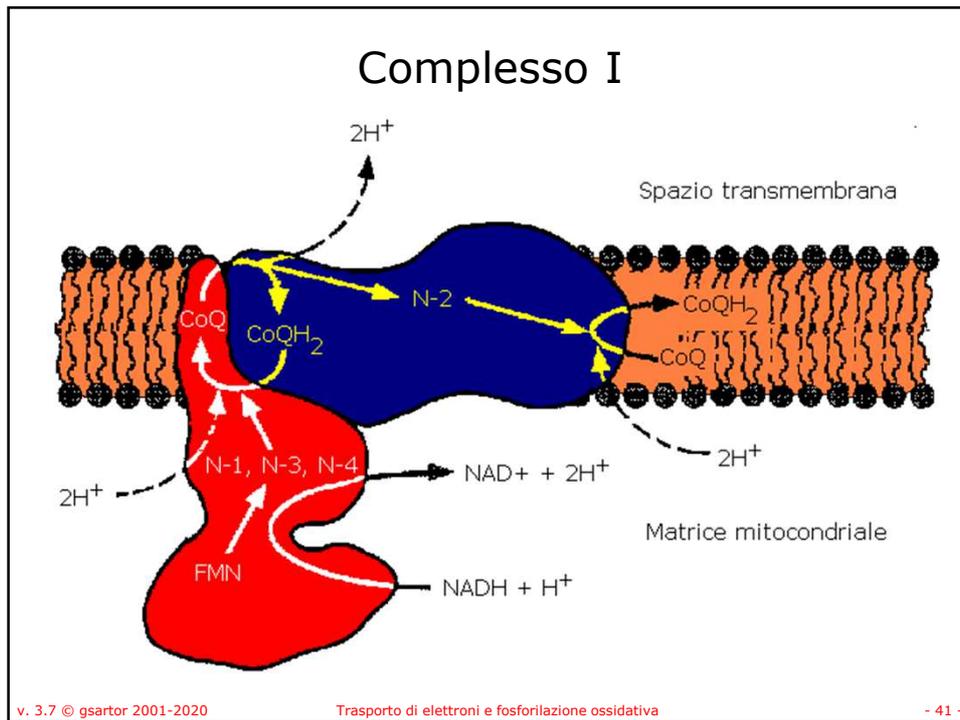
38



39



40



41

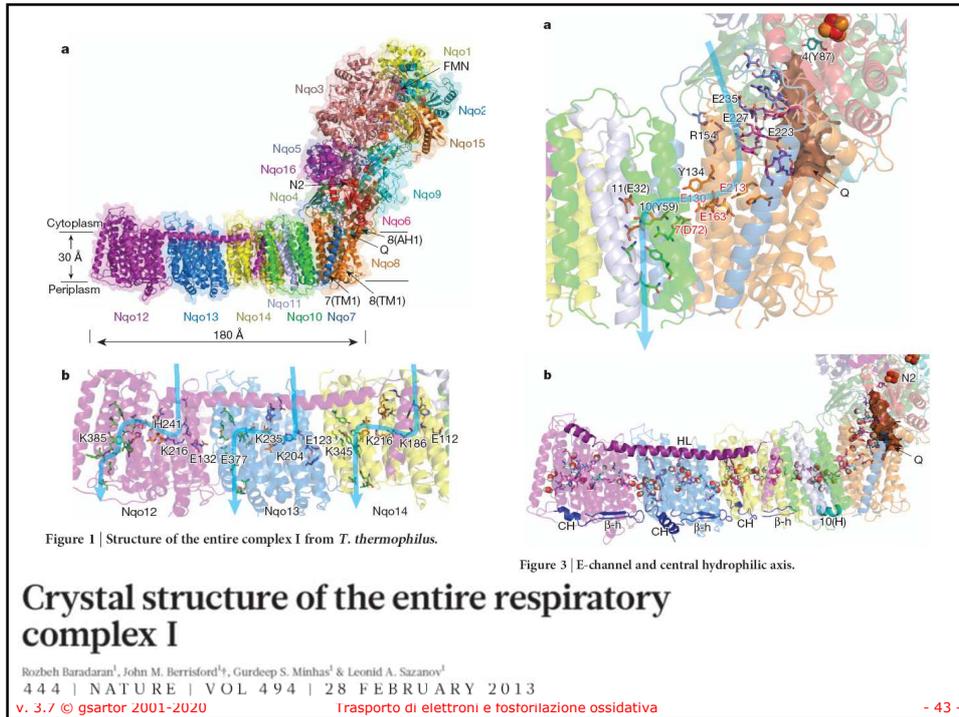
NATURE | Vol 465 | 27 May 2010 NEWS & VIEWS

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 structures¹ 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/H 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).

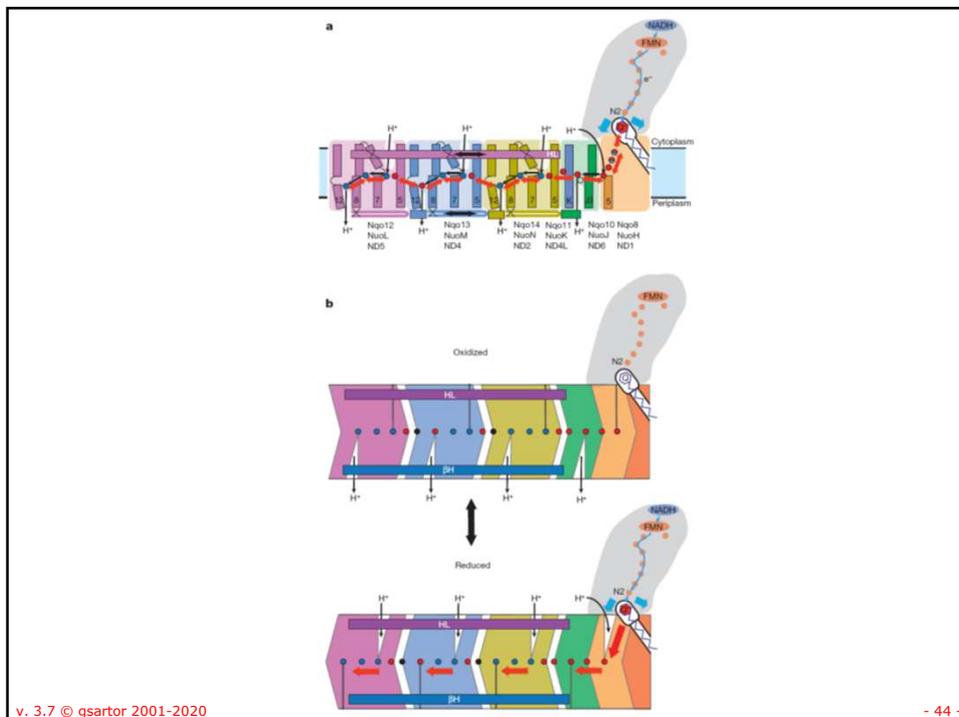
The architecture of respiratory complex I

Rouslan G. Efremov*, Rozbeh Baradaran* & Leonid A. Sazanov - 42 -

42



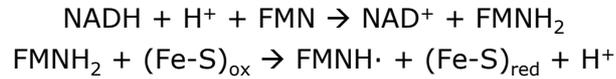
43



44

Complesso I

- Ossidazione del NADH



- Dopo che il centro Fe-S è riossidato per trasferimento di un elettrone al successivo, può accettare il secondo elettrone dal FMNH·



- 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.

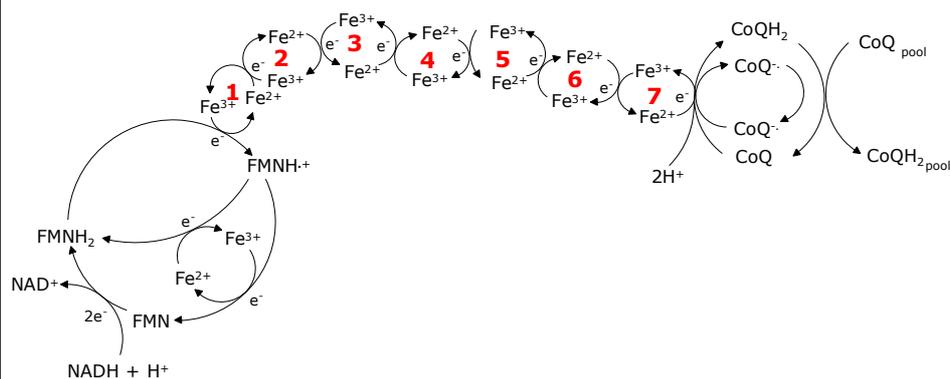
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 45 -

45

Complesso I – ossidazione del NADH



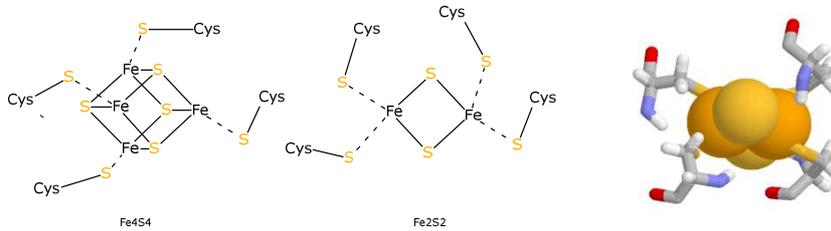
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 46 -

46

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.

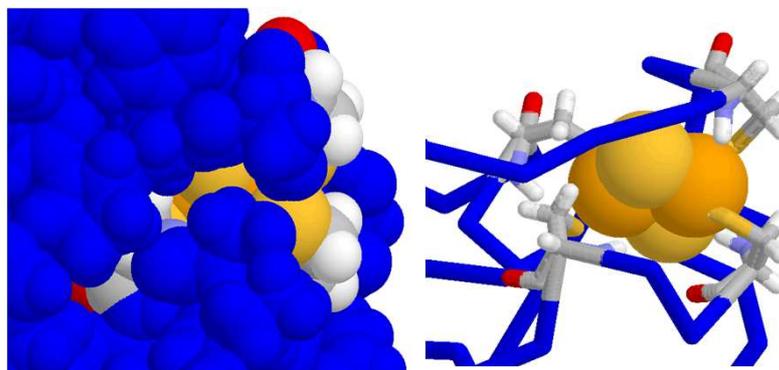
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 47 -

47

Trasportatori di elettroni: i centri Fe-S



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

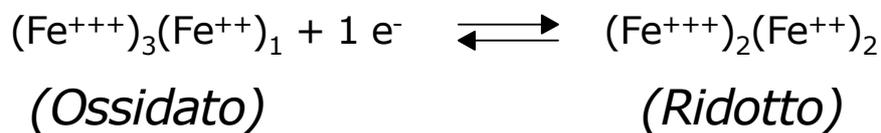
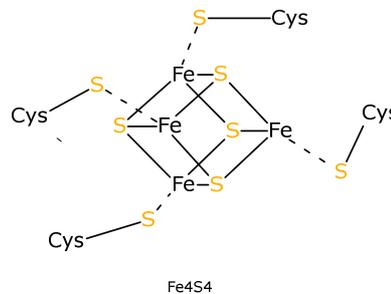
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 48 -

48

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.



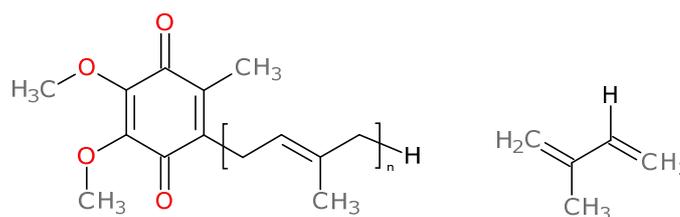
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 49 -

49

Trasportatori di elettroni: Coenzima Q



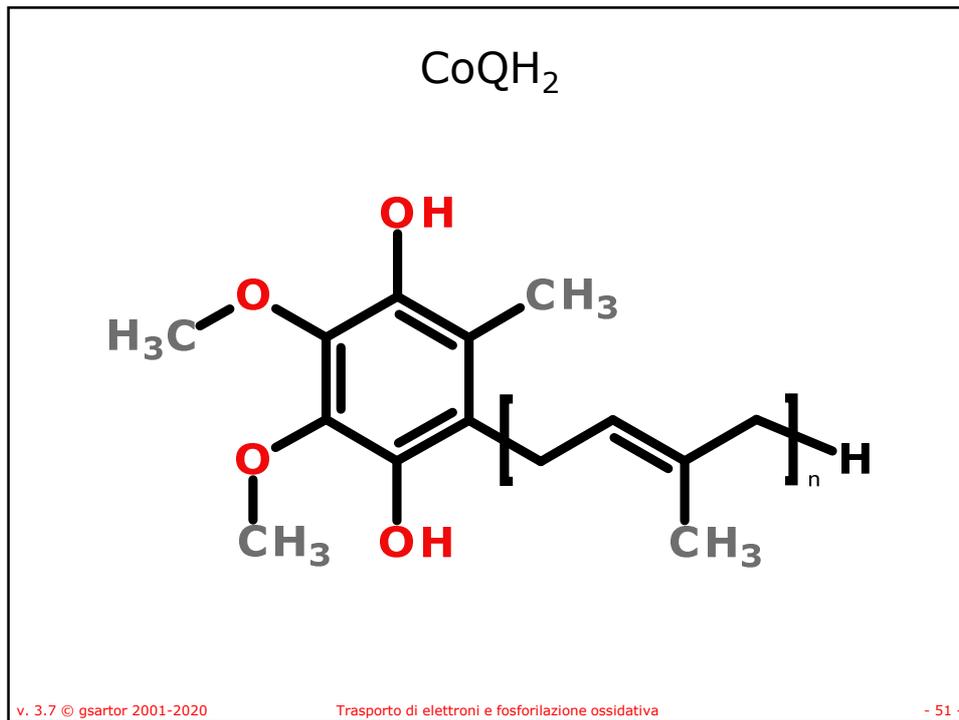
- Il Coenzima Q (CoQ, Q, ubiquinone) è un trasportatore di elettroni idrofobico.
- È immerso nella membrana
- La struttura del CoQ comprende una lunga coda isoprenoide ($n = 10$) che è responsabile dell'idrofobicità.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 50 -

50



51

Trasportatori di elettroni: Coenzima Q

- Quando è legato al proprio sito il CoQ può accettare un e⁻ per formare un radicale semichinone (Q^{•-}).
- Quindi il CoQ, come FMN, può trasferire uno o due e⁻ fra donatori e accettori.
- Il CoQ funziona come un trasportatore mobile di e⁻ all'interno della membrana interna mitocondriale.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 52 -

52

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 c1, Fe-S _{Rieske}
IV (EC 1.9.3.1)	Citocromo ossidasi	13	cyt a, cyt a ₃ , Cu _A , Cu _B

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 53 -

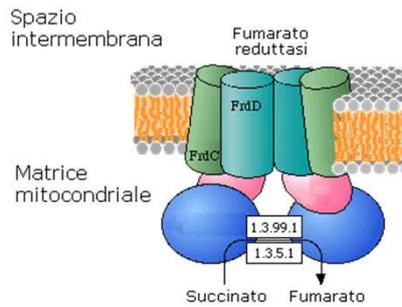
53

Trova l'intruso



54

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.

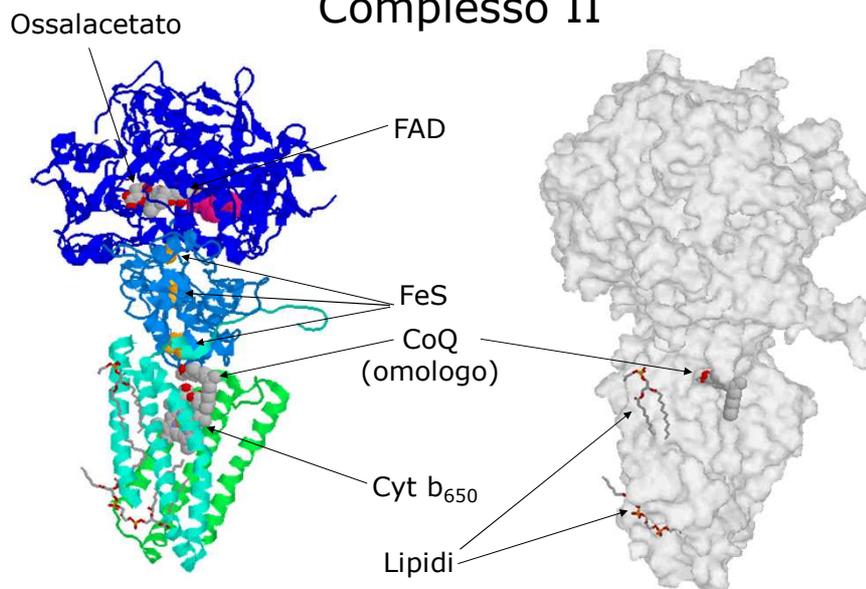
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 57 -

57

Complesso II

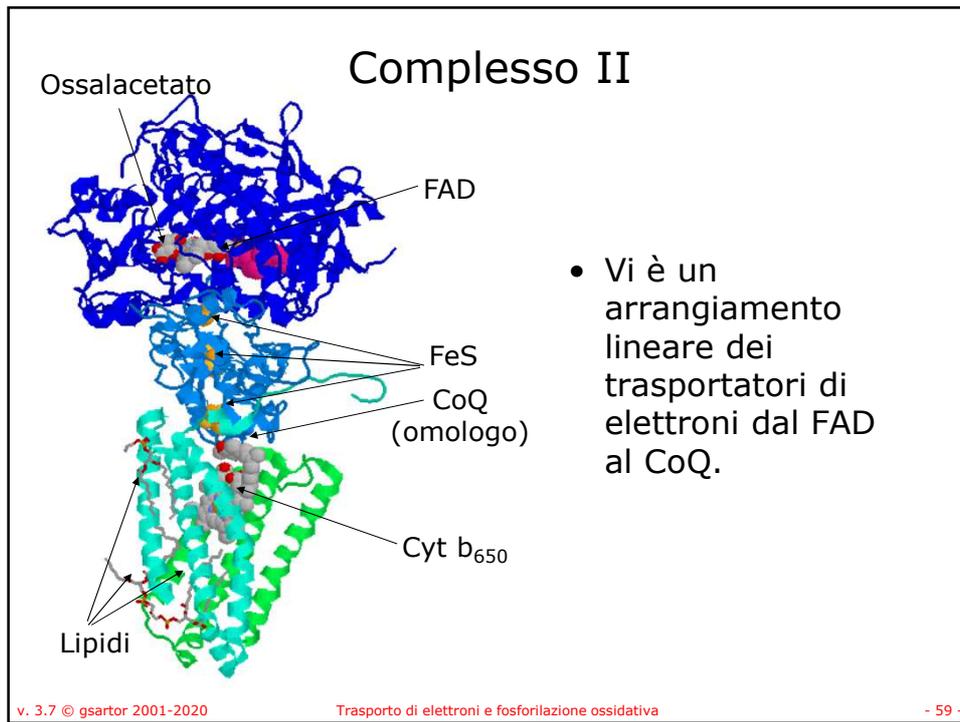


v. 3.7 © gsartor 2001-2020

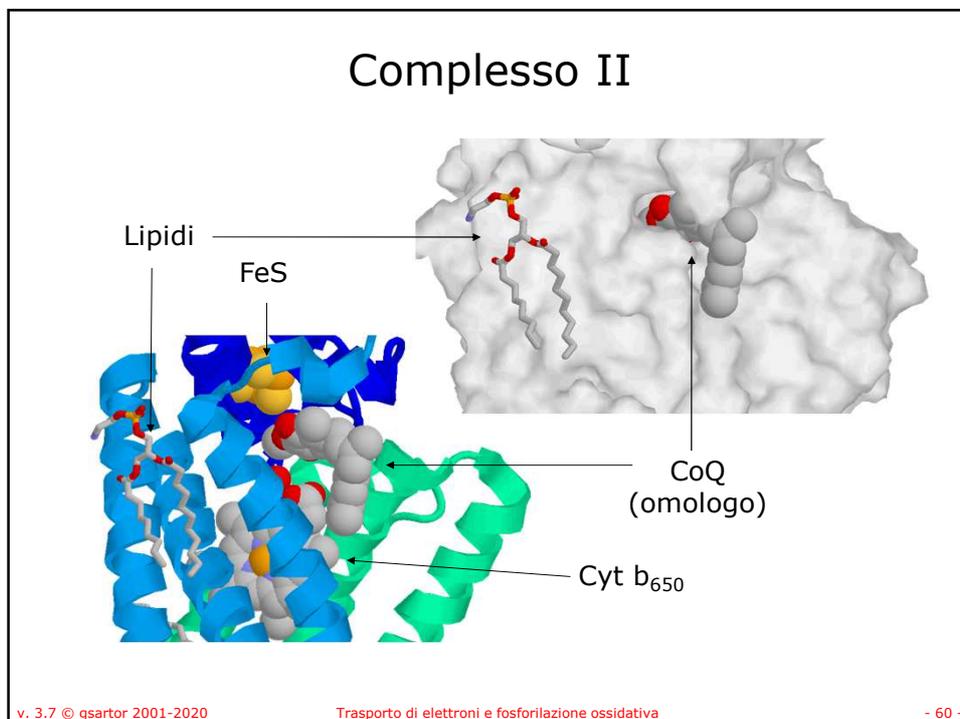
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 58 -

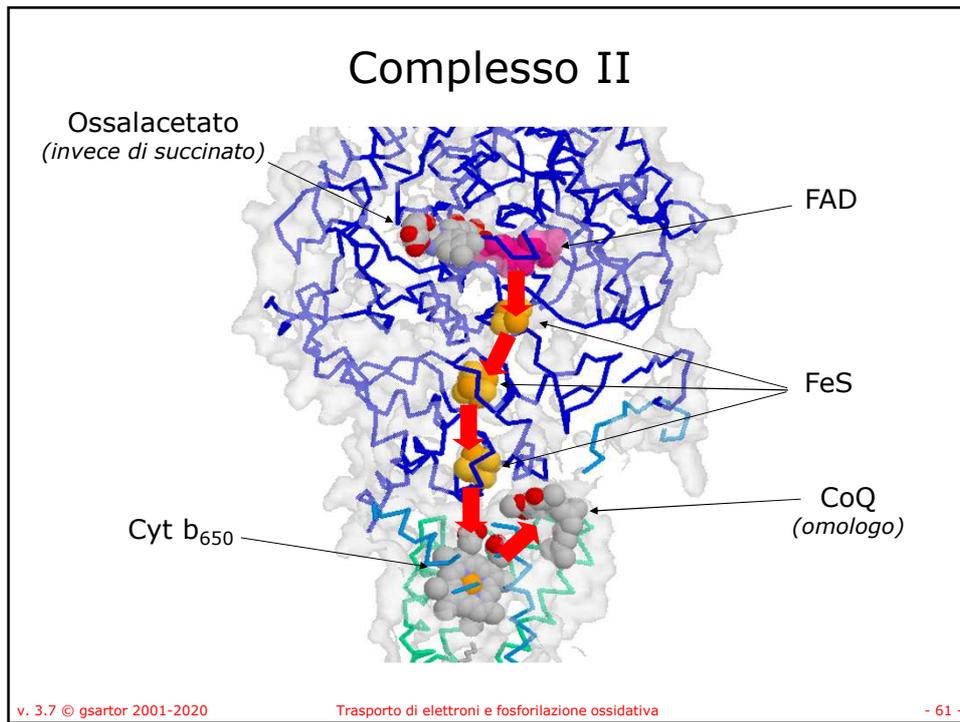
58



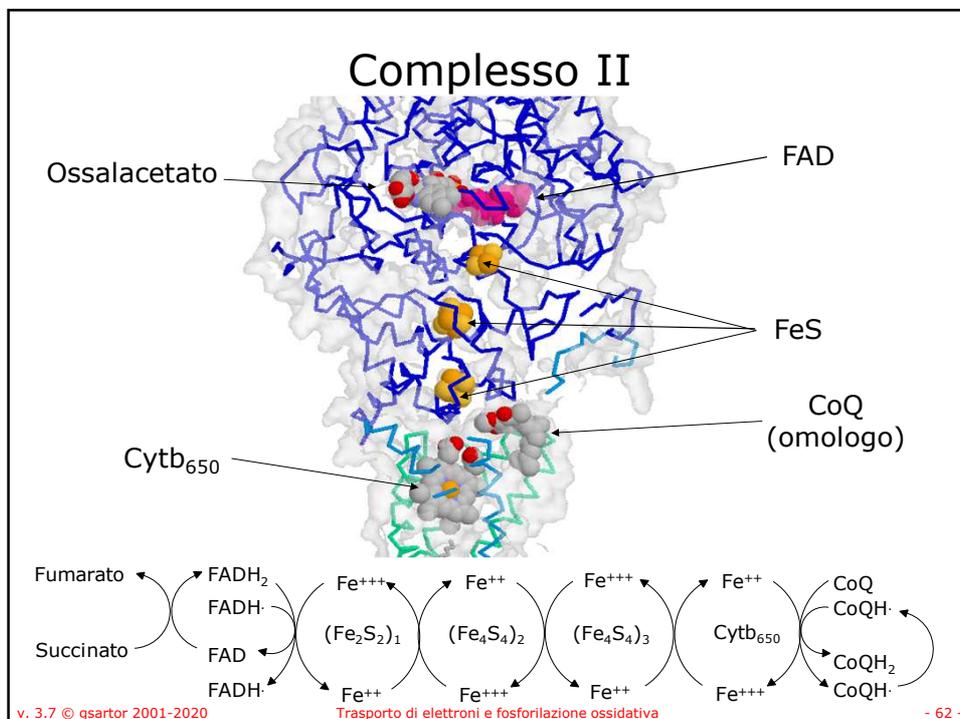
59



60



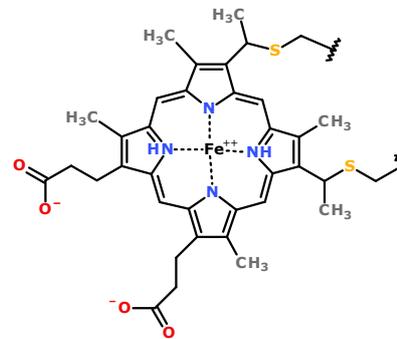
61



62

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.



Eme c

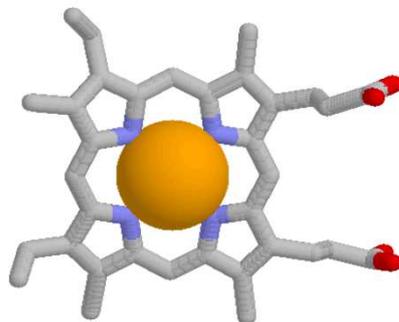
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 63 -

63

Trasportatori di elettroni: gruppo Eme



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



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

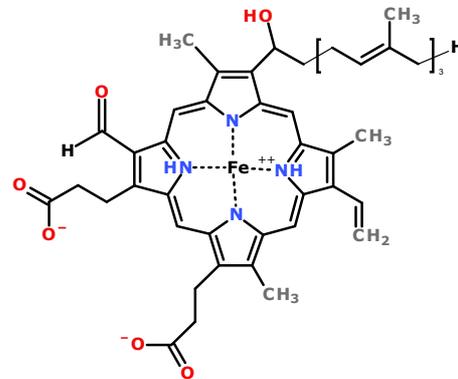
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 64 -

64

Trasportatori di elettroni: Gruppo Eme a

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



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 65 -

65

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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 66 -

66

Complesso III

Complex III

2x2H⁺

Quinone pool

UQ → UQH₂

Cyt b

Cyt c₁

ISP

8, 9, 10, 11

Core 1, Core 2

7.1.1.8

2H⁺

Cytochrome bc₁ complex (bovine)

- 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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 67 -

67

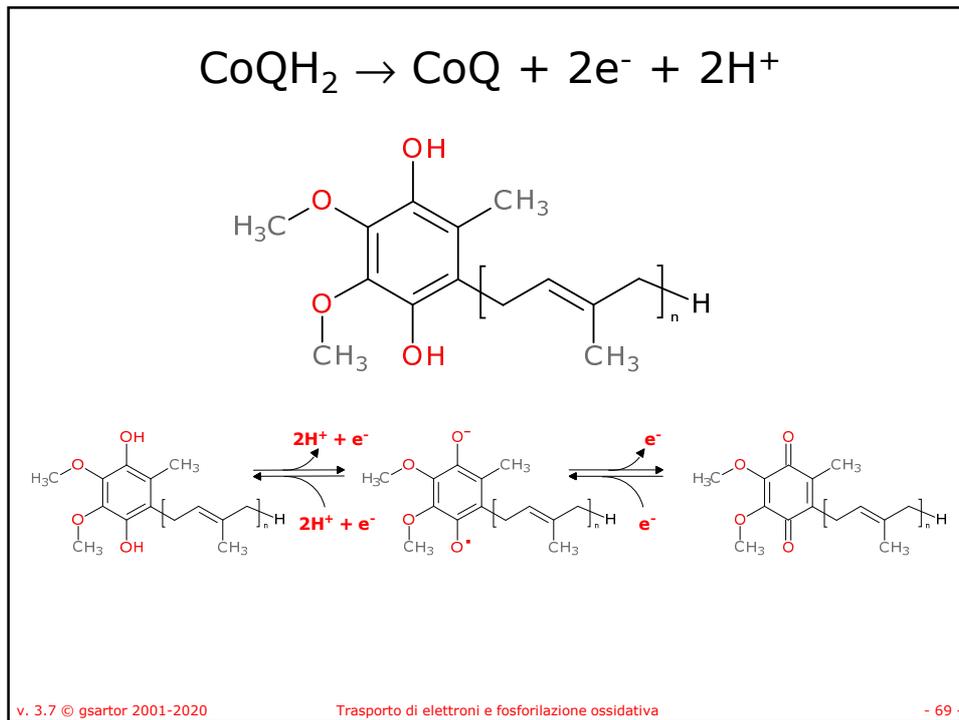
Complesso III

1BCC

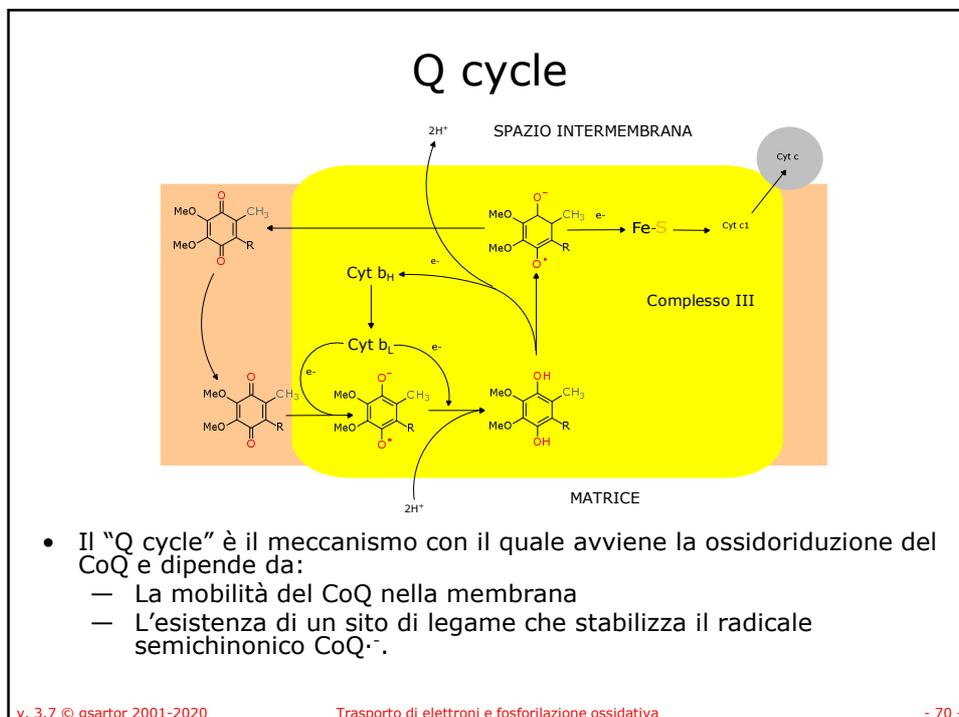
- Ha:
 - un sito di legame del CoQH₂
 - un sito di legame del CoQ
- Gruppi prostetici:
 - Una coppia di citocromi b (cit b_H e cit b_L)
 - Un citocromo c (cit c₁)
 - Un centro Ferro Zolfo (Fe₂S₂)

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 68 -

68



69



70

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. Ubiquinol (UQH₂) is oxidized to ubiquinone (UQ) in the matrix, releasing two protons (2H⁺) into the intermembrane space. Electrons from UQH₂ are transferred to the heme b_L center, then to the heme b_H center, and finally to the Fe-S center, which reduces cytochrome c1. The resulting ubiquinone semiquinone radical (UQ•⁻) is then reduced back to ubiquinol by another ubiquinol molecule, which is oxidized to ubiquinone, releasing another 2H⁺ into the intermembrane space. This cycle repeats, resulting in a total of 4H⁺ pumped per UQH₂ molecule.

1

- Il CoQH₂ è legato al proprio sito nella proteina.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 71 -

71

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. Ubiquinol (UQH₂) is oxidized to ubiquinone (UQ) in the matrix, releasing two protons (2H⁺) into the intermembrane space. Electrons from UQH₂ are transferred to the heme b_L center, then to the heme b_H center, and finally to the Fe-S center, which reduces cytochrome c1. The resulting ubiquinone semiquinone radical (UQ•⁻) is then reduced back to ubiquinol by another ubiquinol molecule, which is oxidized to ubiquinone, releasing another 2H⁺ into the intermembrane space. This cycle repeats, resulting in a total of 4H⁺ pumped per UQH₂ molecule.

2

- Il CoQH₂ cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ dell'eme b_L
- Si forma il semichinone carico negativamente
- 2 H⁺ sono rilasciati nello spazio intermembrana.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 72 -

72

Q cycle

3a

SPAZIO INTERMEMBRANA

MATRICE

Complesso III

Cyt b_H

Cyt b_L

Fe-S

Cyt c_1

Cyt c

$2H^+$

- 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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 73 -

73

Q cycle

3b

SPAZIO INTERMEMBRANA

MATRICE

Complesso III

Cyt b_H

Cyt b_L

Fe-S

Cyt c_1

Cyt c

$2H^+$

- 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 $CoQH_2$ con due H^+ provenienti dalla matrice.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 74 -

74

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. Ubiquinone (Q) is oxidized to ubiquinol (QH₂) in the matrix, releasing two protons (2H⁺) into the intermembrane space. Electrons from QH₂ are transferred to cytochromes b_H and b_L, and then to the Fe-S center. The Fe-S center then transfers electrons to cytochrome c₁, which is bound to cytochrome c. The diagram shows the chemical structures of ubiquinone and ubiquinol, and the flow of electrons and protons across the membrane.

4

- 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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 75 -

75

Q cycle

The diagram illustrates the Q cycle in Complex III. Ubiquinol (QH₂) is oxidized to ubiquinone (Q) in the matrix, releasing two protons (2H⁺) into the intermembrane space. Electrons from QH₂ are transferred to cytochromes b_H and b_L, and then to the Fe-S center. The Fe-S center then transfers electrons to cytochrome c₁, which is bound to cytochrome c. The diagram shows the chemical structures of ubiquinone and ubiquinol, and the flow of electrons and protons across the membrane.

5

- Il Fe⁺⁺ del complesso Fe-S cede un e⁻ al Fe⁺⁺⁺ del cit c₁ legato alla proteina.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 76 -

76

Q cycle

6

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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 77 -

77

Q cycle

Begin Stage 1

intermembrane space (P side)

matrix (N side)

cytochrome c_1

cytochrome b

Rieske iron-sulfur protein

other subunits

cytochrome c Fe(III) (oxidized)

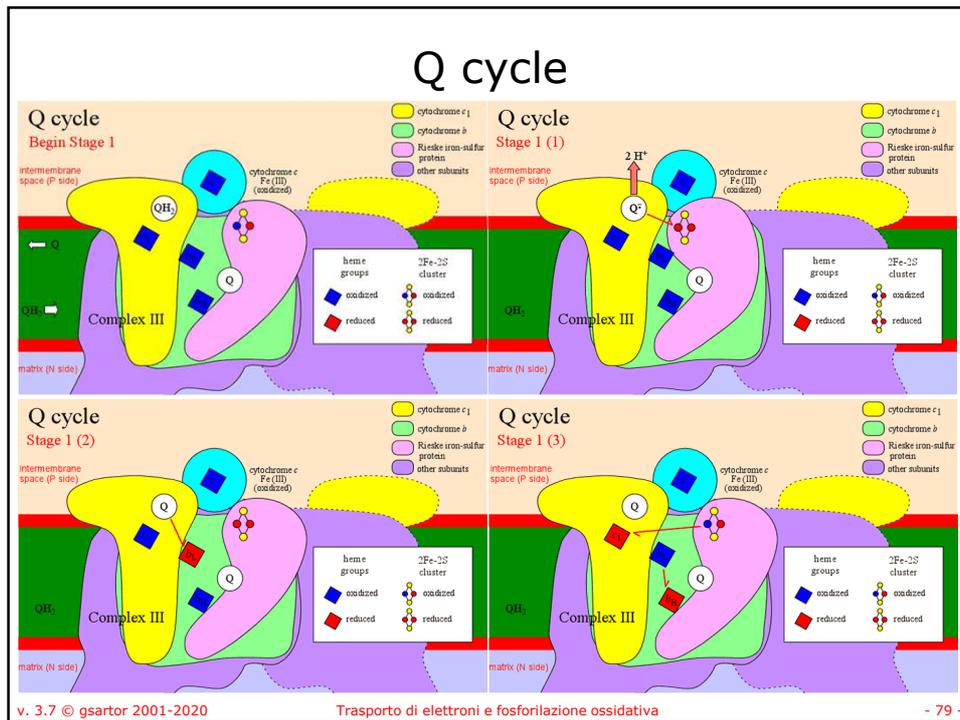
Complex III

heme groups	2Fe-2S cluster
■ oxidized	oxidized
■ reduced	reduced

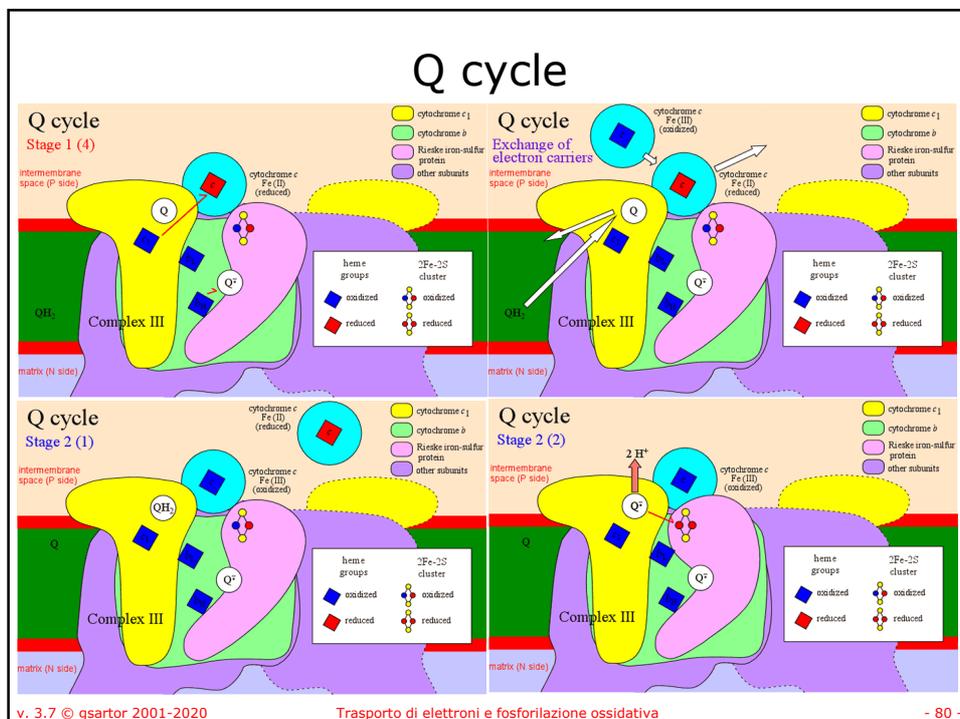
http://guweb2.gonzaga.edu/faculty/cronk/biochem/P-index.cfm?definition=Q_cycle
 Non più attivo

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 78 -

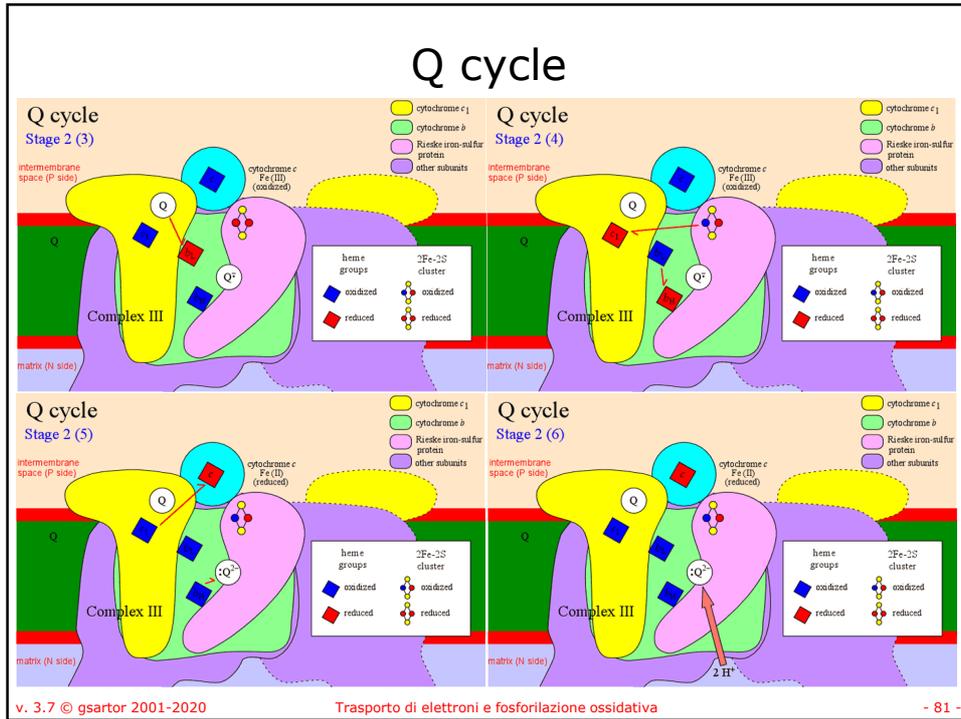
78



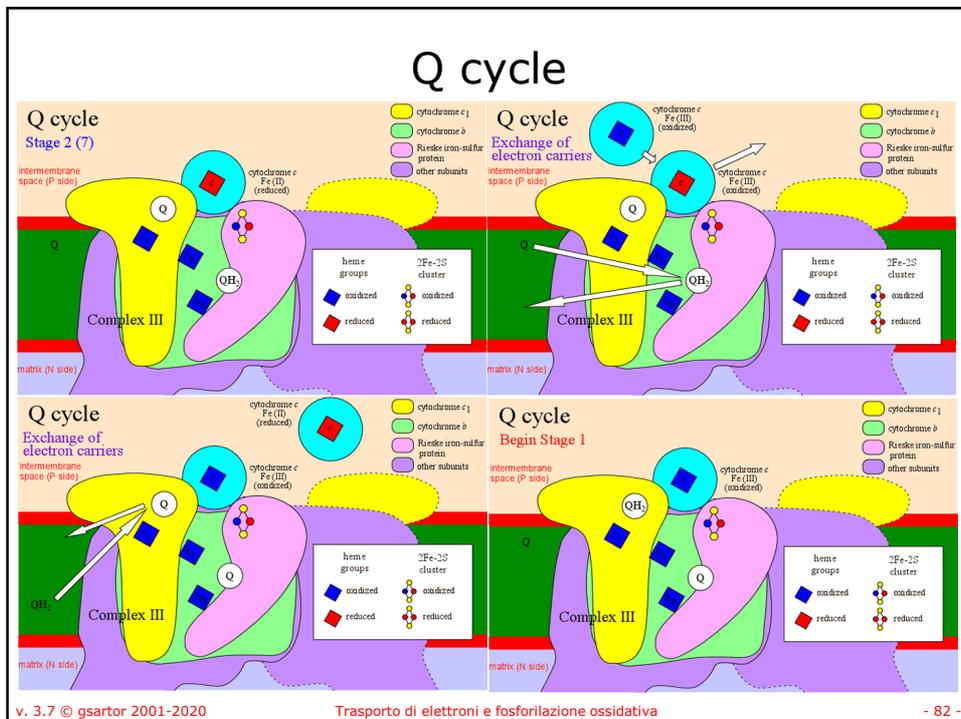
79



80



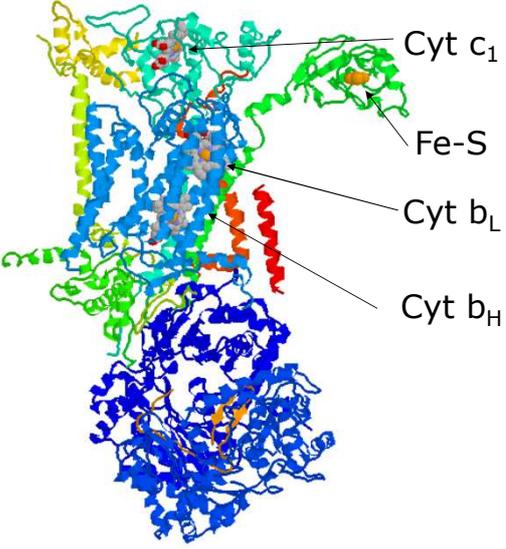
81



82

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.



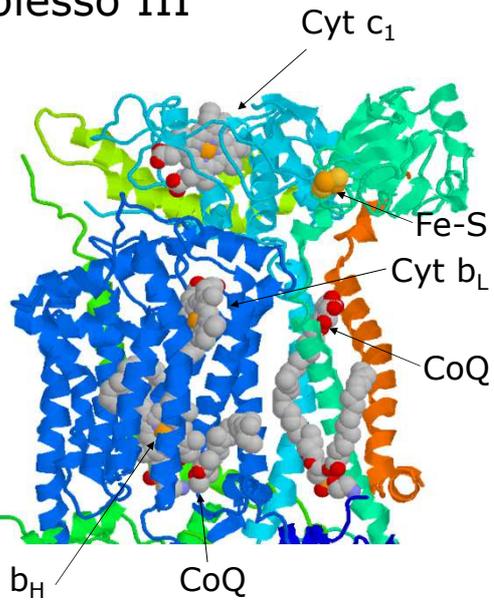
The diagram shows the 3D structure of Complex III. The Rieske Fe-S center is highlighted in red and is connected to the rest of the protein by a flexible arm. Other components shown include Cyt c_1 (green), Cyt b_L (orange), and Cyt b_H (blue). The structure is set against a white background.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 83 -

83

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.

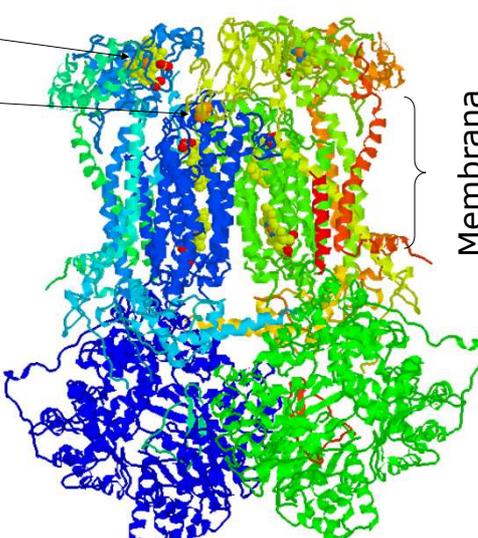


This diagram provides a different view of Complex III, showing the interaction between the Rieske Fe-S center (red) and ubiquinone (CoQ, grey spheres). Cyt c_1 (green) and Cyt b_L (orange) are also visible. Cyt b_H is shown in blue at the bottom. The structure is set against a white background.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 84 -

84

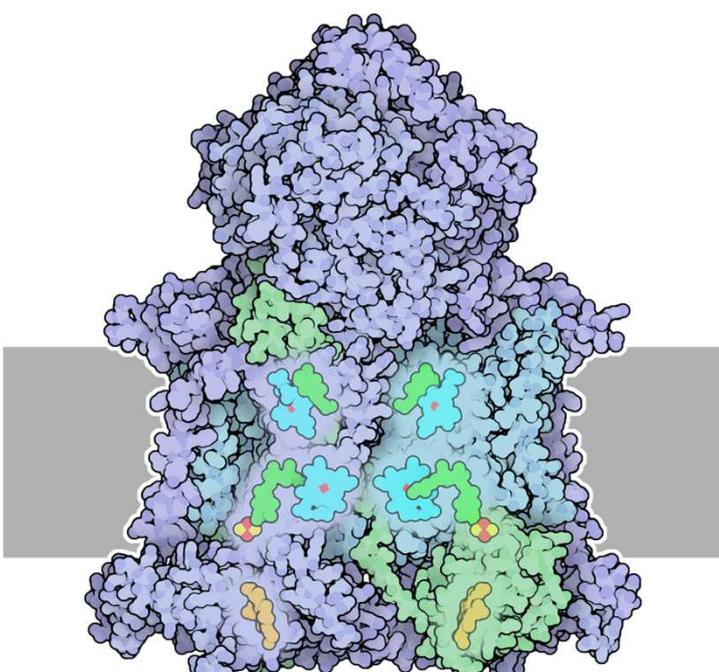
Complesso III



- 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.

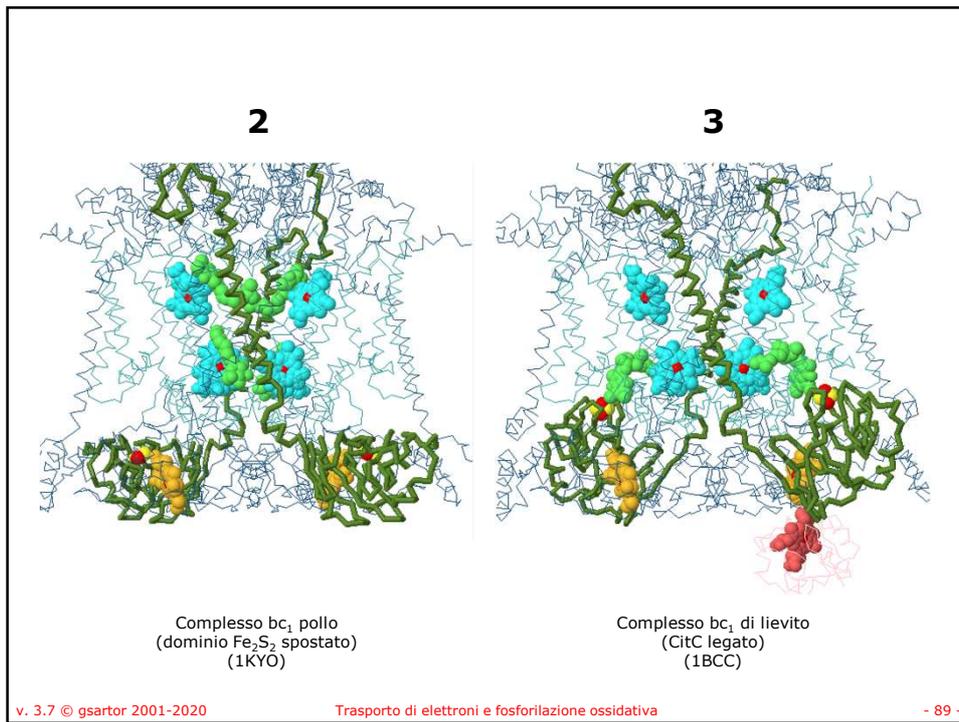
v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 85 -

85

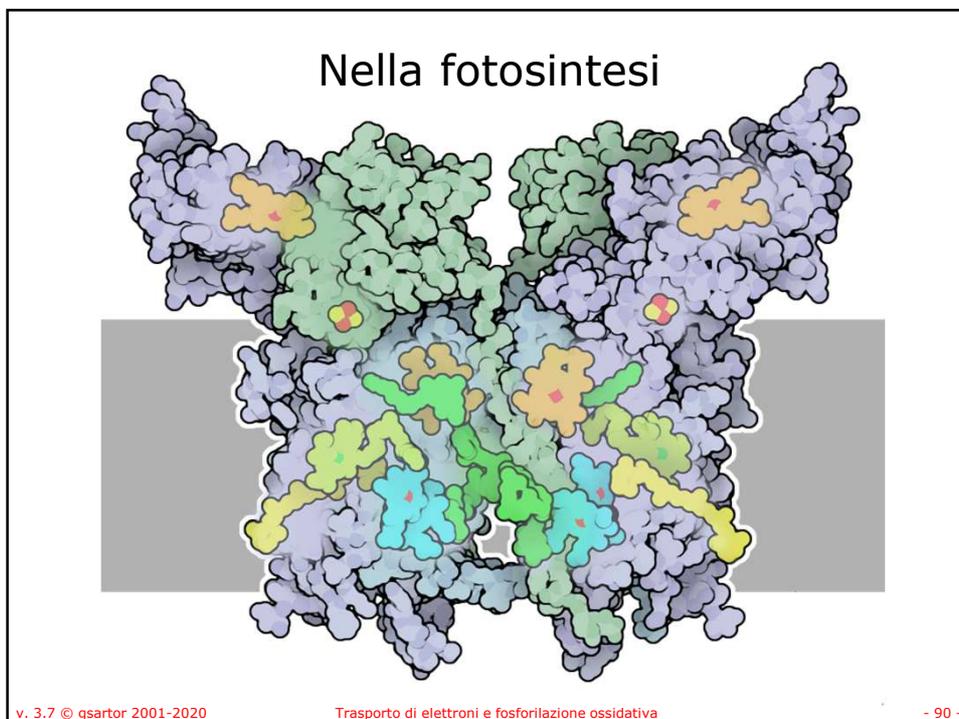


v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 86 -

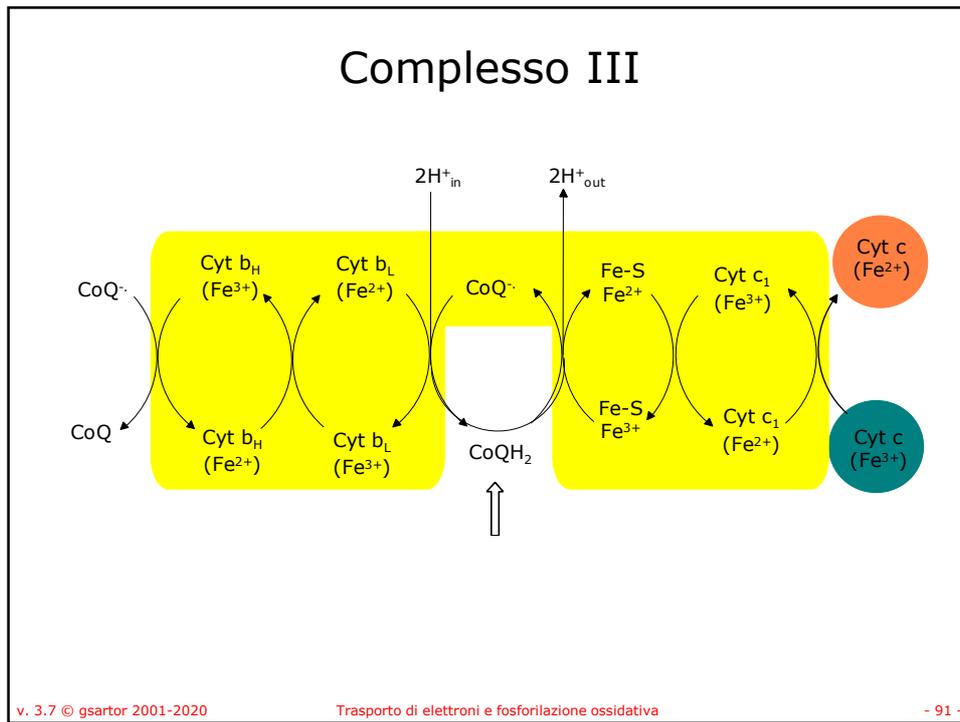
86



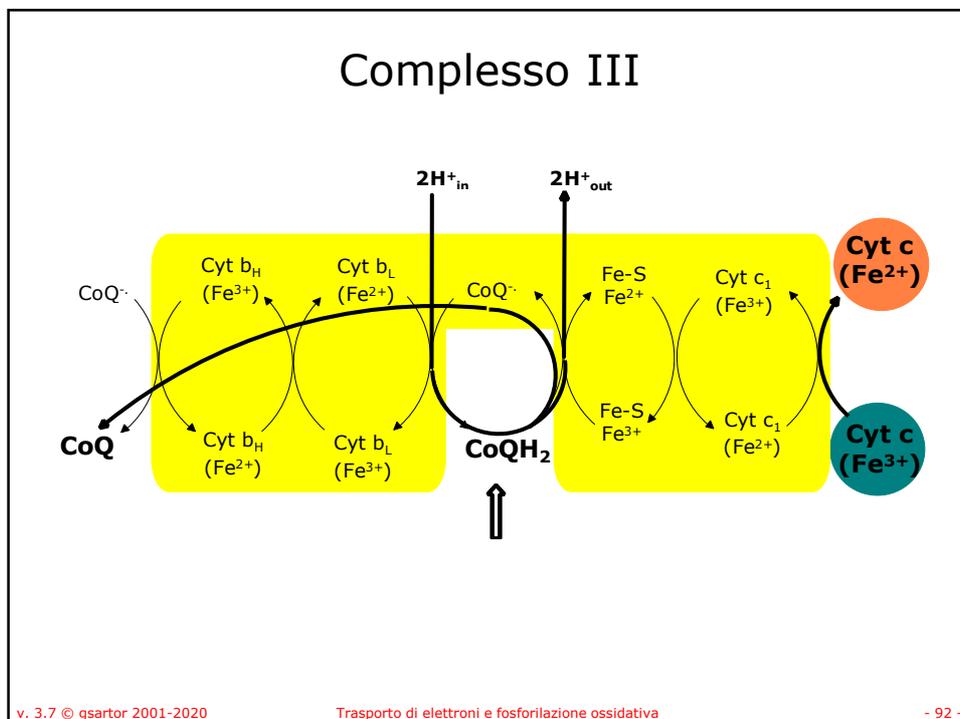
89



90



91



92

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.

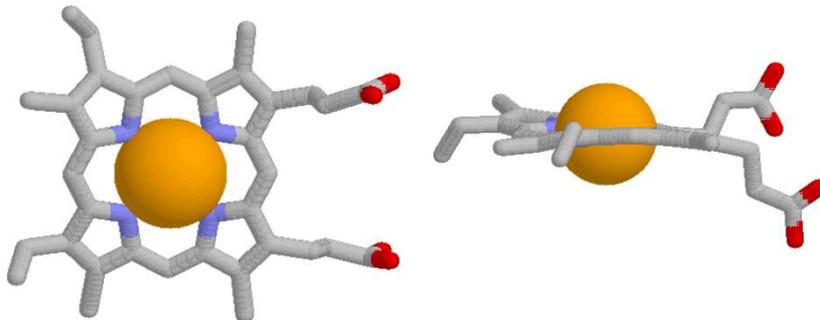
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 93 -

93

Eme nel citocromo c



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

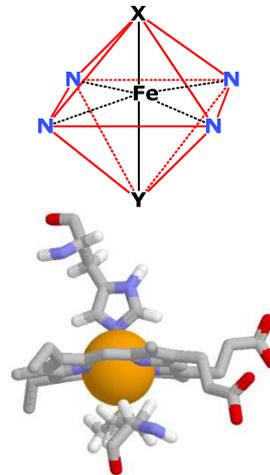
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 94 -

94

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.



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

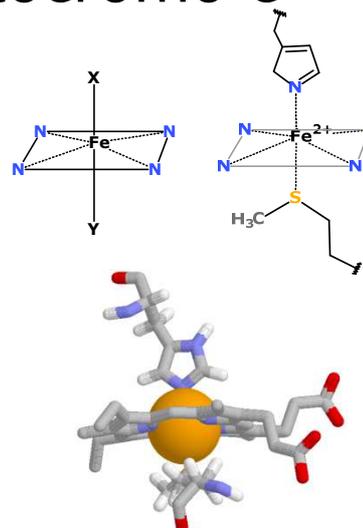
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 95 -

95

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.



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

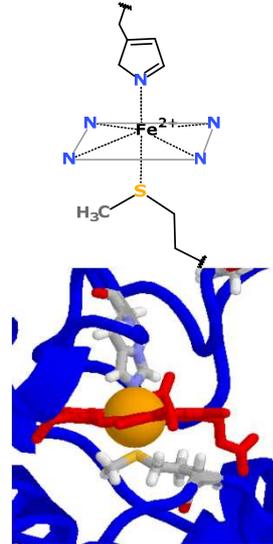
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 96 -

96

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.



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

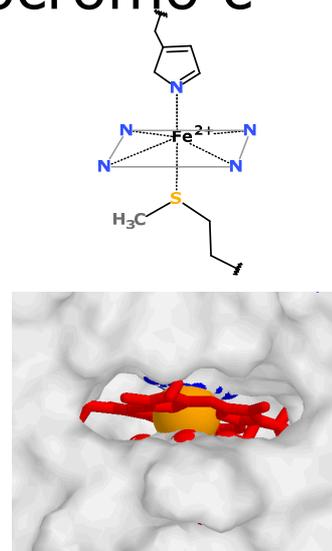
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 97 -

97

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.



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

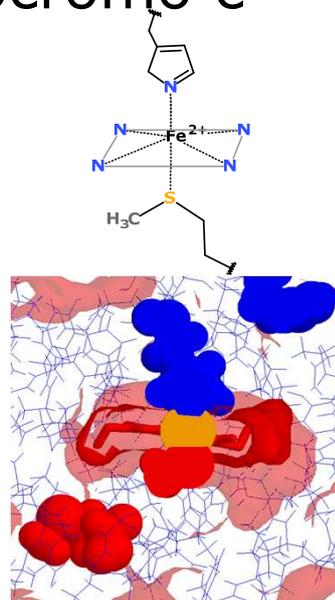
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 98 -

98

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.



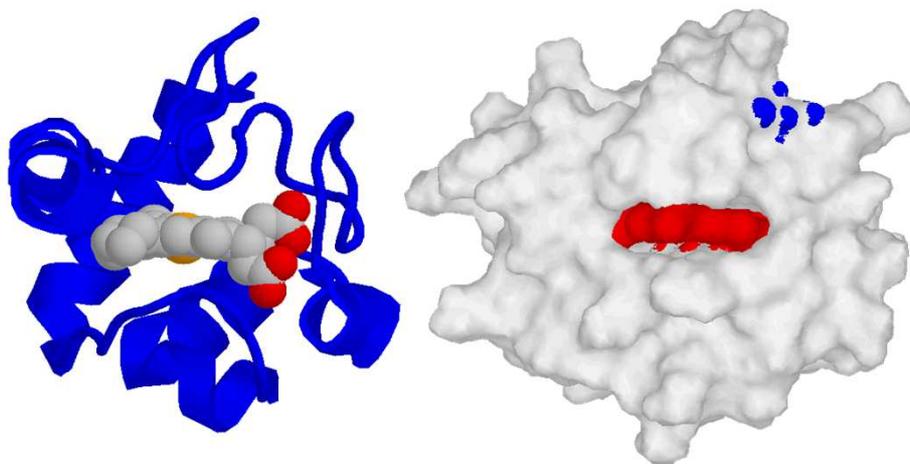
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 99 -

99

Citocromo c



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

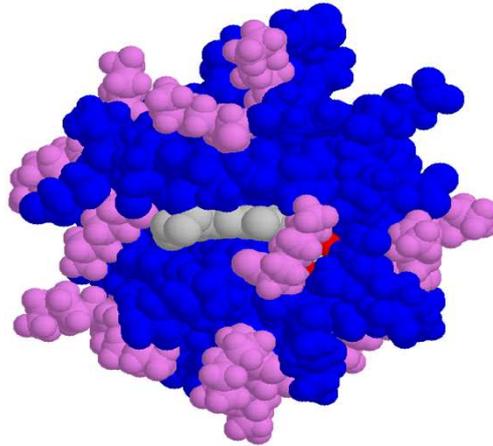
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 100 -

100

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).



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

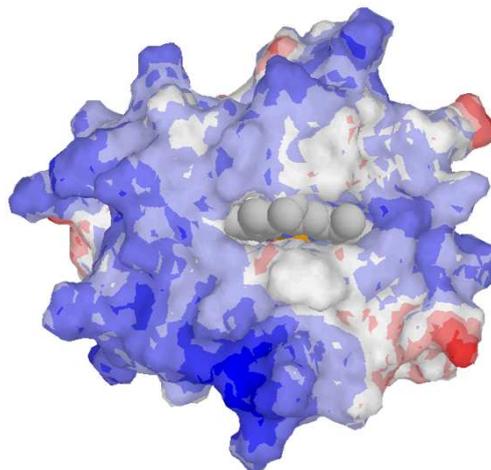
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 101 -

101

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).



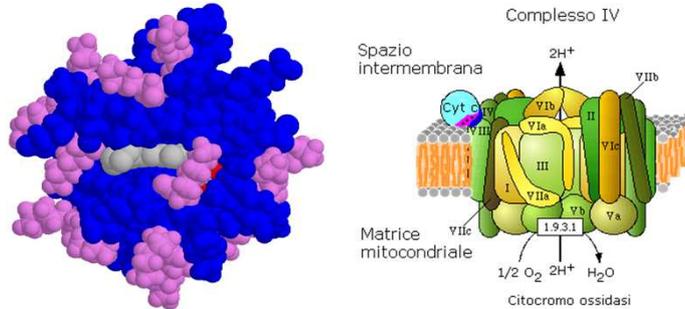
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 102 -

102

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.

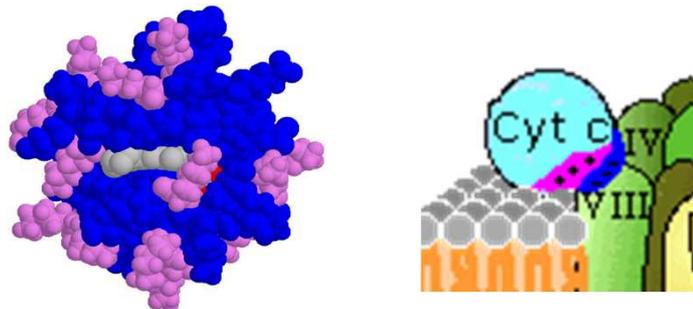
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 103 -

103

Citocromo c



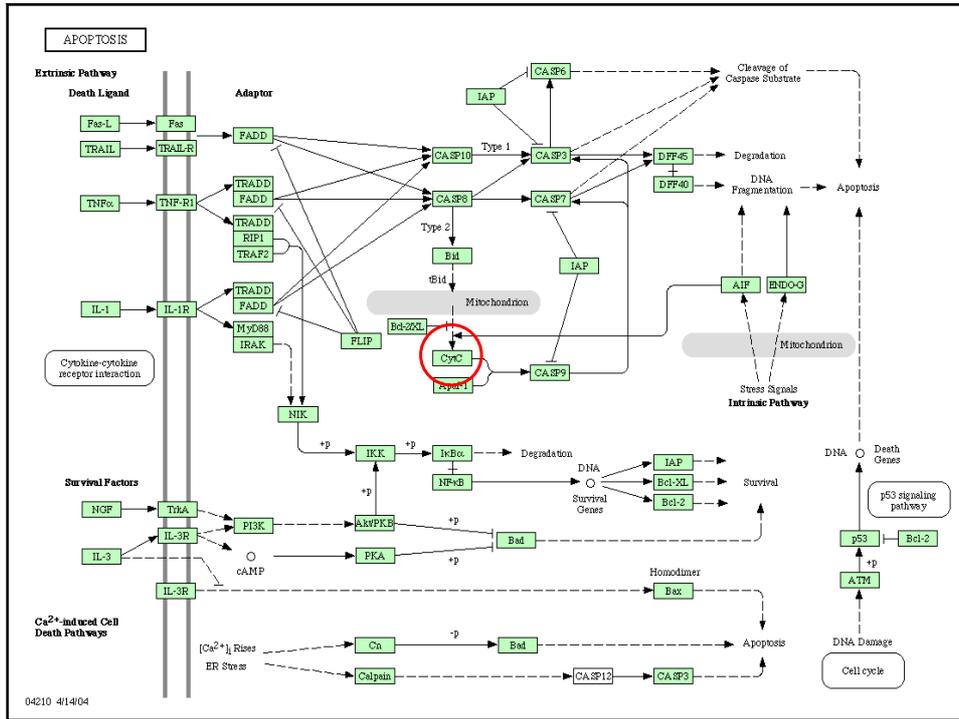
- I residui di Lys interagiscono con la superficie carica negativamente del complesso III che lega il Cyt c e dal quale riceve un elettrone.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

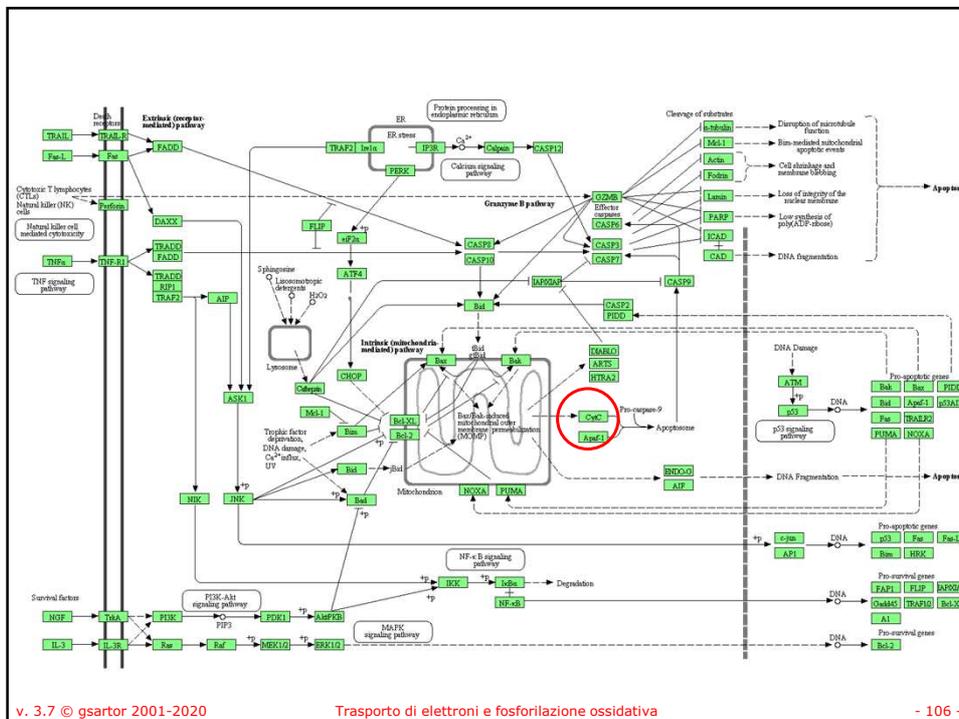
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 104 -

104



105



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 106 -

106

KEGG Homo sapiens (human): 54205

Entry	54205	CDS	T01001
Gene name	CYCS, CYC, HCS, THC4		
Definition	(RefSeq) cytochrome c, somatic		
KO	K08738	cytochrome c	
Organism	hsa Homo sapiens (human)		
Pathway	hsa00920	Sulfur metabolism	
	hsa01100	Metabolic pathways	
	hsa04115	p53 signaling pathway	
	hsa04210	Apoptosis	
	hsa04932	Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)	
	hsa05010	Alzheimer's disease	
	hsa05012	Parkinson's disease	
	hsa05014	Amyotrophic lateral sclerosis (ALS)	
	hsa05016	Huntington's disease	
	hsa05134	Legionellosis	
	hsa05145	Toxoplasmosis	
	hsa05152	Tuberculosis	
	hsa05161	Hepatitis B	
	hsa05164	Influenza A	
	hsa05168	Herpes simplex infection	
	hsa05200	Pathways in cancer	
	hsa05210	Colorectal cancer	
	hsa05222	Small cell lung cancer	
	hsa05416	Viral myocarditis	
Disease	H00978	Thrombocytopenia (THC)	

http://www.genome.jp/dbget-bin/www_bget?hsa:54205

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 107 -

107

I complessi

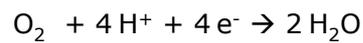
Complesso	Nome	Numero di subunità	Gruppi prostetici
I (EC 1.6.5.3)	NADH deidrogenasi o NADH-CoQ ossidoreduttasi	46	FMN, 7 Fe-S
II (EC 1.3.5.1)	Succinato-CoQ reduttasi	5	FAD, cyt b _{560r} , 3 Fe-S
III (EC 1.10.2.2)	CoQ-cyt c ossidoreduttasi	11	cyt b _H , cyt b _L , cyt c1, Fe-S _{Rieske}
IV (EC 1.9.3.1)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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 108 -

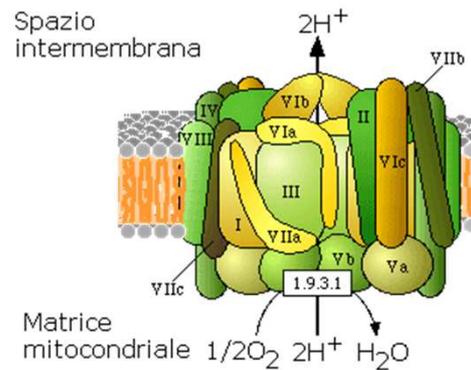
108

Complesso IV

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



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



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

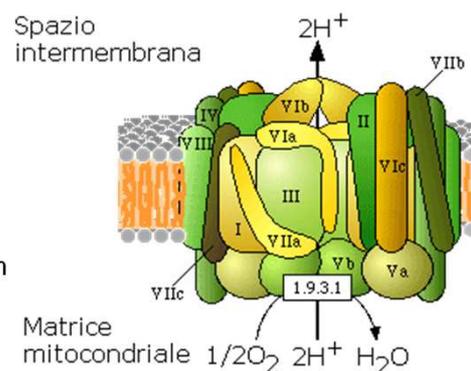
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 109 -

109

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.

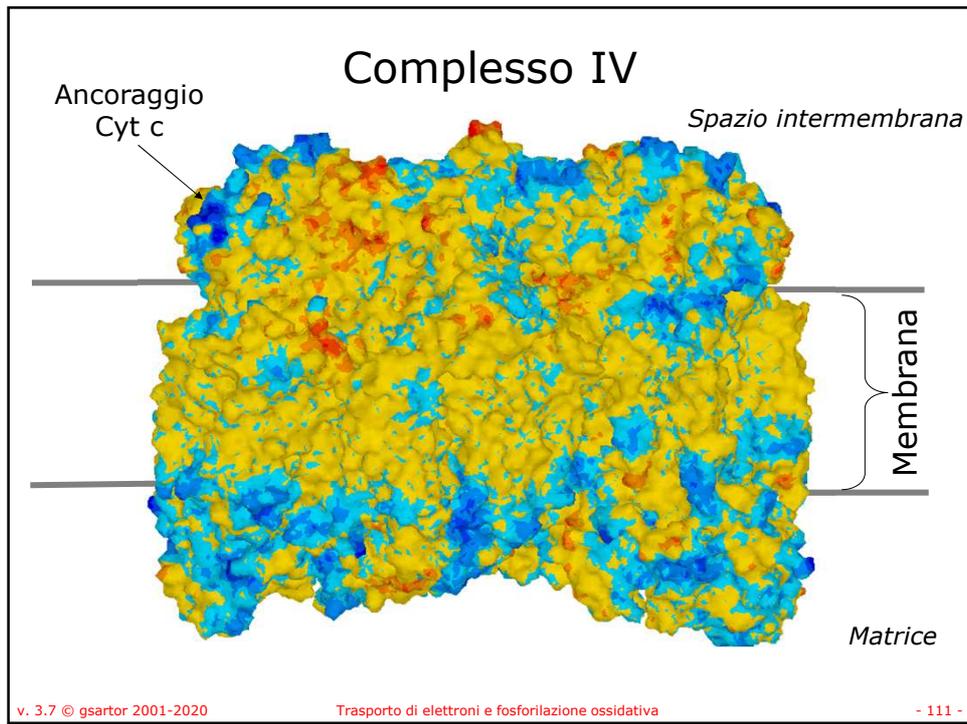


v. 3.7 © gsartor 2001-2020

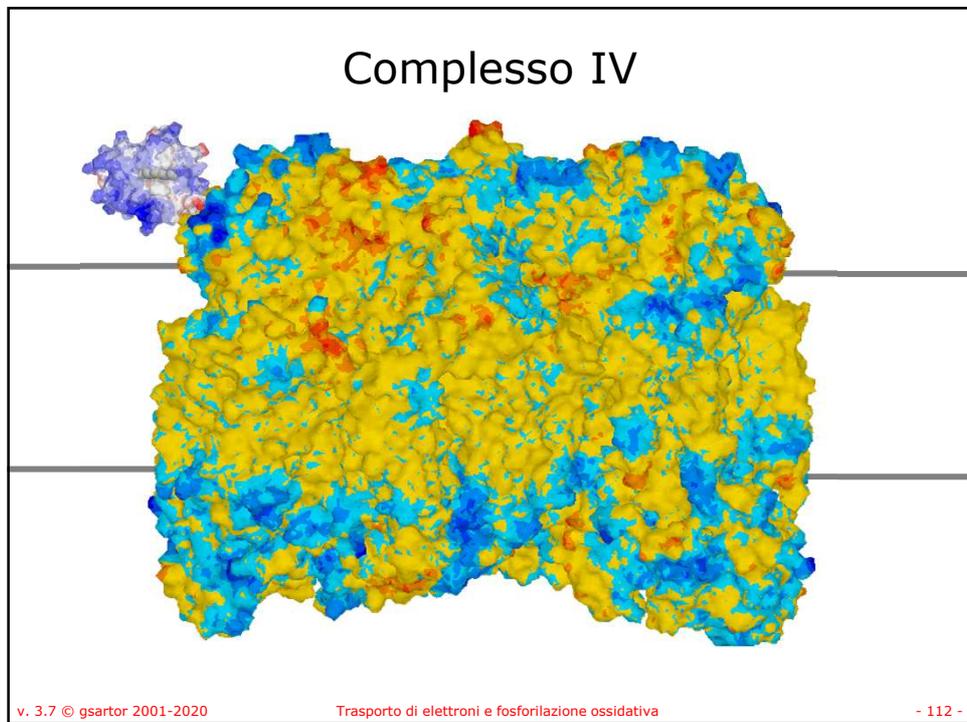
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 110 -

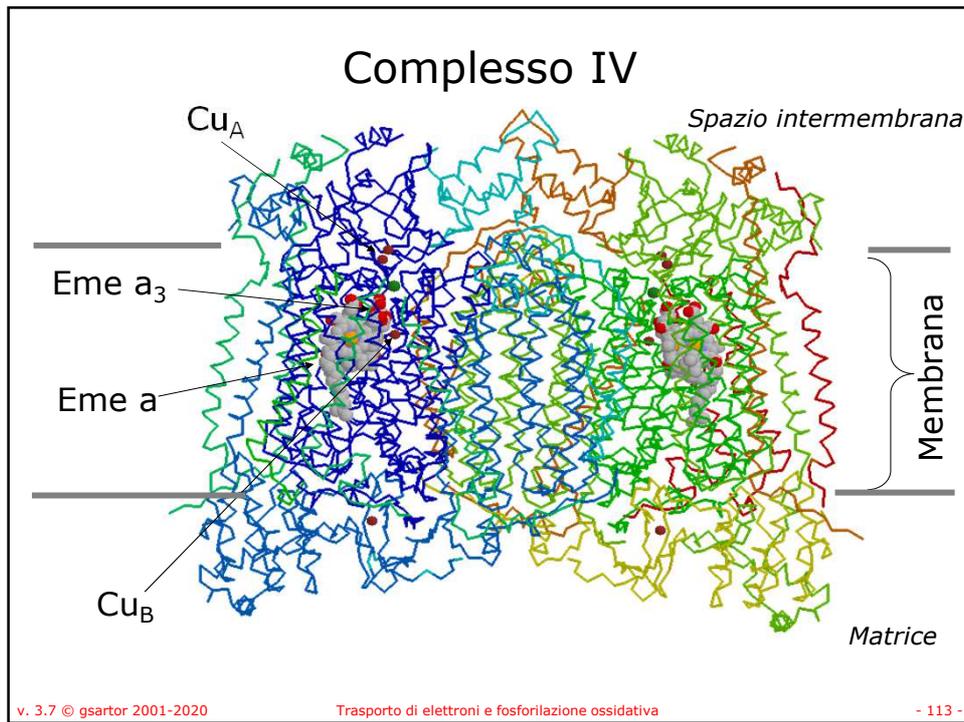
110



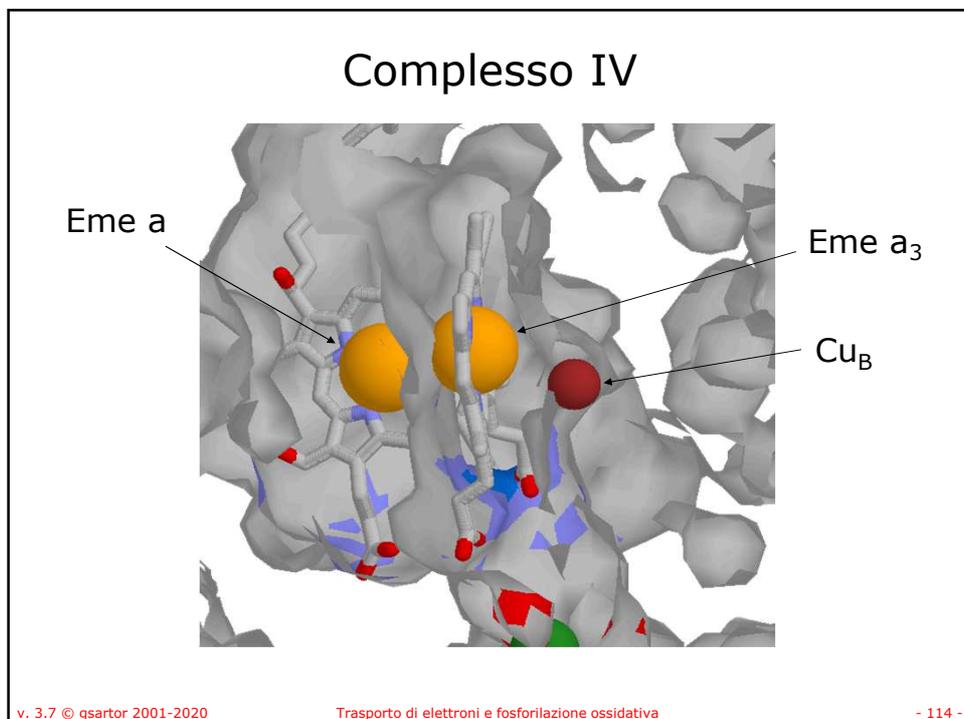
111



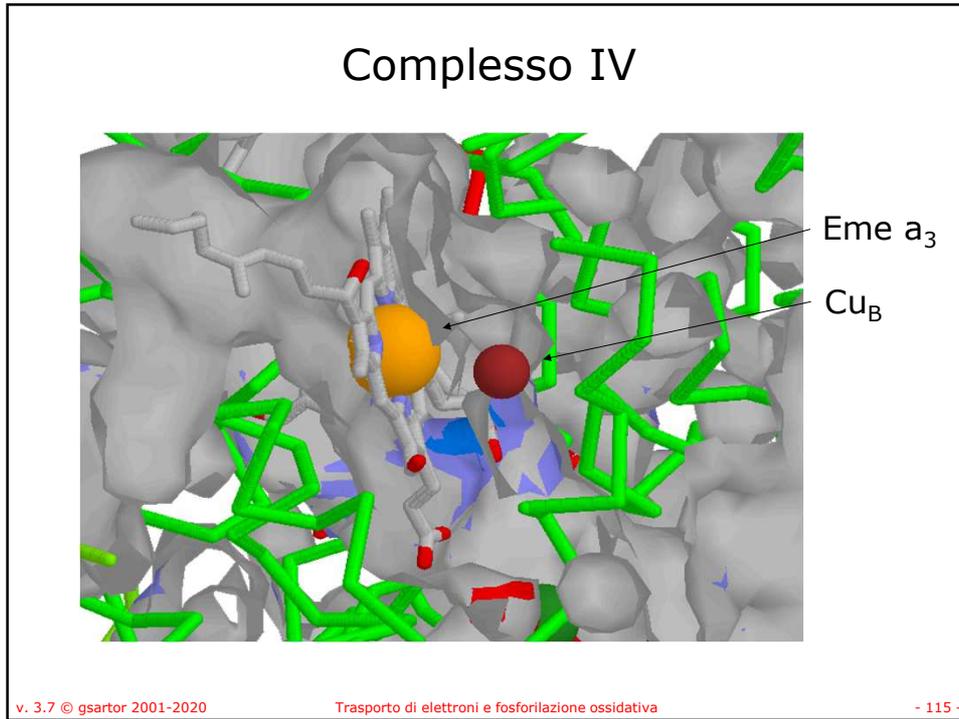
112



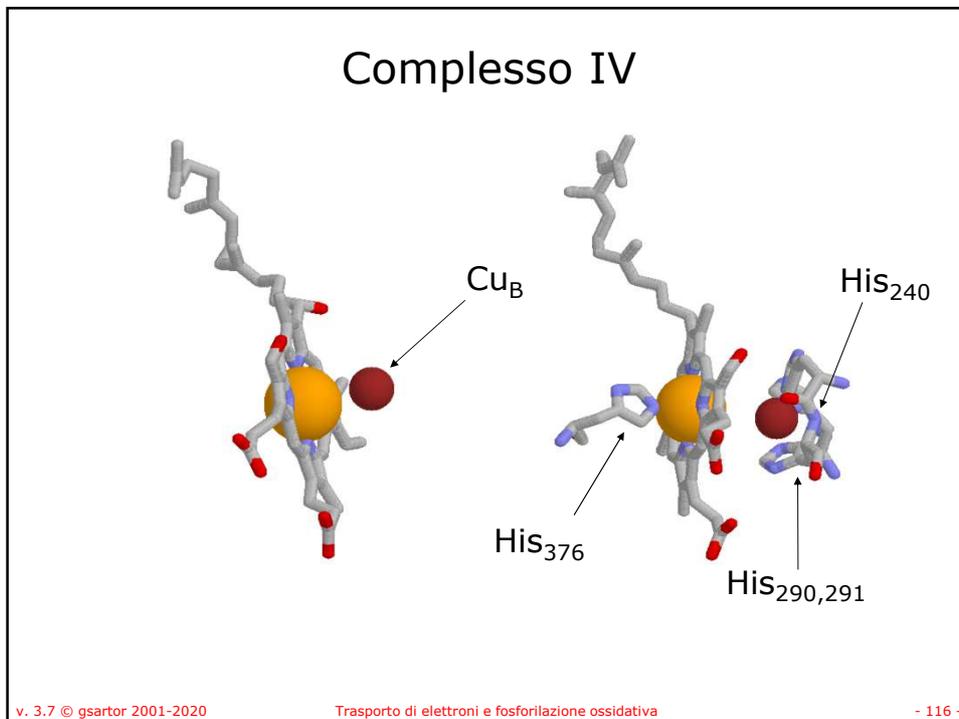
113



114



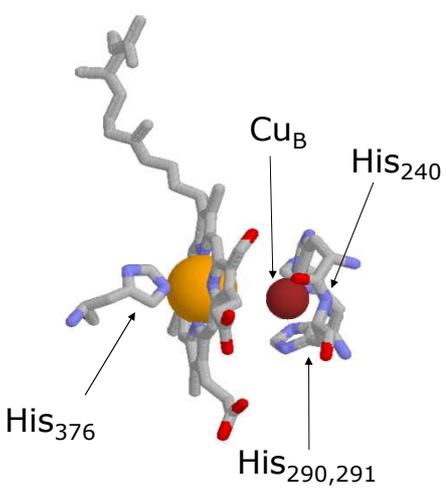
115



116

Complesso IV

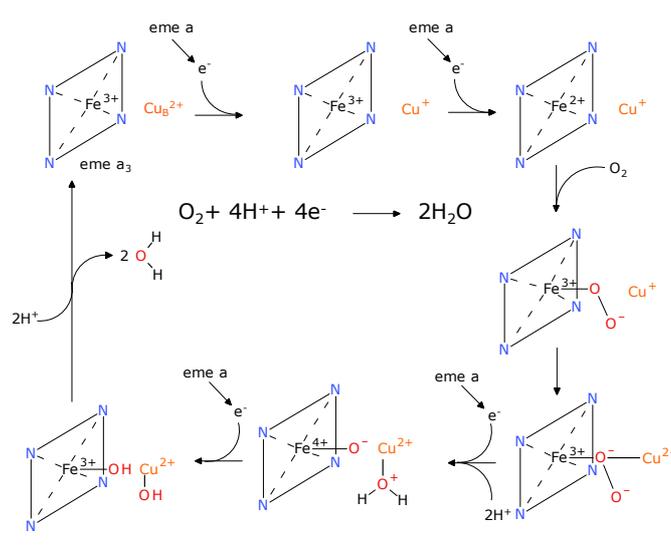
- Il gruppo eme a_3 , adiacente al Cu_B , ha un solo ligando assiale.
- Lo ione Cu è coordinato con atomi di azoto di residui di His, il Cu_A è anche coordinato con atomi di zolfo di Cys e Met S e con un atomo di ossigeno del backbone di un Glu.
- Gli elettroni vengono trasferiti dal cyt c al complesso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



v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 117 -

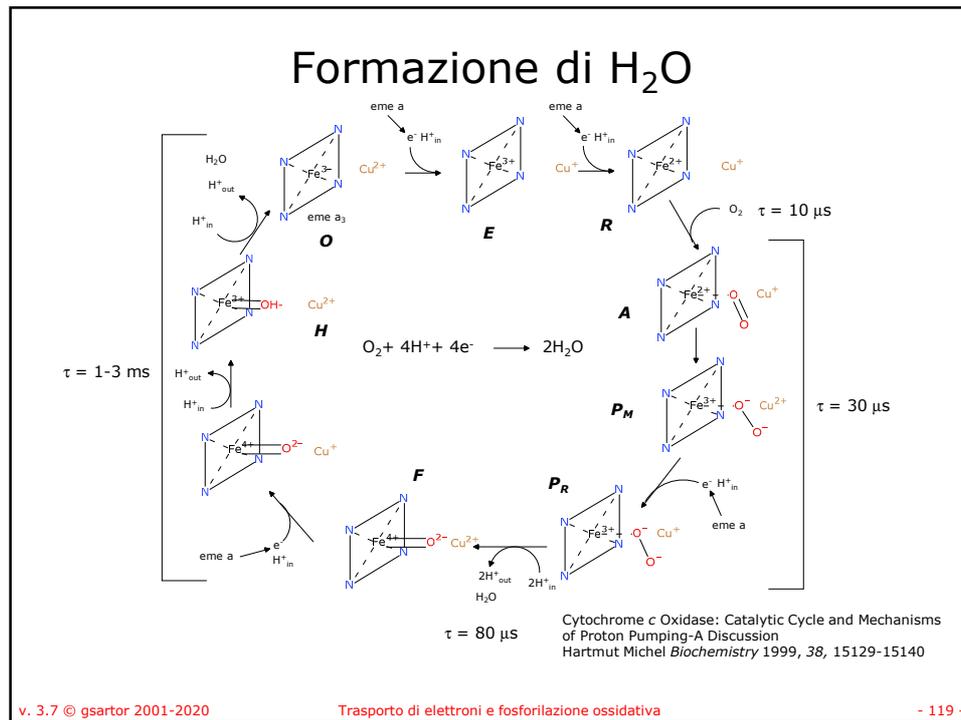
117

Formazione di H_2O



v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 118 -

118



119

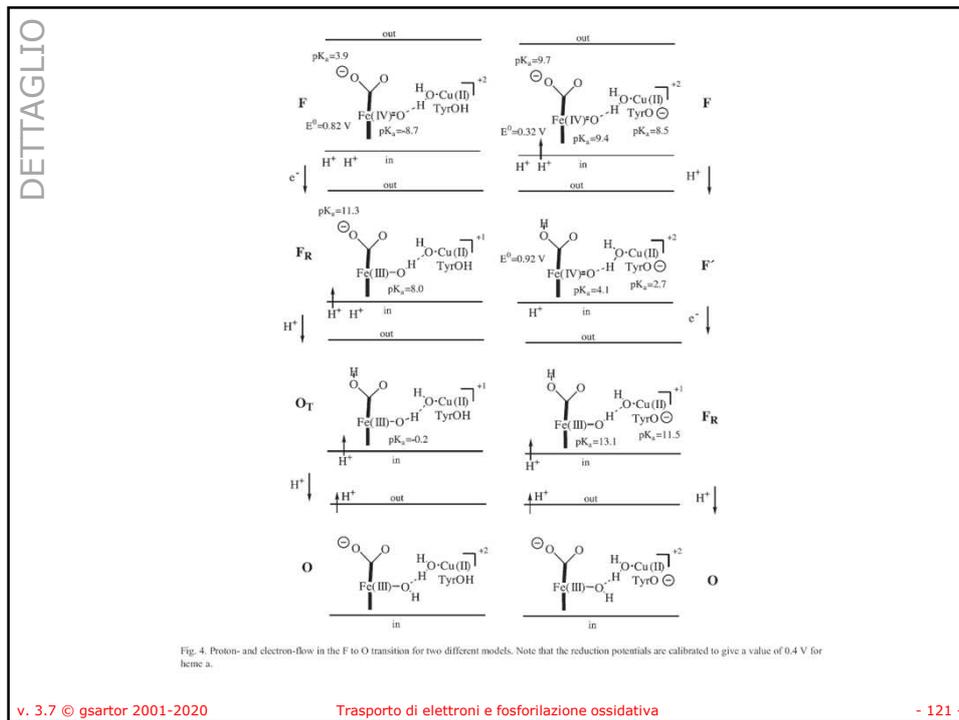
Complesso IV

- 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.

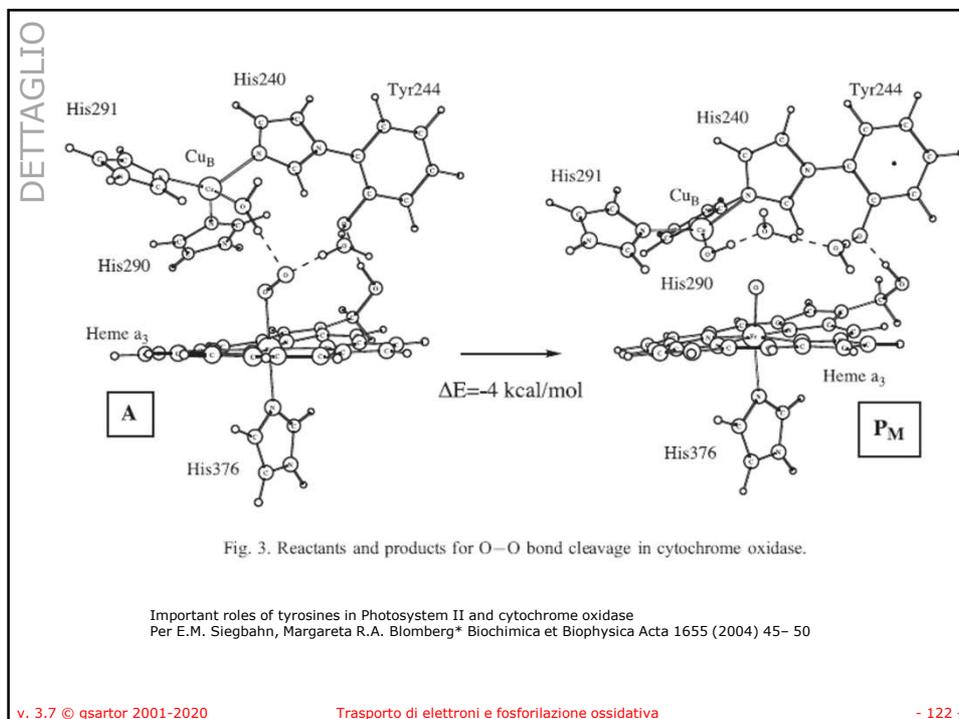
His₃₇₆ Cu_B His₂₄₀
His_{290,291}

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 120 -

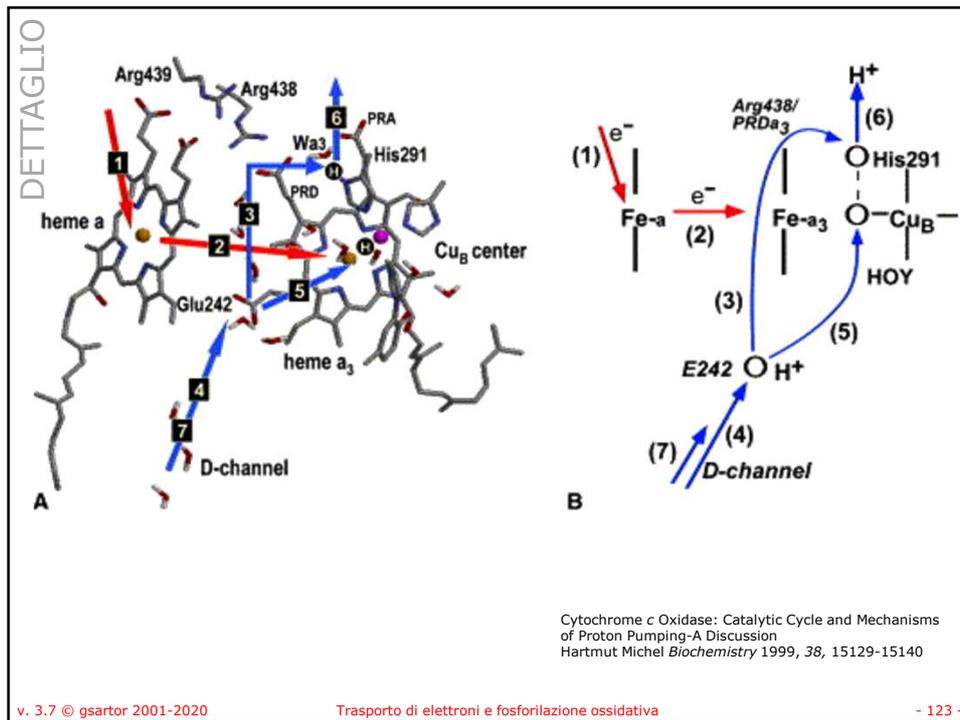
120



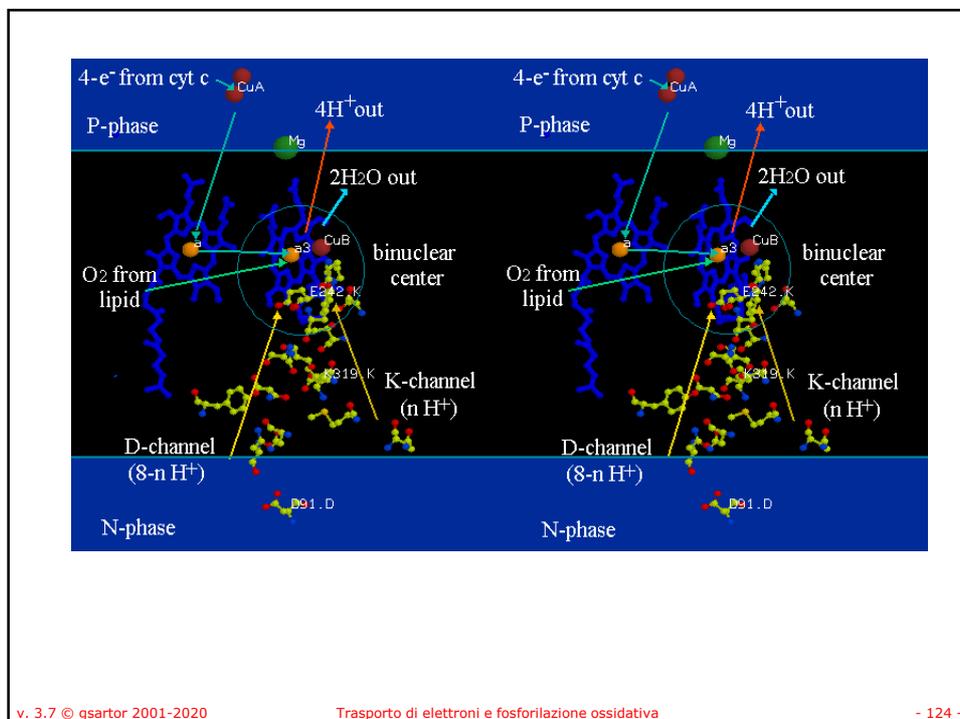
121



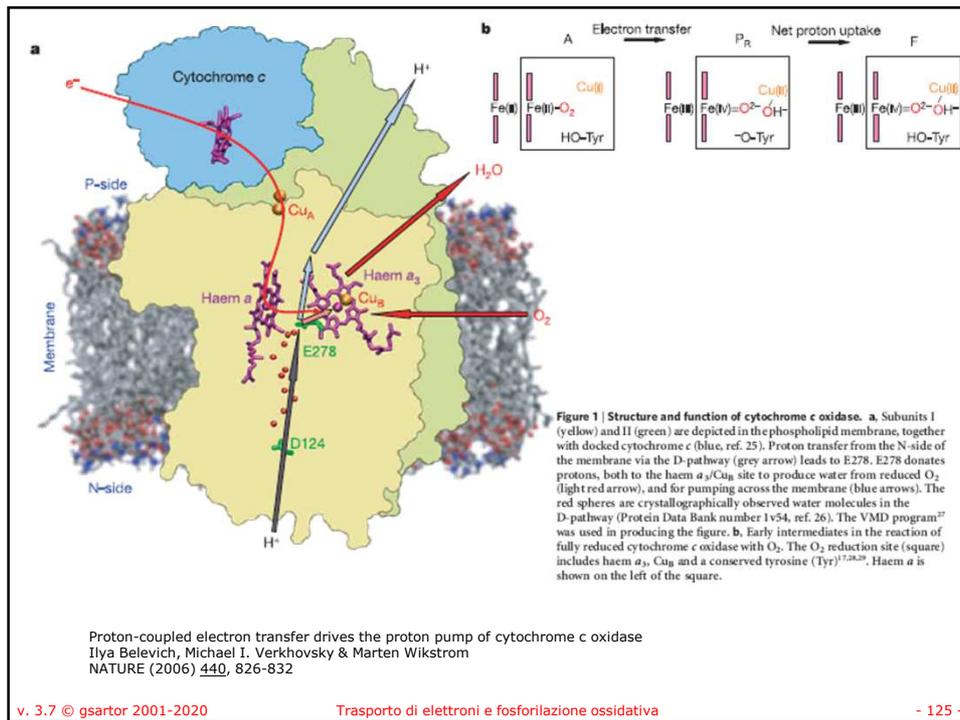
122



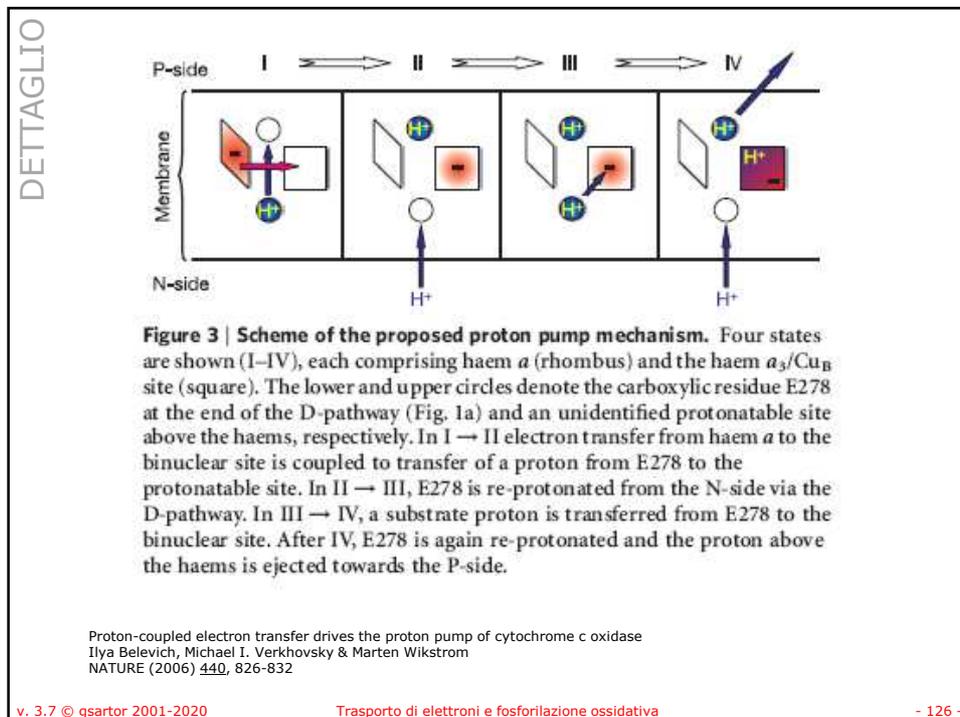
123



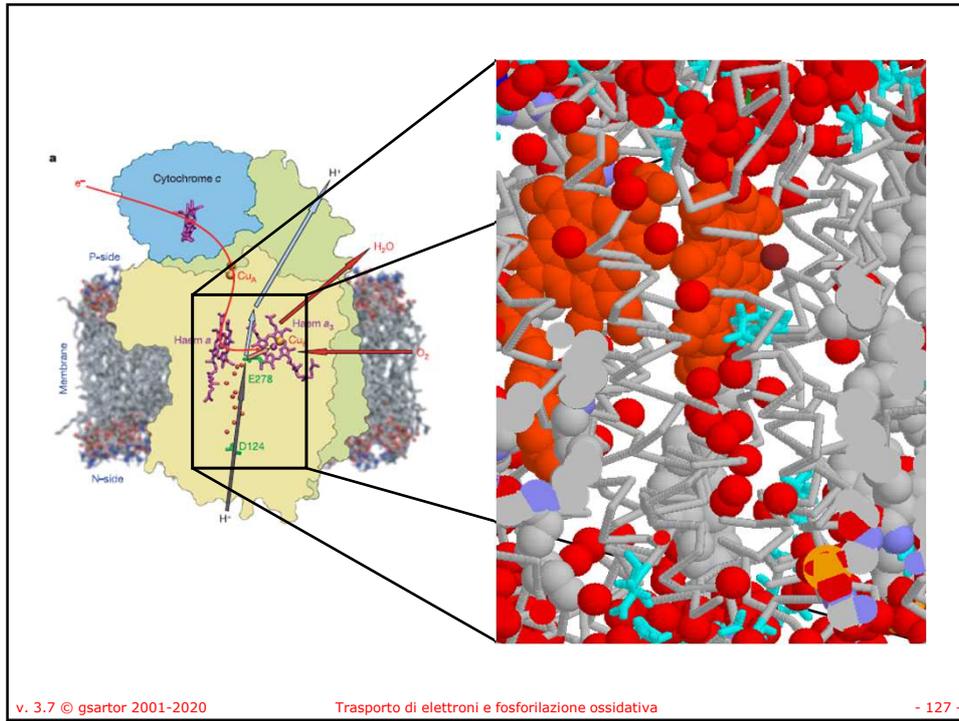
124



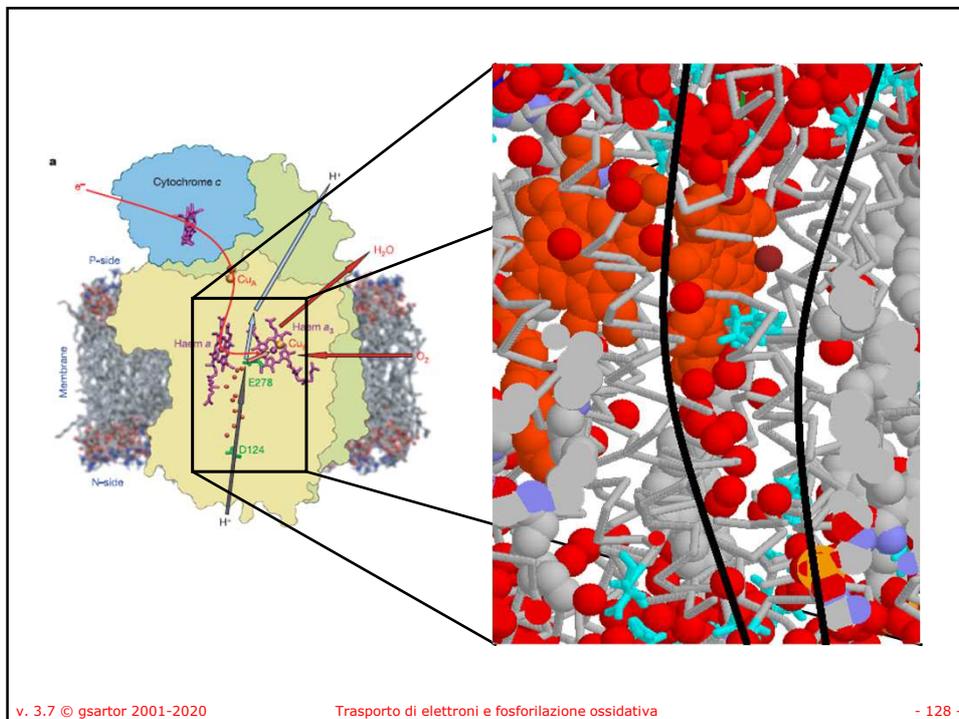
125



126

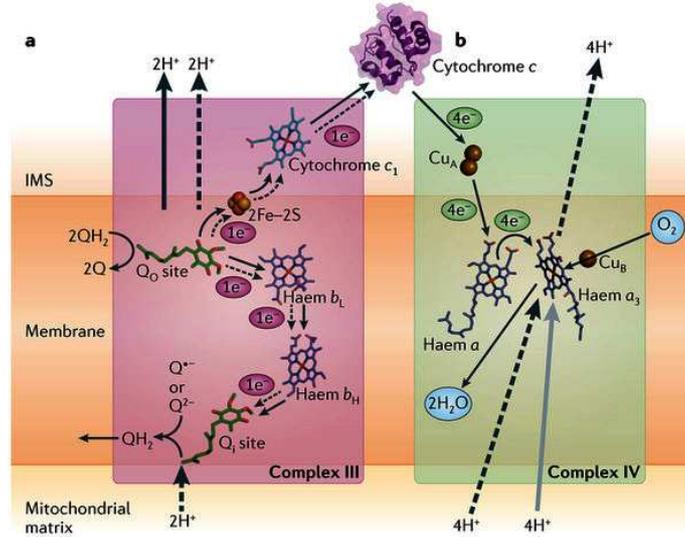


127



128

Complesso III e Complesso IV



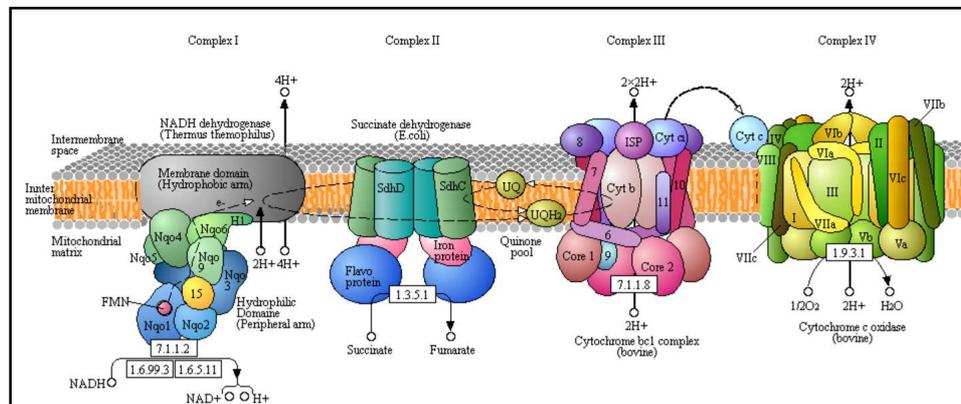
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 129 -

129



- 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 $\frac{1}{2}O_2$).

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

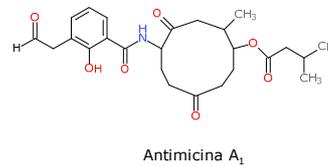
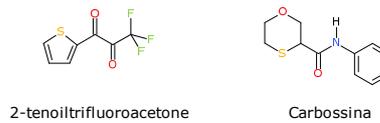
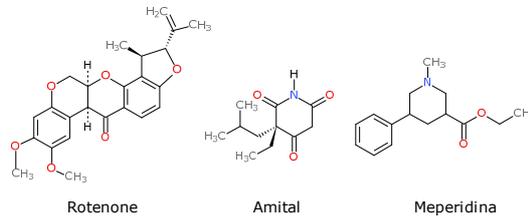
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 130 -

130

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 .



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 131 -

131

Ipotesi chemiosmotica

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



Peter D. Mitchell

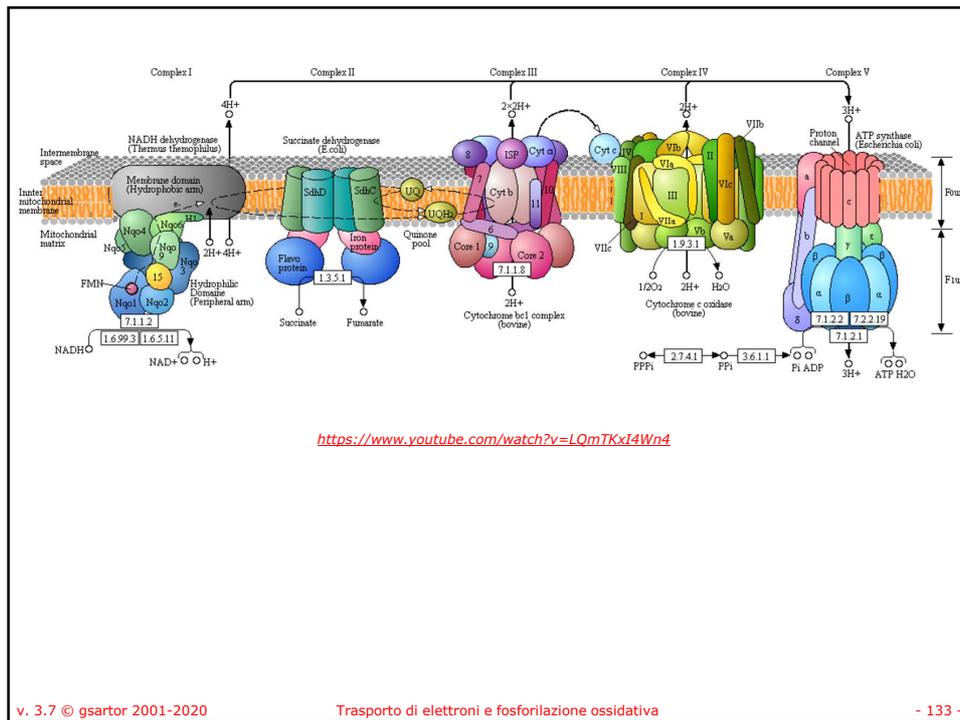
- **The Nobel Prize in Chemistry 1978**
- La teoria chemiosmotica della fosforilazione ossidativa (premio Nobel a Peter Mitchell), definisce che l'accoppiamento della sintesi di ATP alla respirazione è dipendente dal gradiente elettrochimico di H^+ .

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

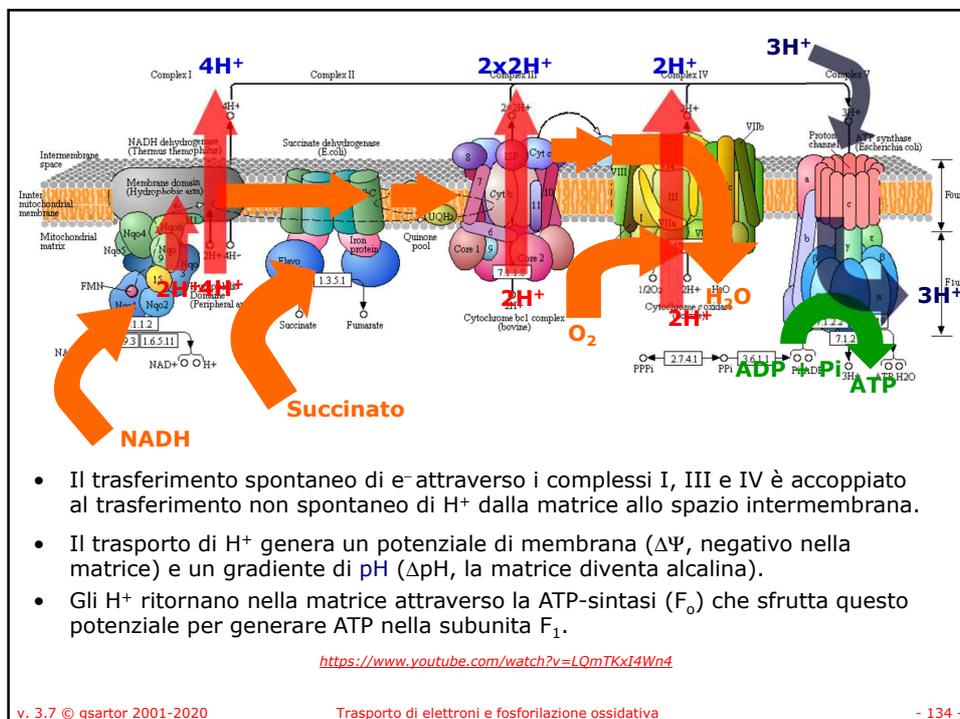
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 132 -

132



133

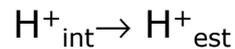


- Il trasferimento spontaneo di e⁻ attraverso i complessi I, III e IV è accoppiato al trasferimento non spontaneo di H⁺ dalla matrice allo spazio intermembrana.
- Il trasporto di H⁺ genera un potenziale di membrana (ΔΨ, negativo nella matrice) e un gradiente di pH (ΔpH, la matrice diventa alcalina).
- Gli H⁺ ritornano nella matrice attraverso la ATP-sintasi (F_o) che sfrutta questo potenziale per generare ATP nella subunità F₁.

134

Ipotesi chemiosmotica

- Viene generato un gradiente protonico:



- Che crea una polarizzazione della membrana:

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

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

$$\Delta pH = 1$$

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

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

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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

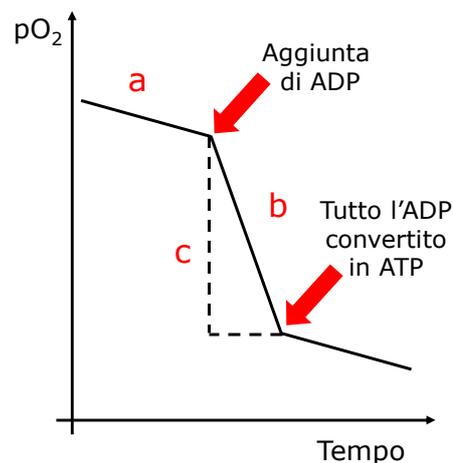
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 135 -

135

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 O_2 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 O_2 consumate (c) nella fosforilazione di ADP.

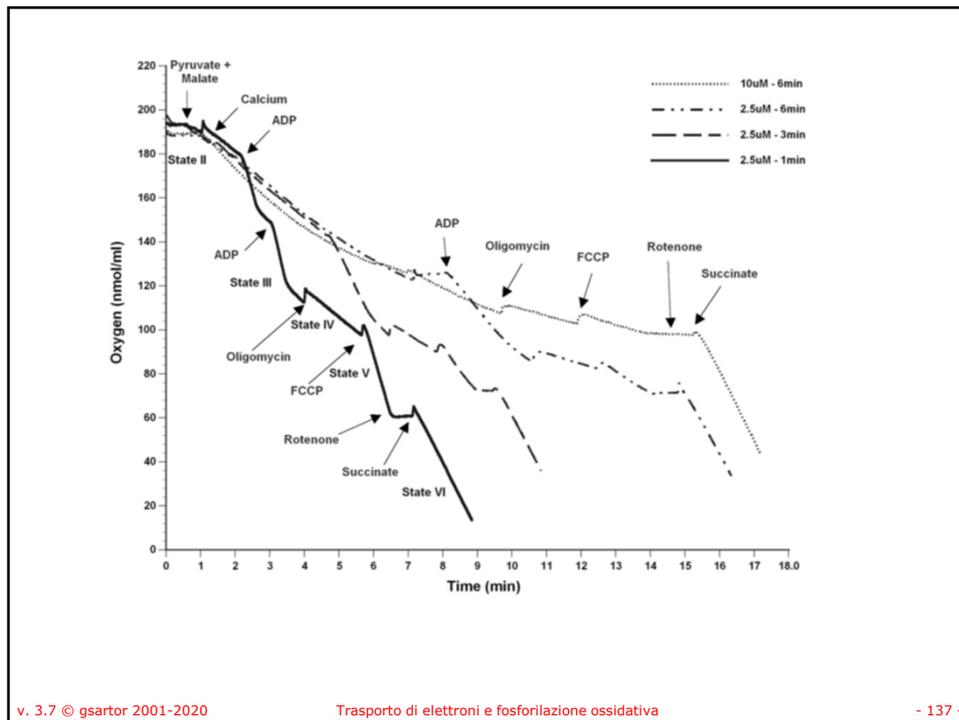


v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 136 -

136



137

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

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 138 -

138

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).



139



140

Supercomplessi

- Si è osservato che i complessi enzimatici possono, in alcune situazioni, essere organizzati in "supercomplessi" chiamati RESPIRASOMI;
- In diversi organismi si sono osservati complessi con stechiometria diversa (III_2IV_1 e III_1IV_2 in *Saccaromices cerevisiae*, I_1III_2 in *Arabidopsis thaliana*, $I_1III_2IV_1$ in mitocondri di *Bos taurus*, ecc.);
- I singoli complessi sono però anche presenti non in supercomplessi suggerendo una flessibilità nell'organizzazione strutturale.

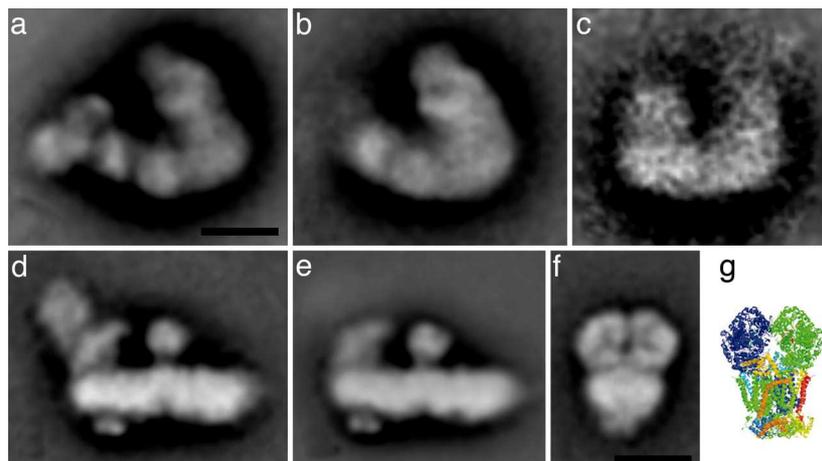
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 141 -

141

Projection maps at 18 Å of the Arabidopsis I+III2 supercomplex and its components obtained by single-particle averaging.

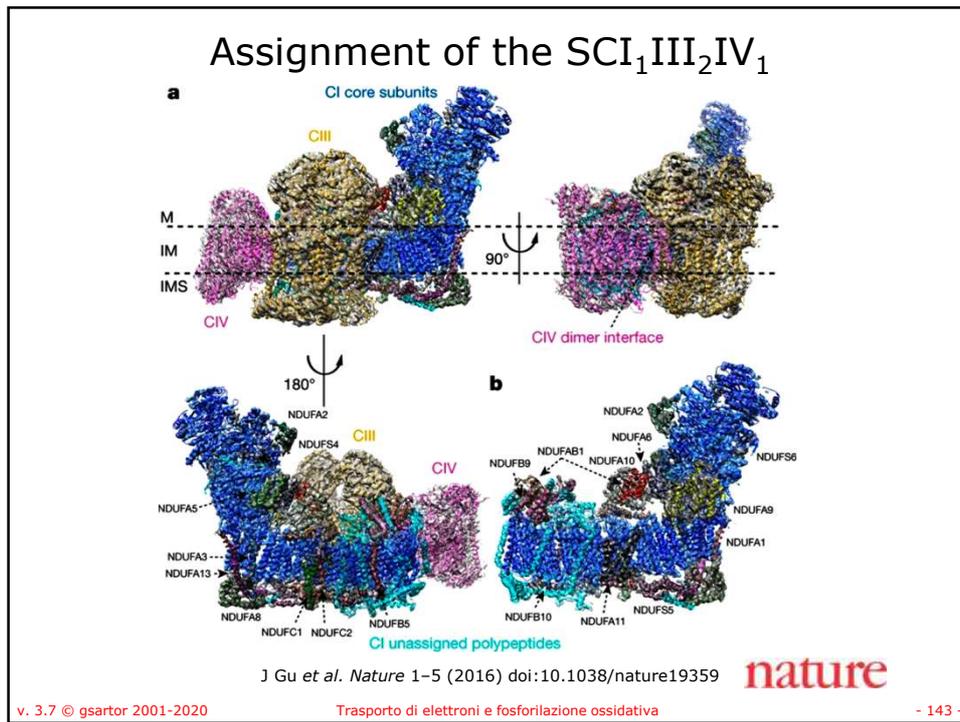


Natalia V. Dudkina et al. PNAS 2005;102:3225-3229

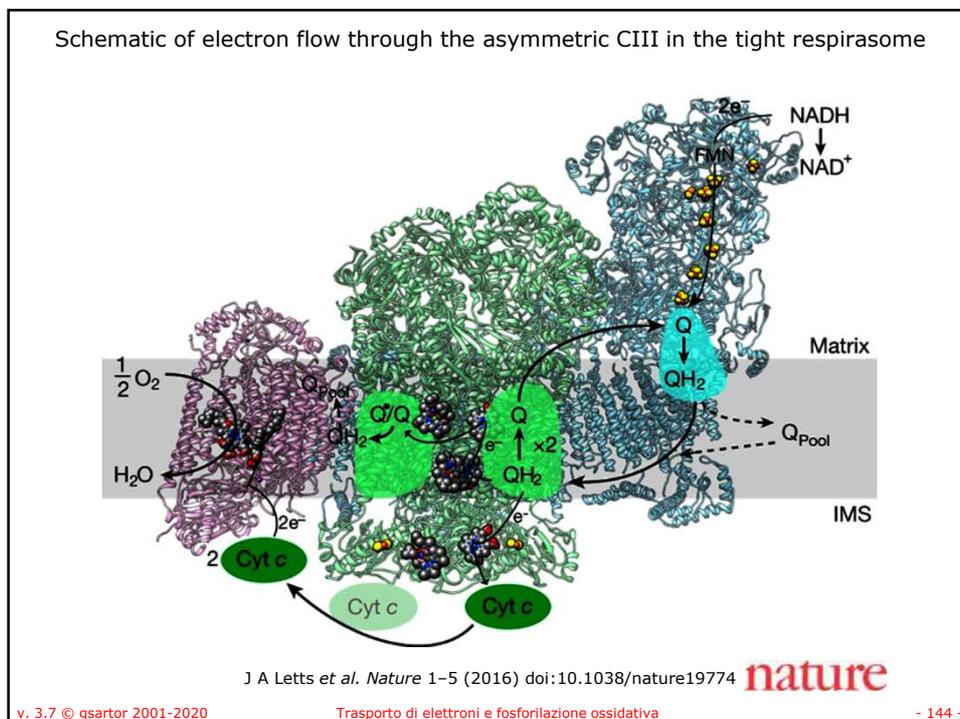
©2005 by National Academy of Sciences

PNAS

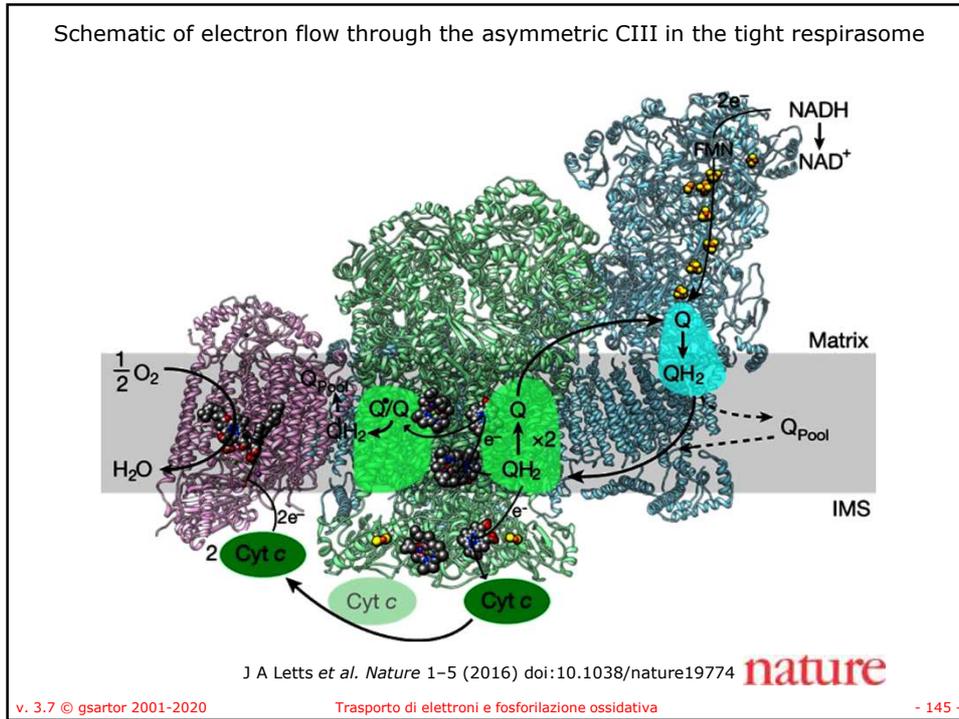
142



143



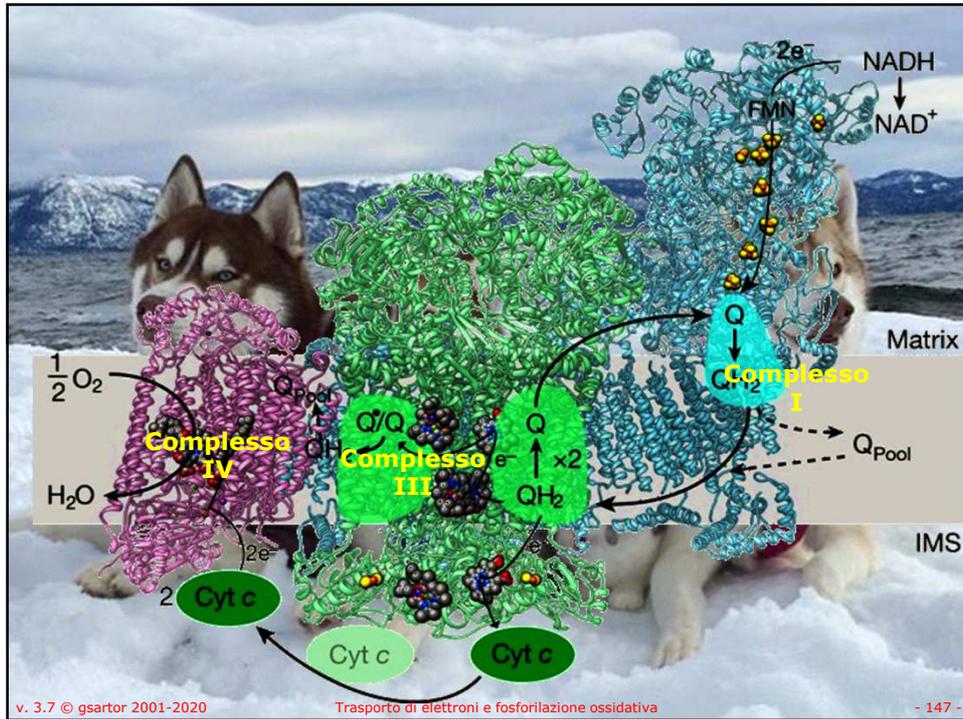
144



145



146

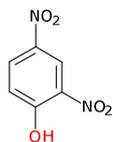


147

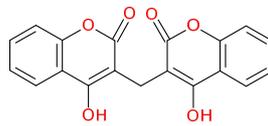


148

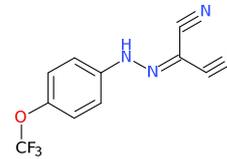
Disaccoppianti



Dinitrofenolo



Dicumarolo



Carbonil cianuro-*p*-trifluoro metossifenilidrazono (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 $\Delta \Psi$.

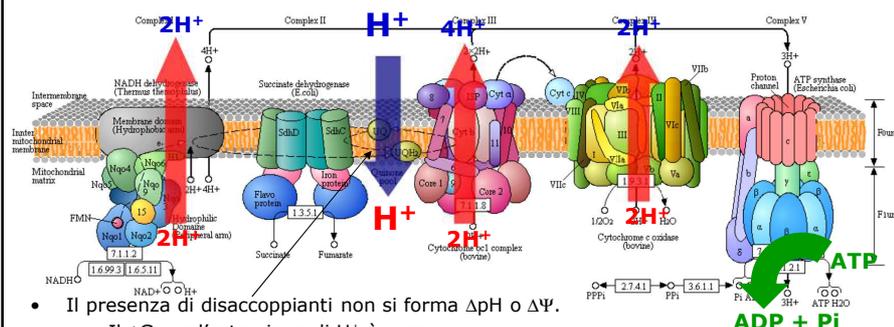
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 149 -

149

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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 150 -

150

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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

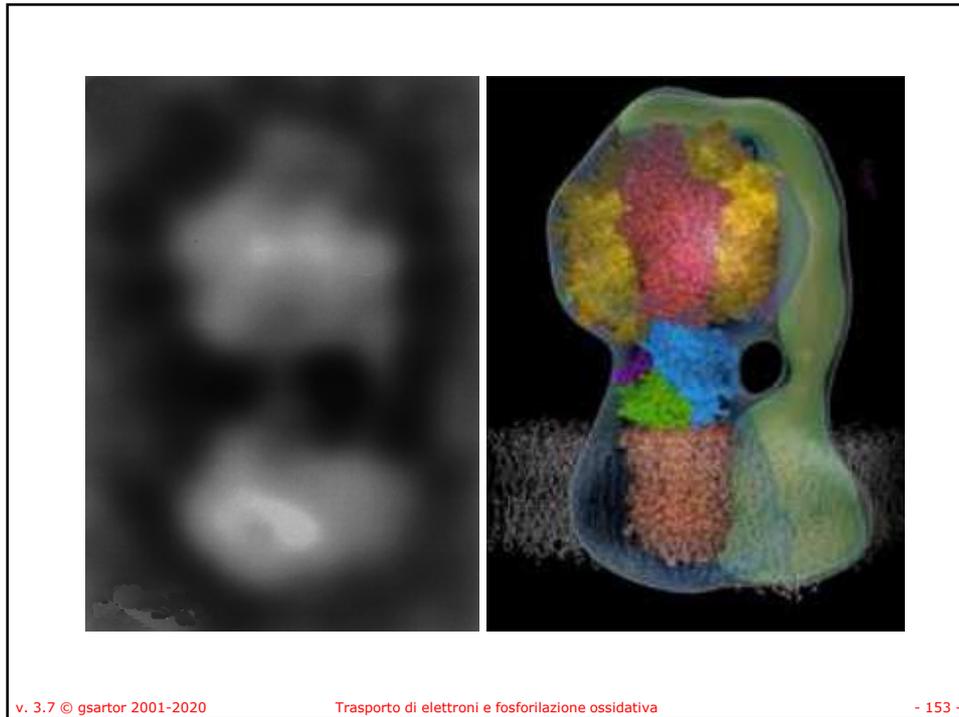
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 151 -

151



152



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

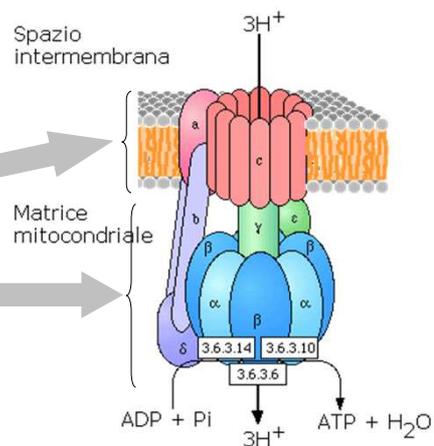
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 153 -

153

Complesso V – ATP sintasi

- La ATP sintasi, presente nella membrana interna mitocondriale.
- È composta di sue principali unità catalitiche:
 - F_0 : proteina di membrana che gestisce il trasporto di protoni.
 - F_1 : costituita da cinque polipeptidi con stechiometria $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$.



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

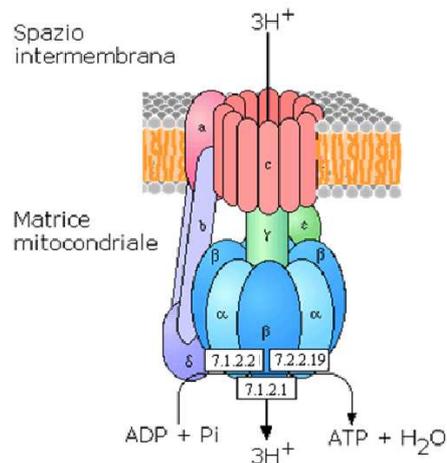
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 154 -

154

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^+).



v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 155 -

155

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'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_0 . 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).

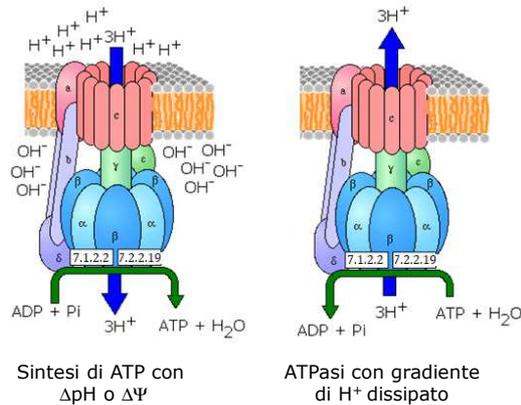
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 156 -

156

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).

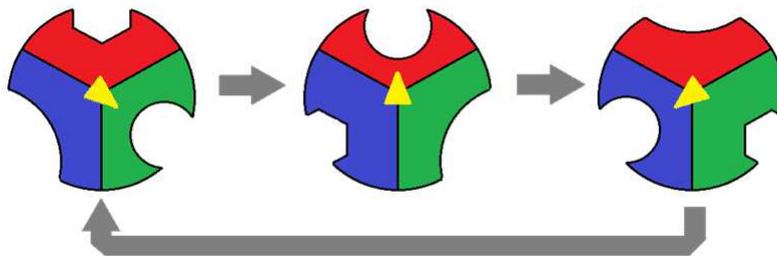
v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 157 -

157

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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 158 -

158

Meccanismo di sintesi

The Nobel Prize in Chemistry 1997

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



Paul D. Boyer

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



John E. Walker

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

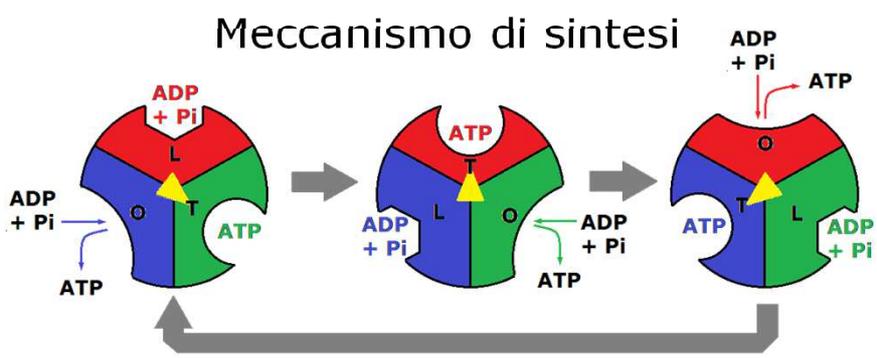


Jens C. Skou

v. 3.7 © gsartor 2001-2020
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa
- 159 -

159

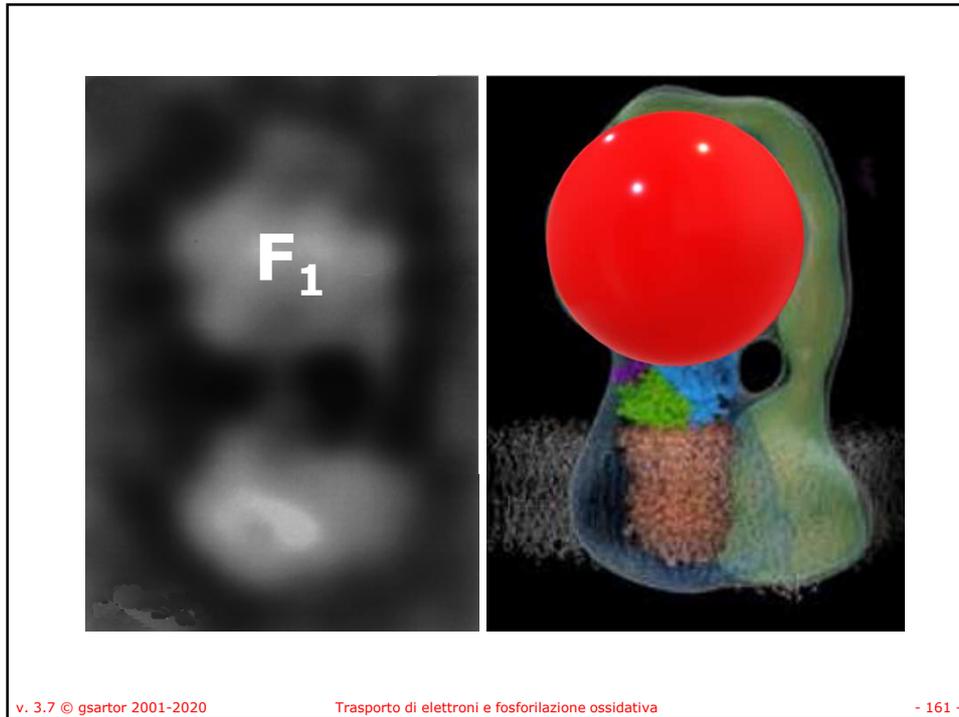
Meccanismo di sintesi



- 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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa
- 160 -

160



161

Struttura di F_1

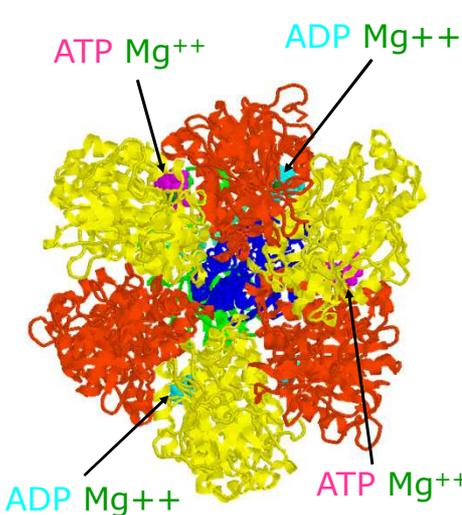
- Nei mammiferi F_1 consiste di cinque polipeptidi con stechiometria $\alpha_3, \beta_3, \gamma, \delta, \epsilon$ (in ordine decrescente di peso molecolare).
- Le subunità α e β sono omologhe.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 162 -

162

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^{++} .

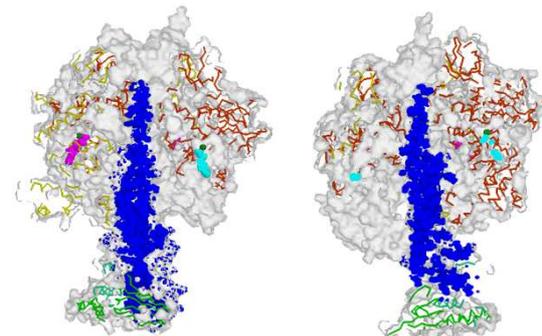


v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 163 -

163

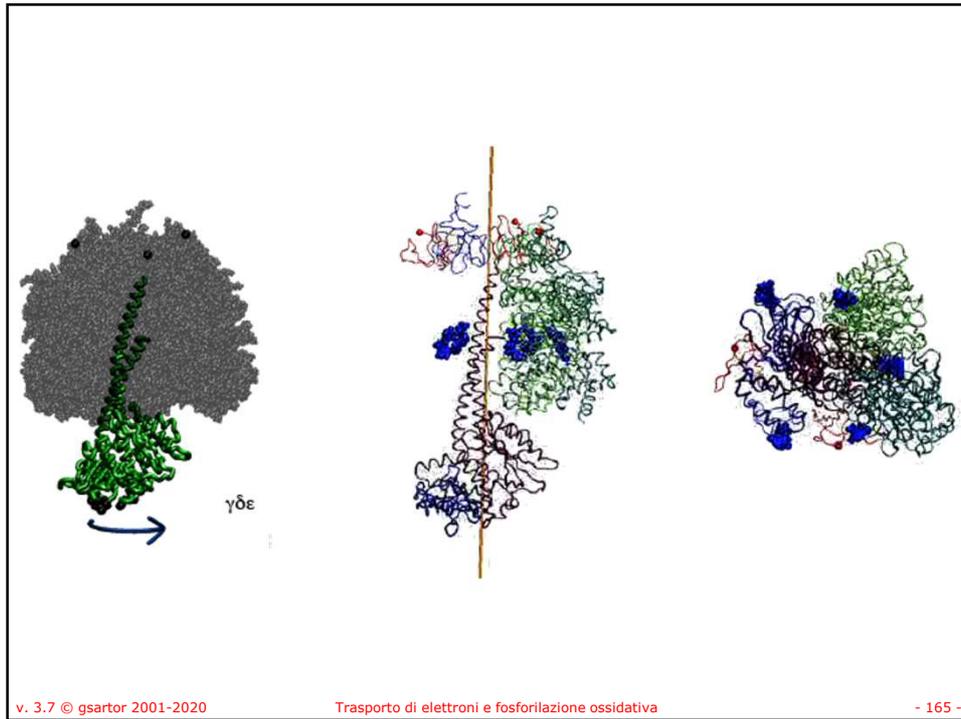
Struttura di F₁

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

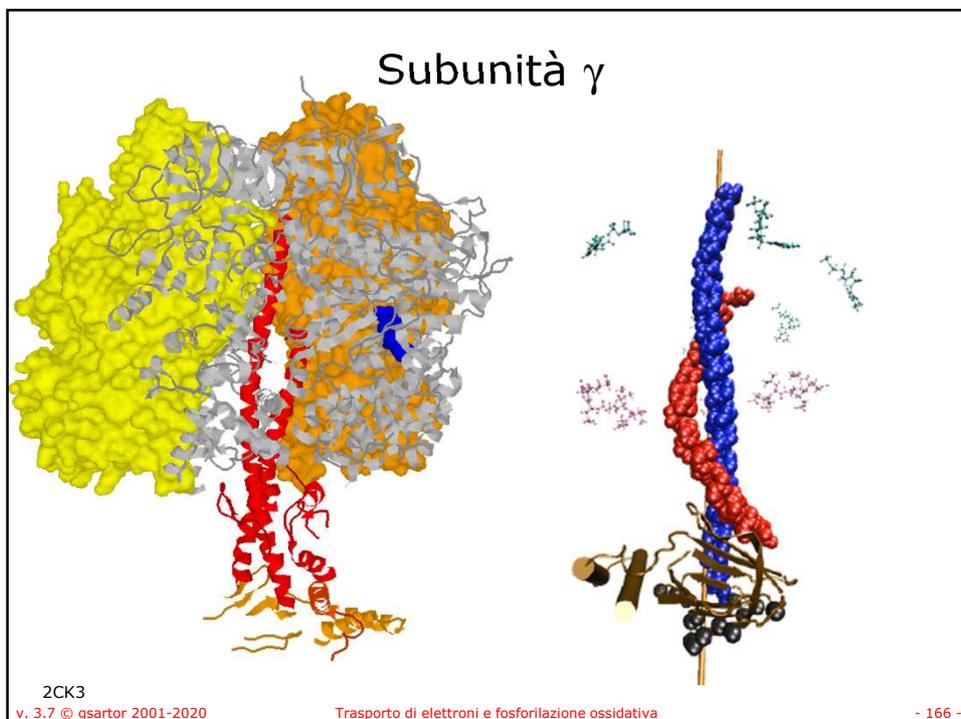


v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 164 -

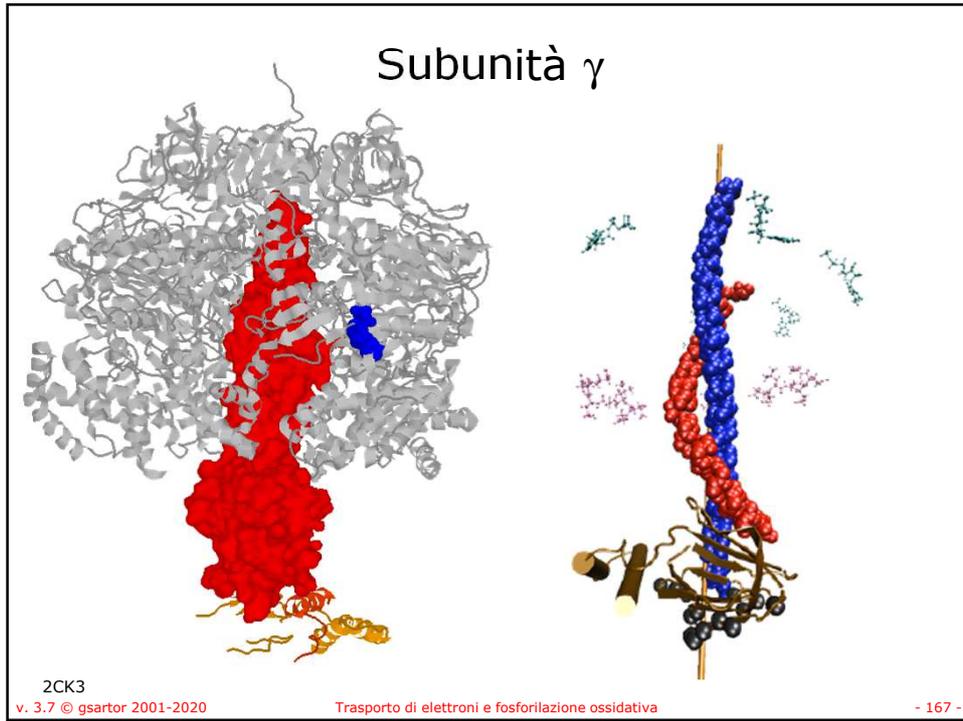
164



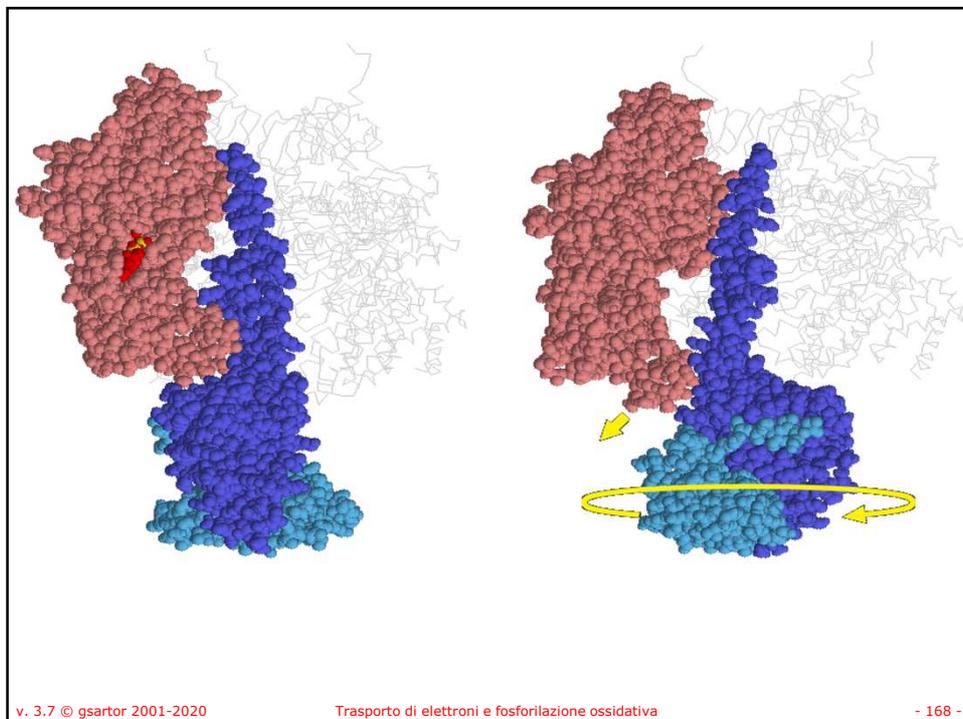
165



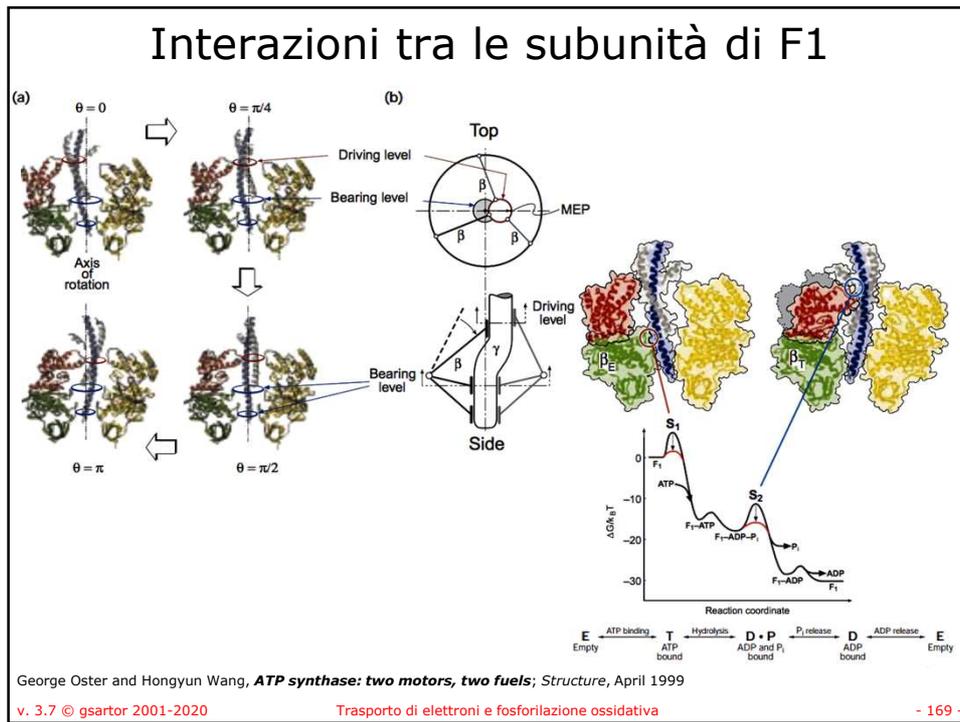
166



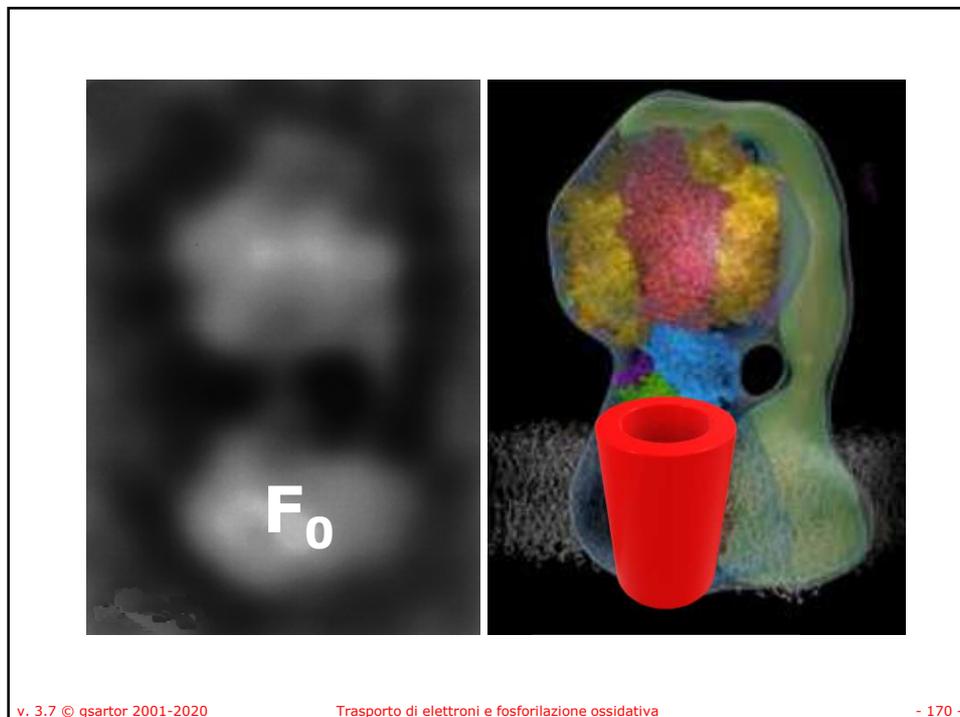
167



168



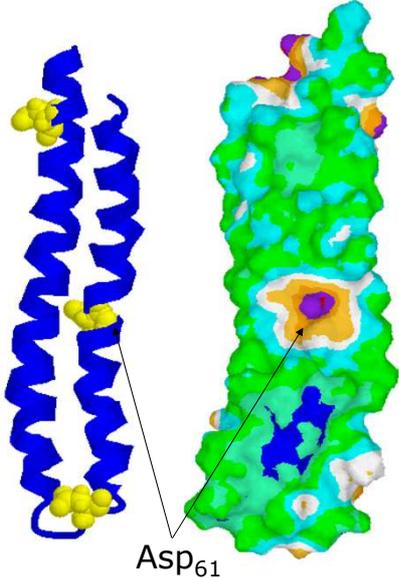
169



170

Struttura F_0

- La subunità c di F_0 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 degli inibitori di F_0 .
- Tale residuo è essenziale per il trasporto dei H^+ attraverso F_0 .



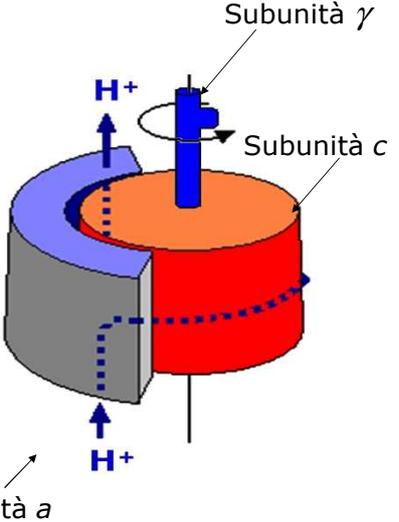
Asp₆₁

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 171 -

171

Il rotore

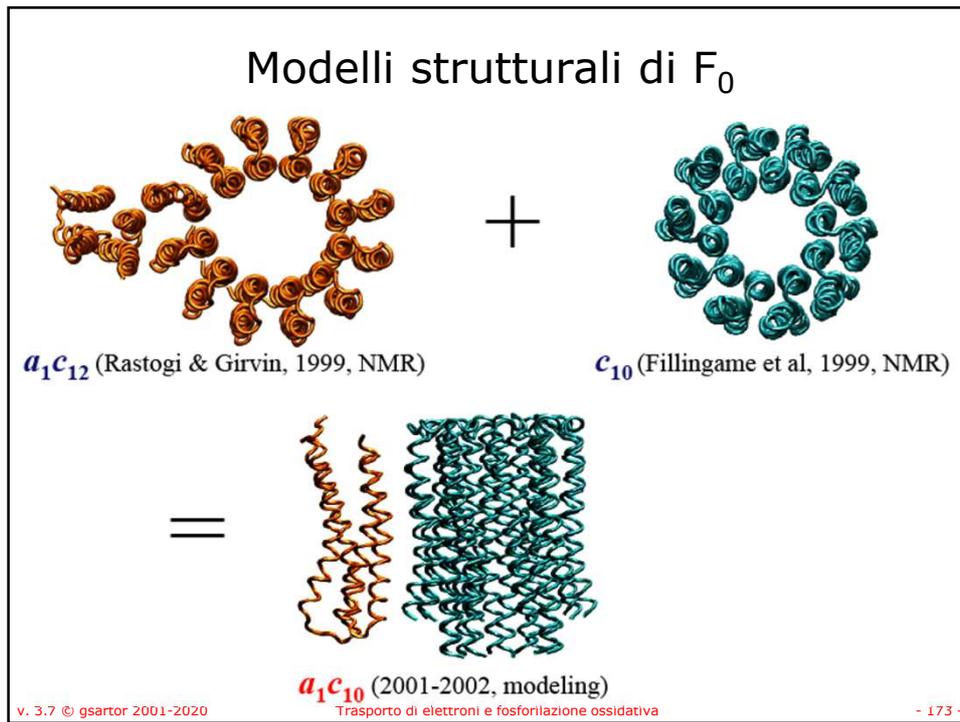
- È stato proposto che la subunità a di F_0 formi due mezzi canali per il trasporto dei protoni.
- Il trasporto avverrebbe attraverso la ionizzazione di gruppi ionizzabili o attraverso molecole d'acqua contenute nei canali.
- La variazione di ionizzazione (Asp61 in c) al passaggio dei protoni indurrebbe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



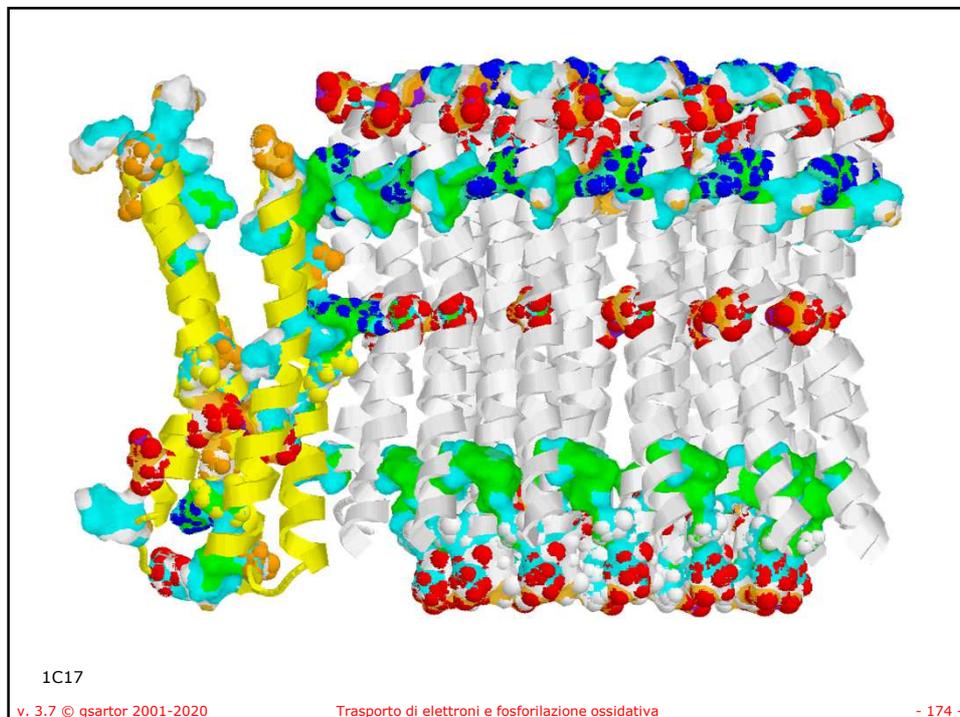
Subunità γ
Subunità c
Subunità a

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 172 -

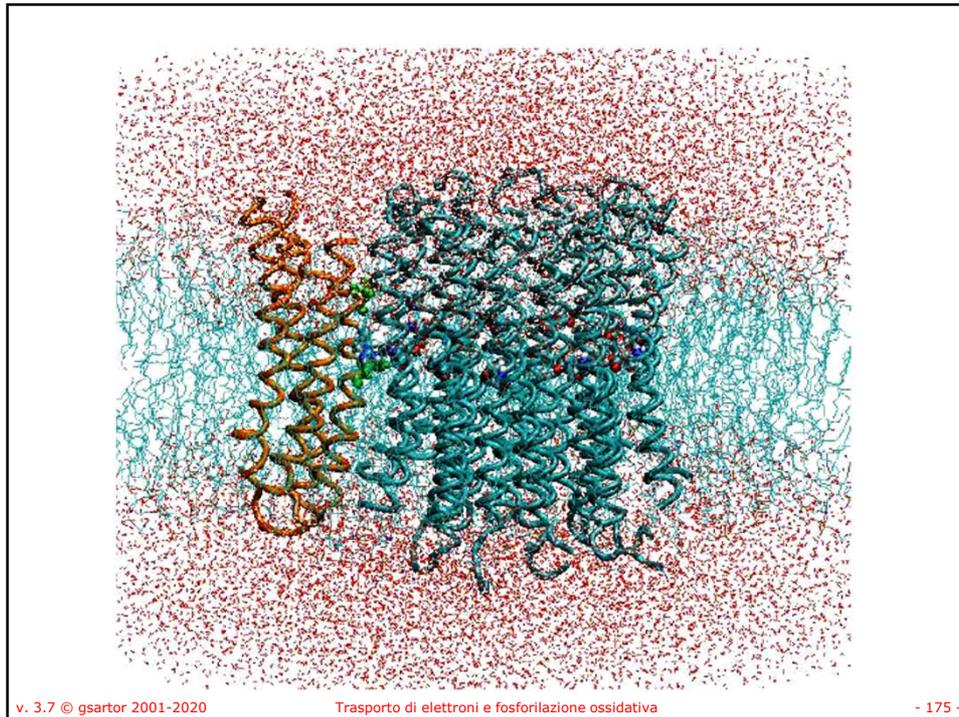
172



173



174



175

Inibitori di F_0

- 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_0 .

Oligomicina A

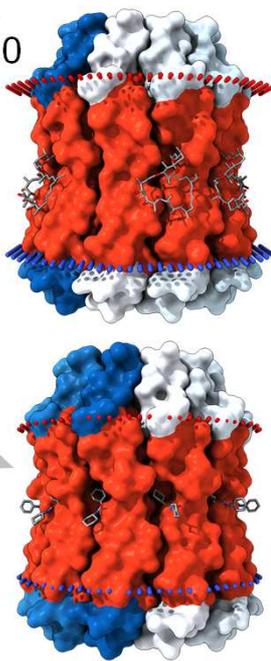
Diciolesilcarbodiimide (DCCD)

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 176 -

176

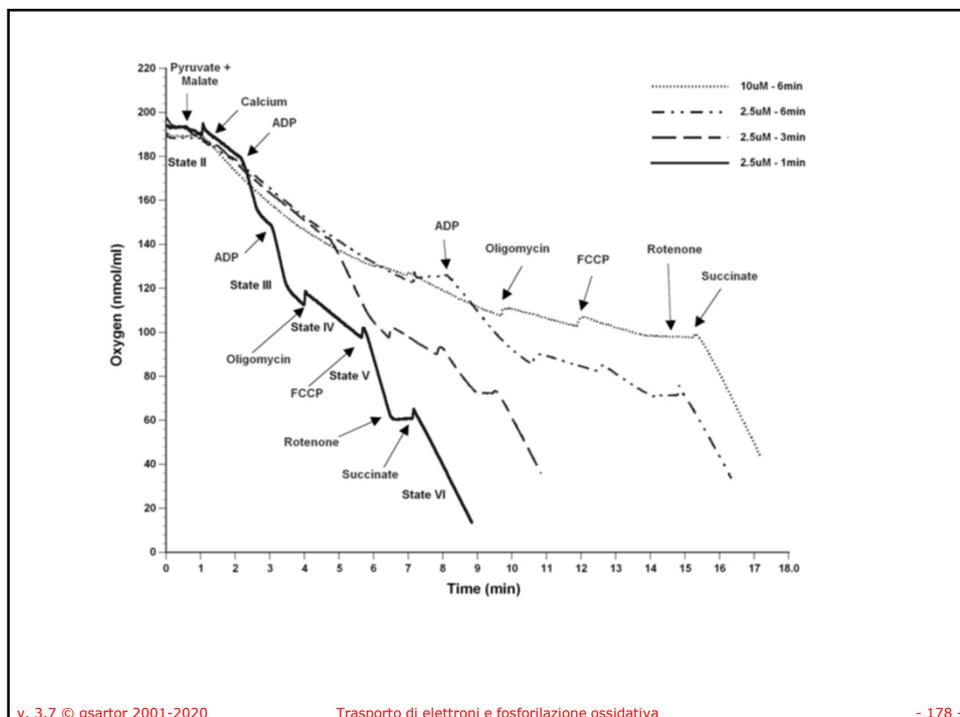
Inibitori di F_0

- 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_0 .



v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 177 -

177



178

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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 179 -

179

Struttura F_0F_1

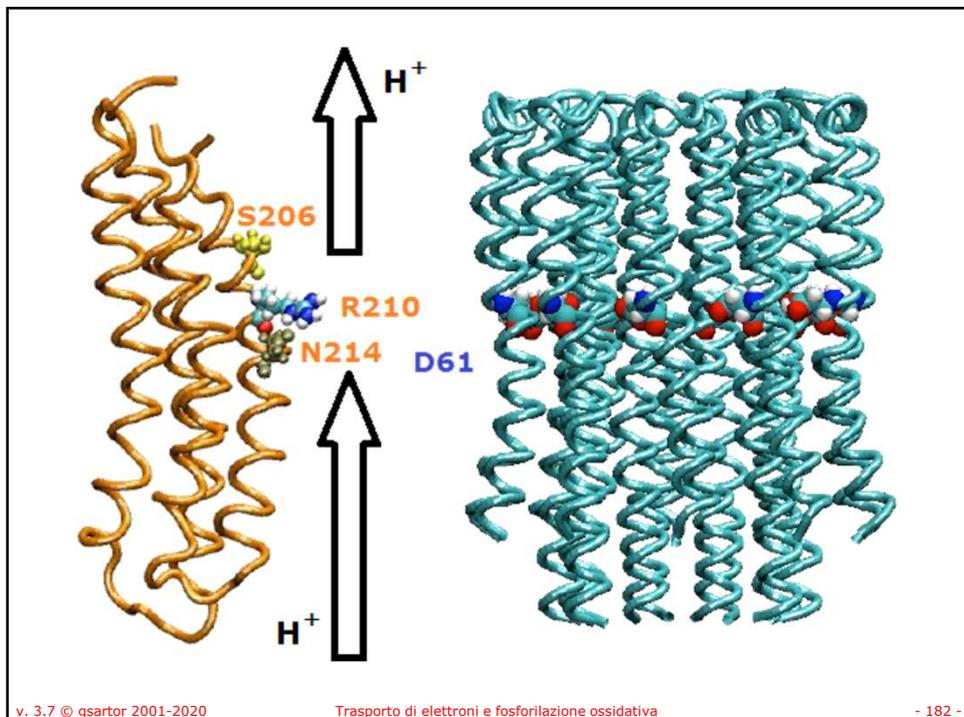
- Si ritiene che le subunità b di F_0 includano una α -elica transmembrana e un dominio α -elica molto polare che si estenda al di fuori della membrana.
- Lo "statore" del motore molecolare consiste quindi in un anello di tre subunità $\alpha\beta$ di F_1 , la subunità a di F_0 e le varie subunità che 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*).

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 180 -

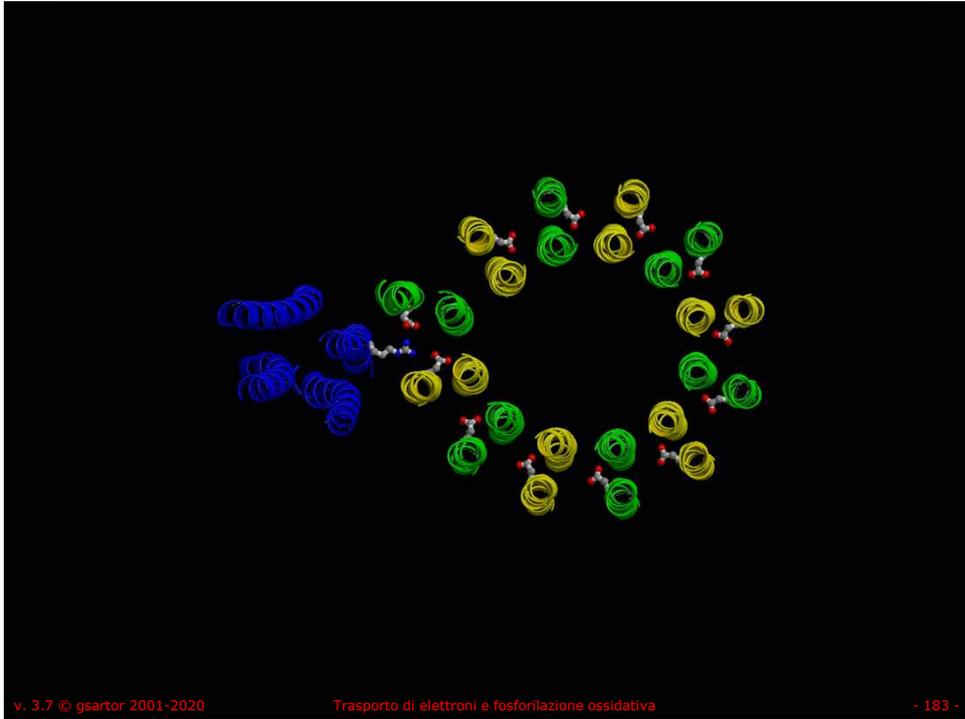
180



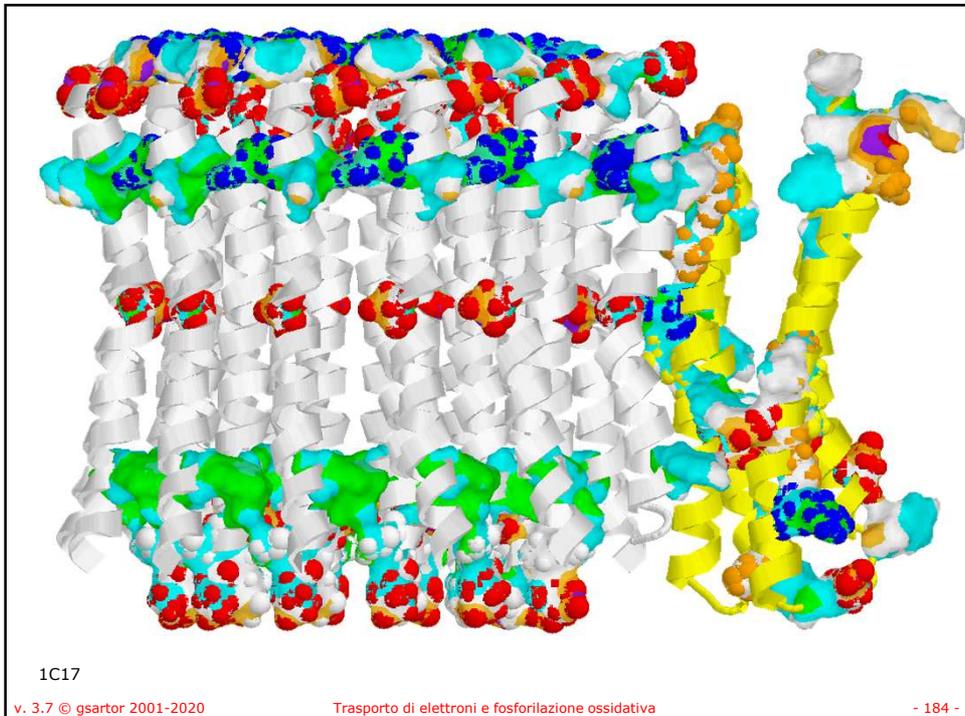
181



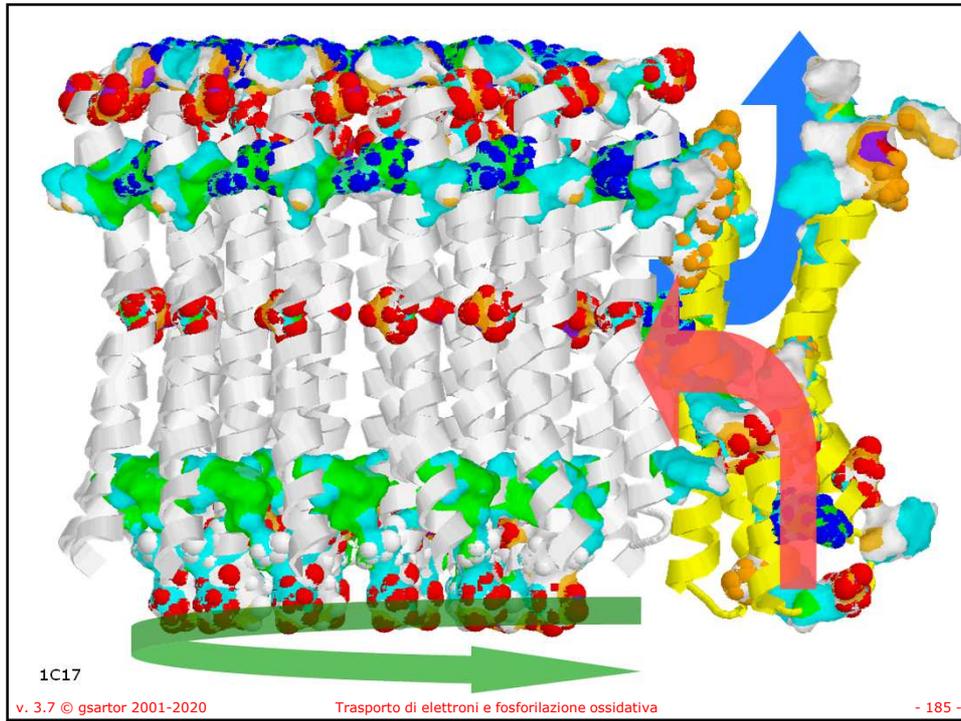
182



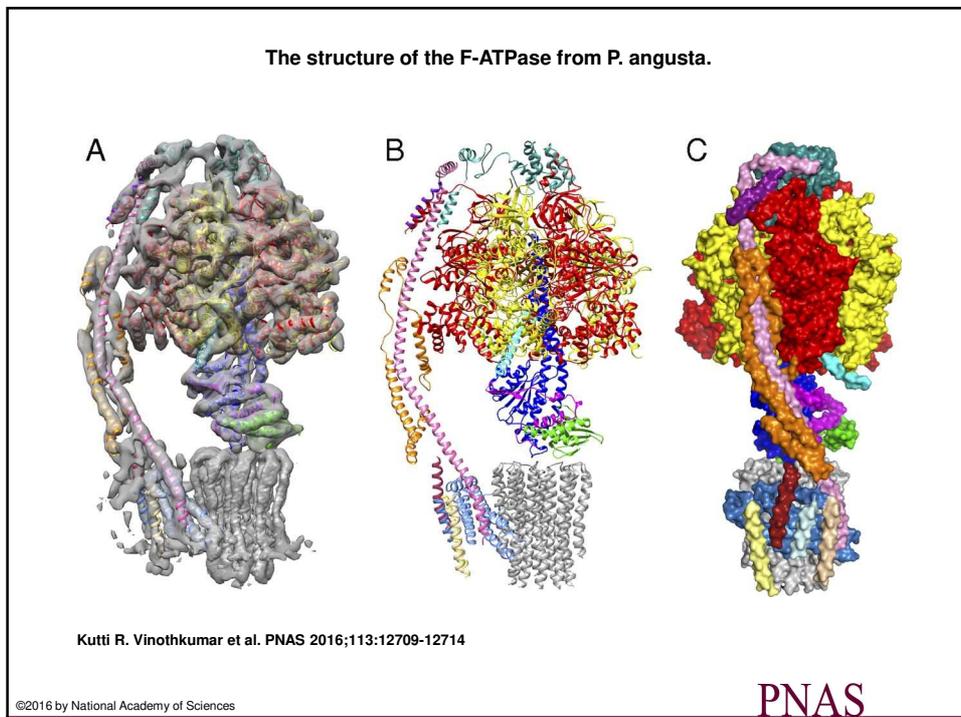
183



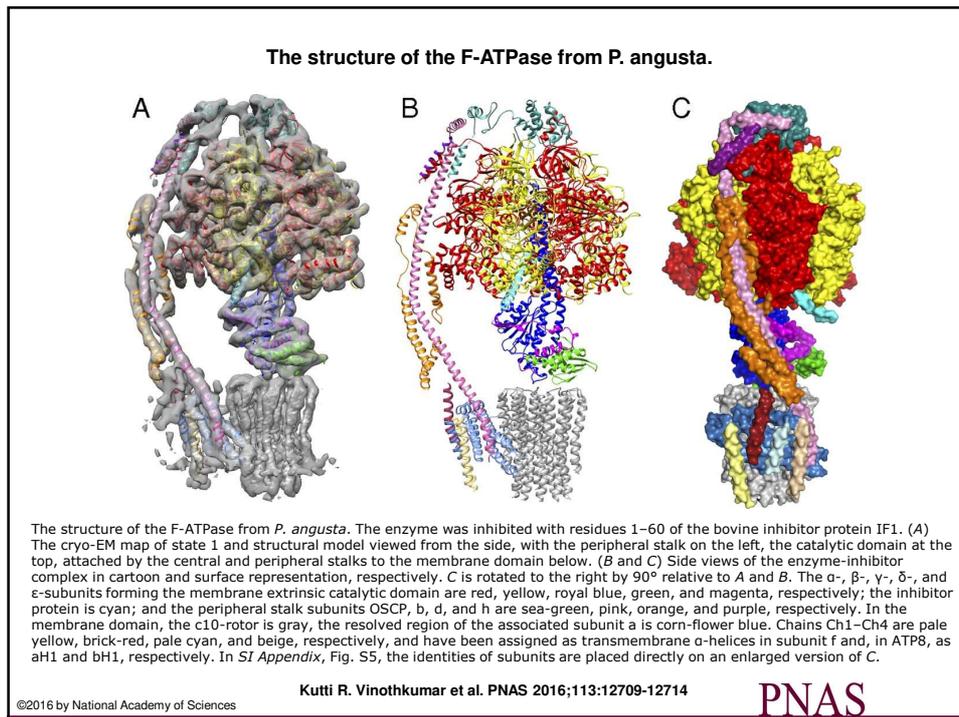
184



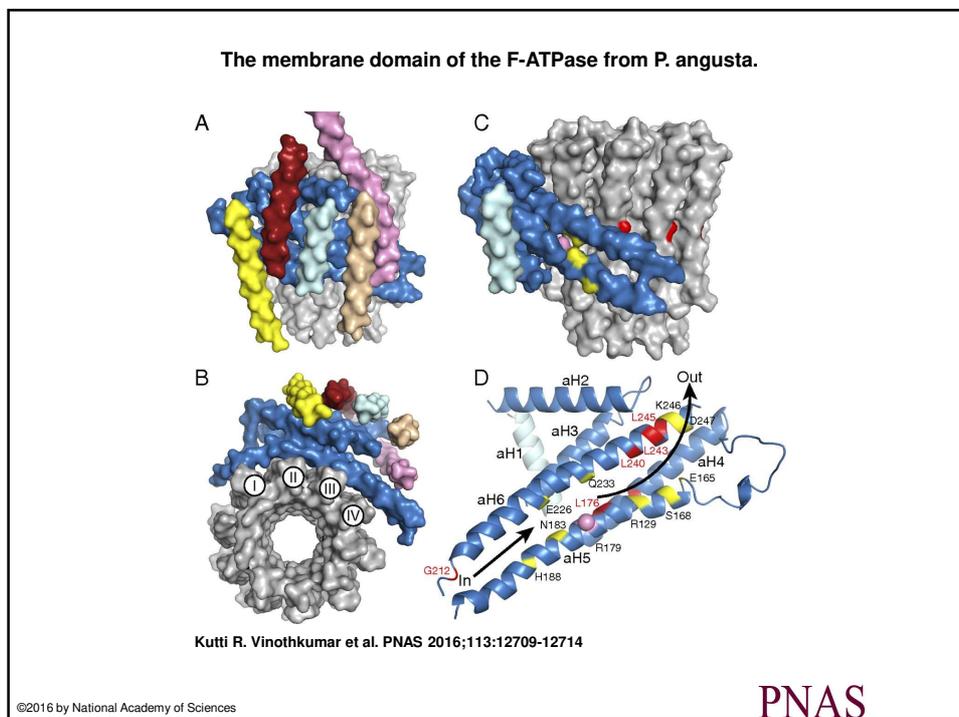
185



186



187



188

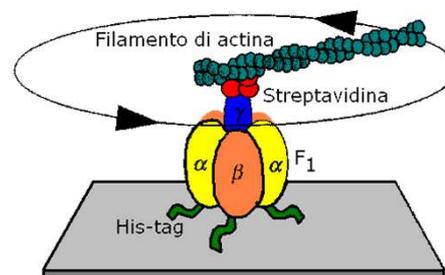


Motore Idrolitico

191

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.



<https://www.youtube.com/watch?v=QeHCAFKaWM8>

<https://www.youtube.com/watch?v=iELJcU9qjGw>

192

The direct observation of the γ rotation in the F1 motor.

a

b

Noji H, Yoshida M J. Biol. Chem. 2001;276:1665-1668

©2001 by American Society for Biochemistry and Molecular Biology

v. 3.7 © gsartor 2001-2020
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa
jbc - 193 -

193

Struttura

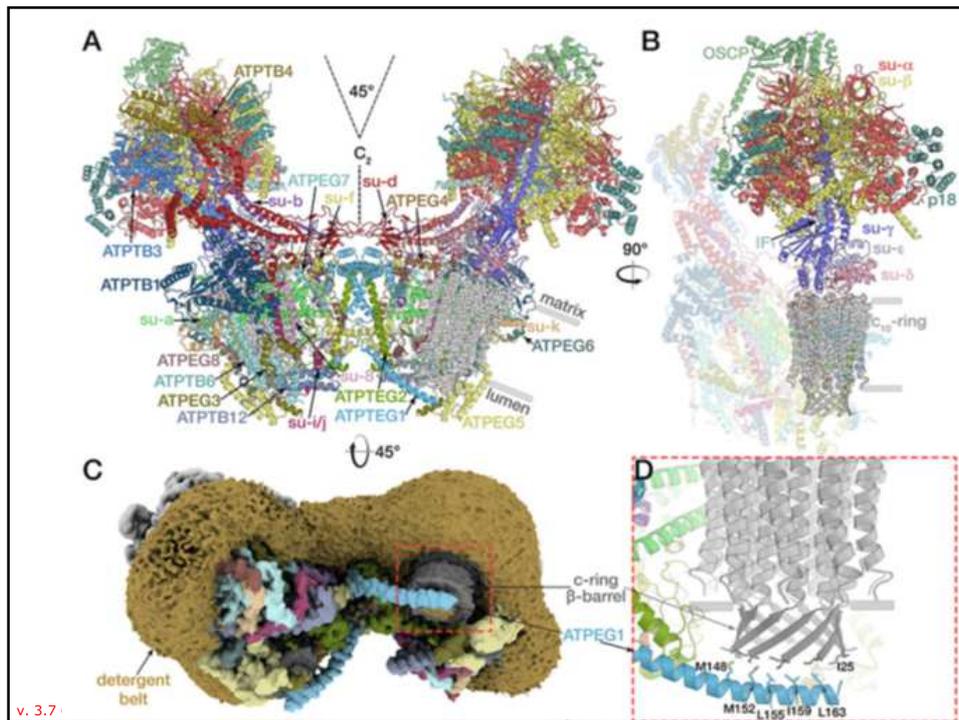
- Questo è il massimo di risoluzione ottenuta fino ad ora della definizione della intera struttura dell'ATP sintasi.

Cryo-EM structures of the autoinhibited *E. coli* ATP synthase in three rotational states
Meghna Sobti Callum Smits Andrew SW Wong Robert Ishmukhametov Daniela Stock Sara Sandin Alastair G Stewart
eLife 2016;5:e21598

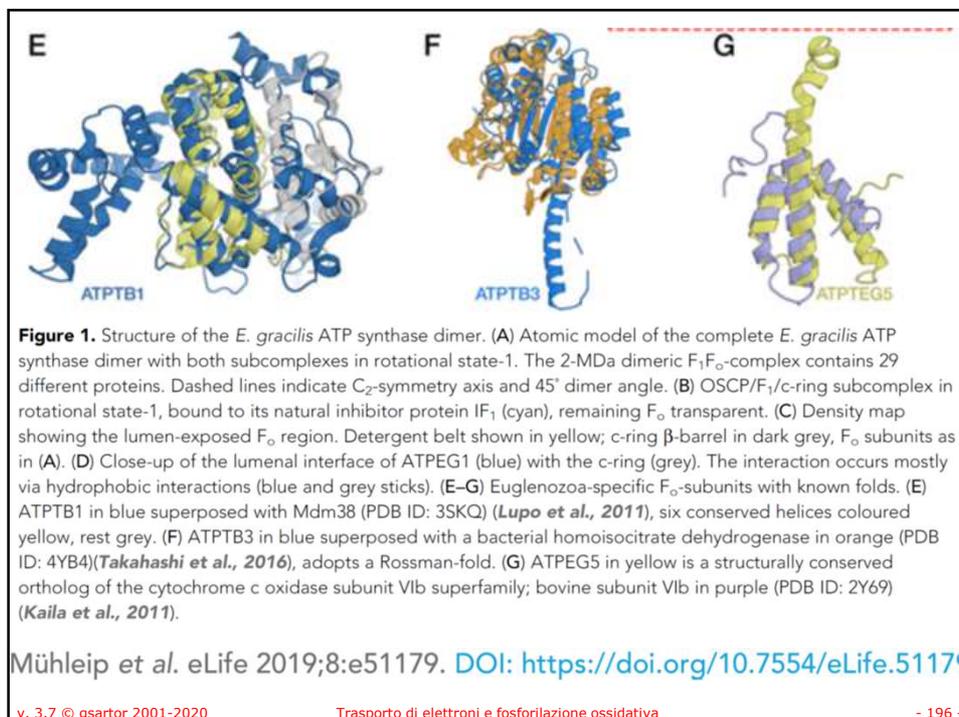
5T4O
5T4P
5T4Q

v. 3.7 © gsartor 2001-2020
Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa
- 194 -

194

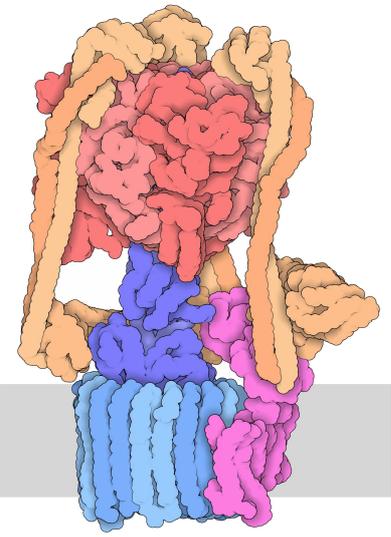


195

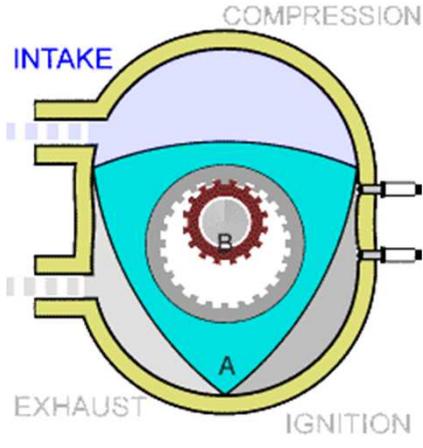


196

Motore rotativo



<https://youtu.be/E1qTSwc1o3U>
<https://www.youtube.com/watch?v=kXpzp4RDGJI>



MOTORE ROTATIVO WANKEL
<https://youtu.be/uvi7x23bnRQ>

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 197 -

197

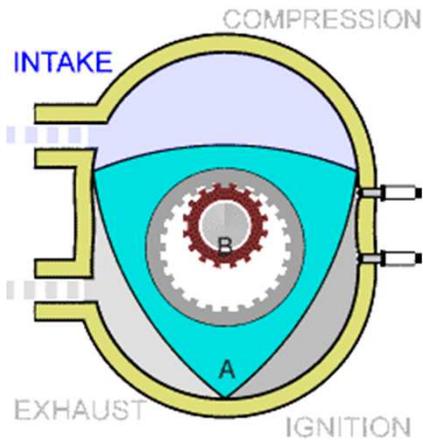
Motore rotativo



NSU Ro80
NSU Motorenwerke (1967-1969),
Audi NSU Auto Union AG (1969-1977)



Mazda RX-7 (1978-1985)



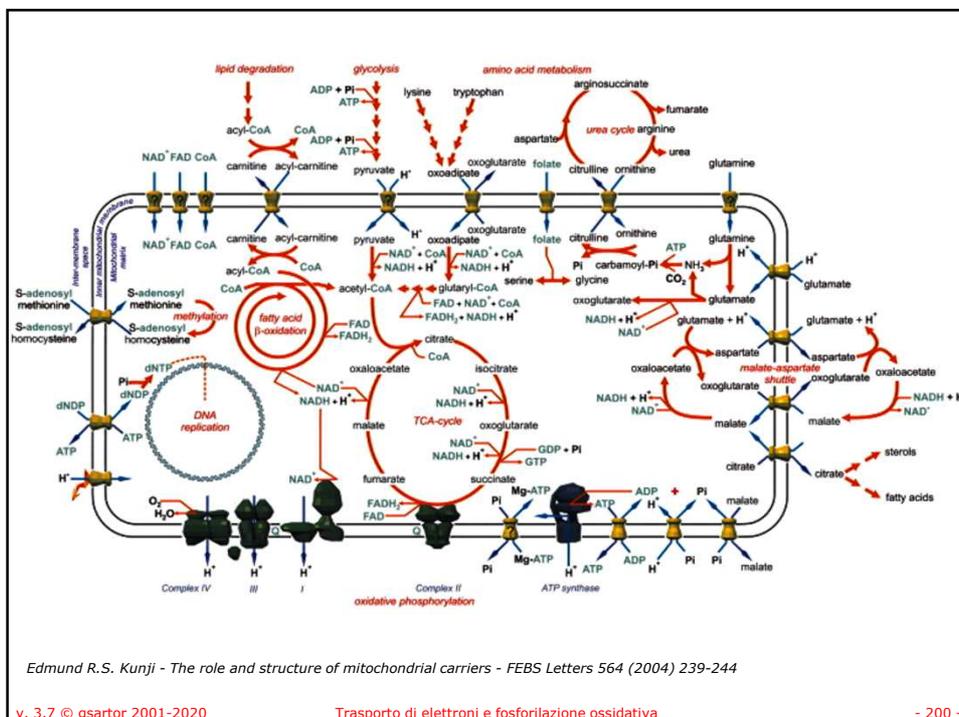
MOTORE ROTATIVO WANKEL
<https://youtu.be/uvi7x23bnRQ>

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 198 -

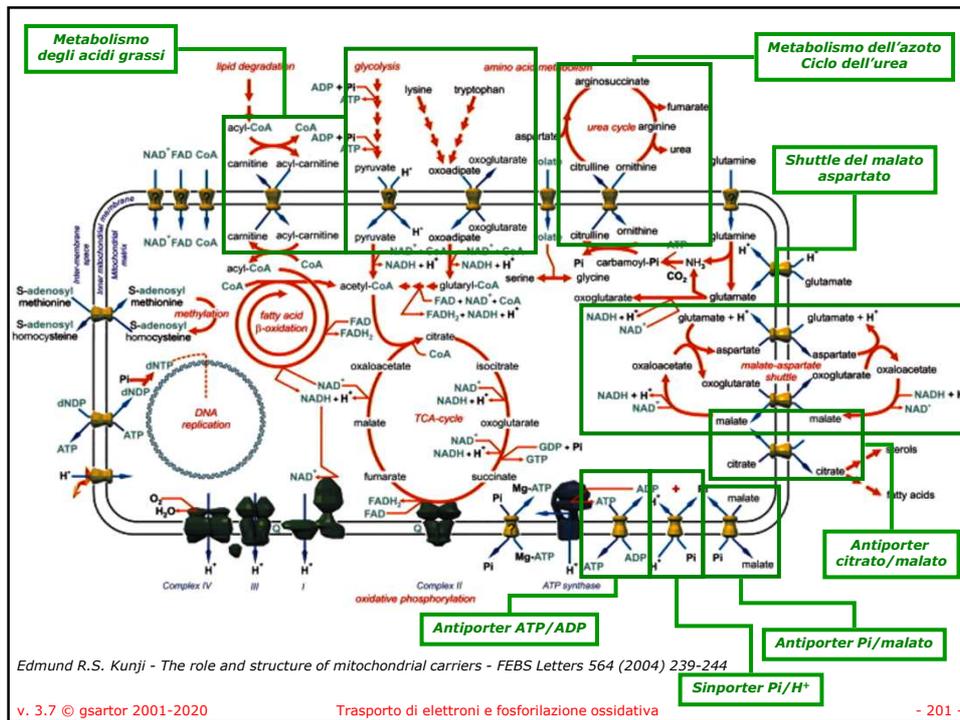
198



199



200



201

Trasporto ATP, ADP e P_i

- L'ATP prodotto nelle matrici 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 matrici mitocondriale per essere riconvertiti 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.

v. 3.7 © gsartor 2001-2020

Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa

- 202 -

202

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).

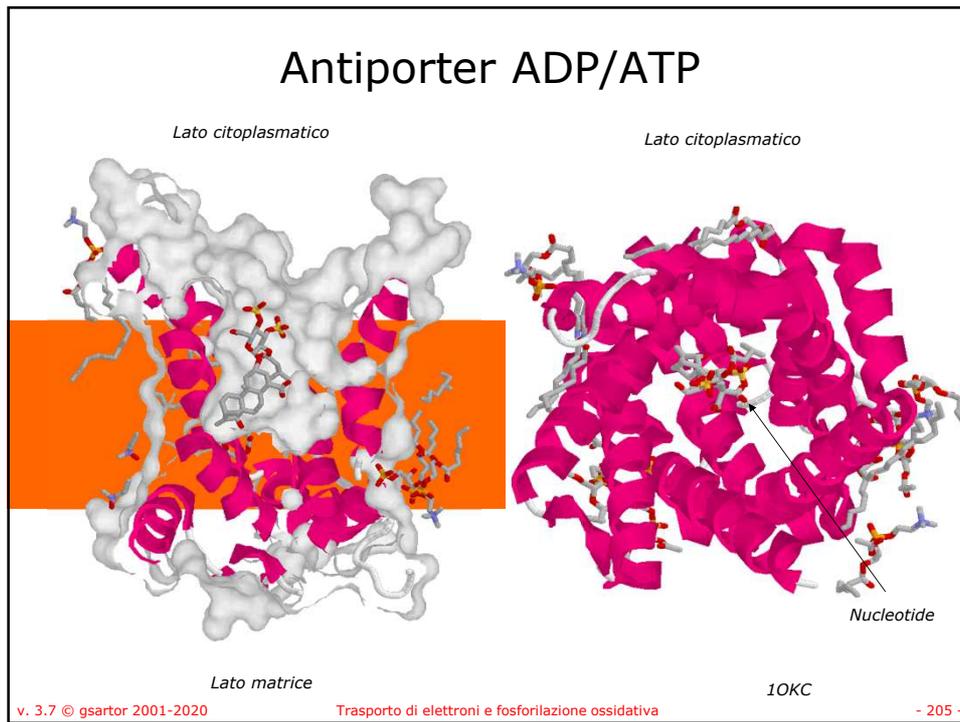
v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 203 -

203

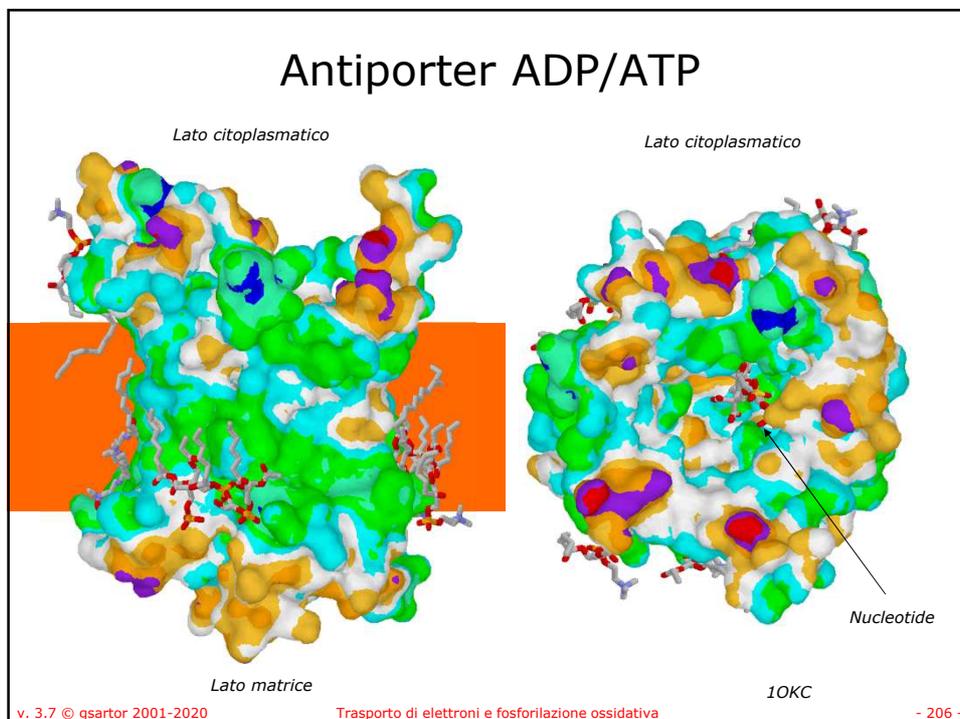
Antiporter ADP/ATP

v. 3.7 © gsartor 2001-2020 Trasporto di elettroni e fosforilazione ossidativa - 204 -

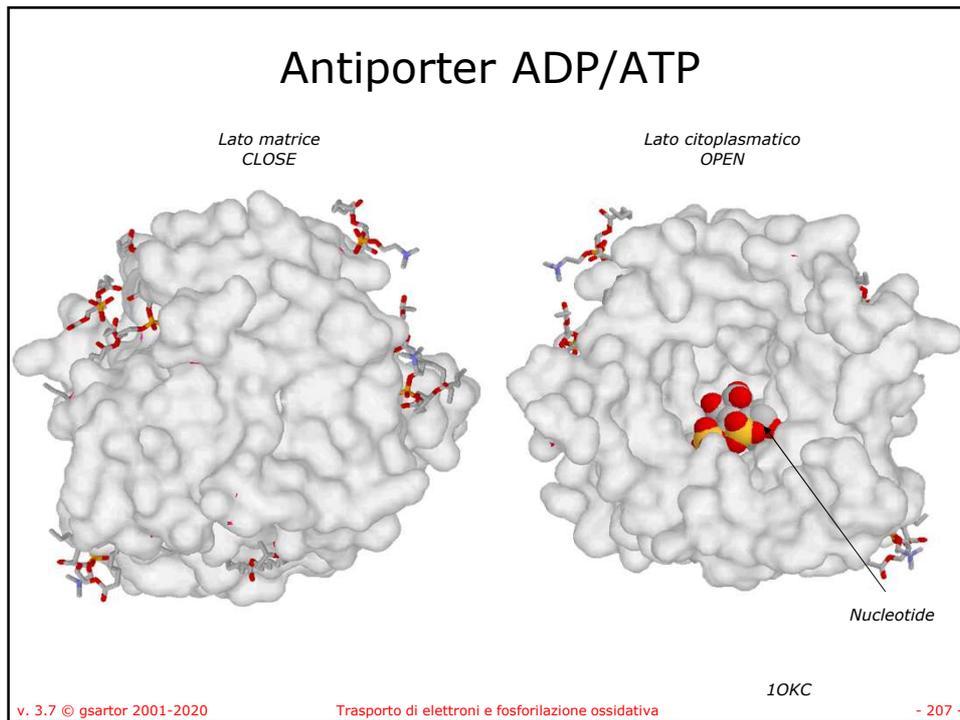
204



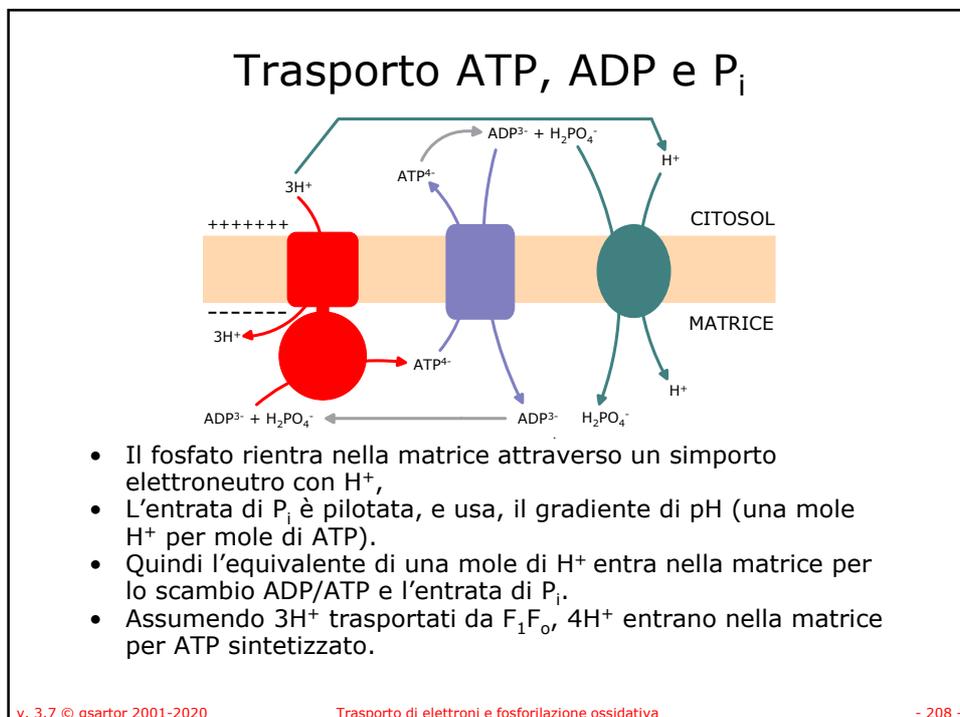
205



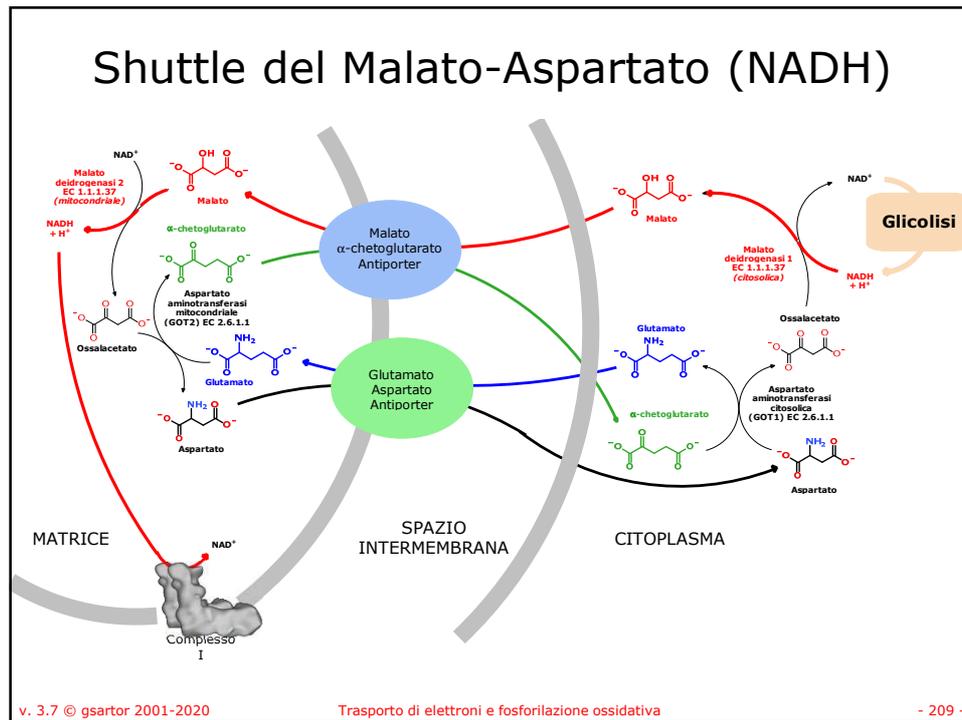
206



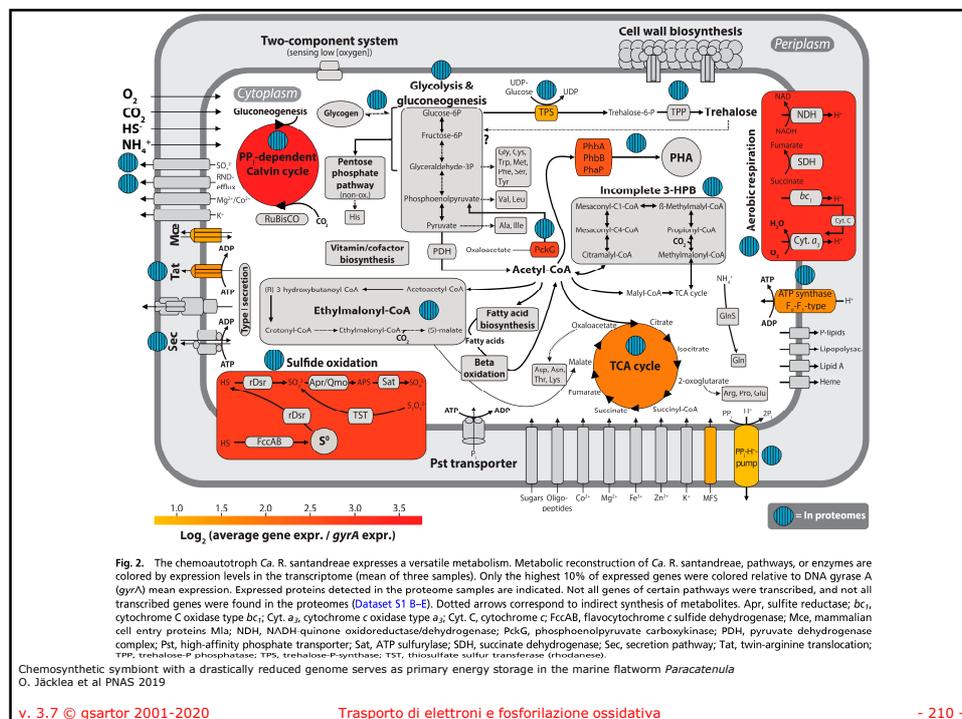
207



208



209



210

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 10/06/2020 18:30:55