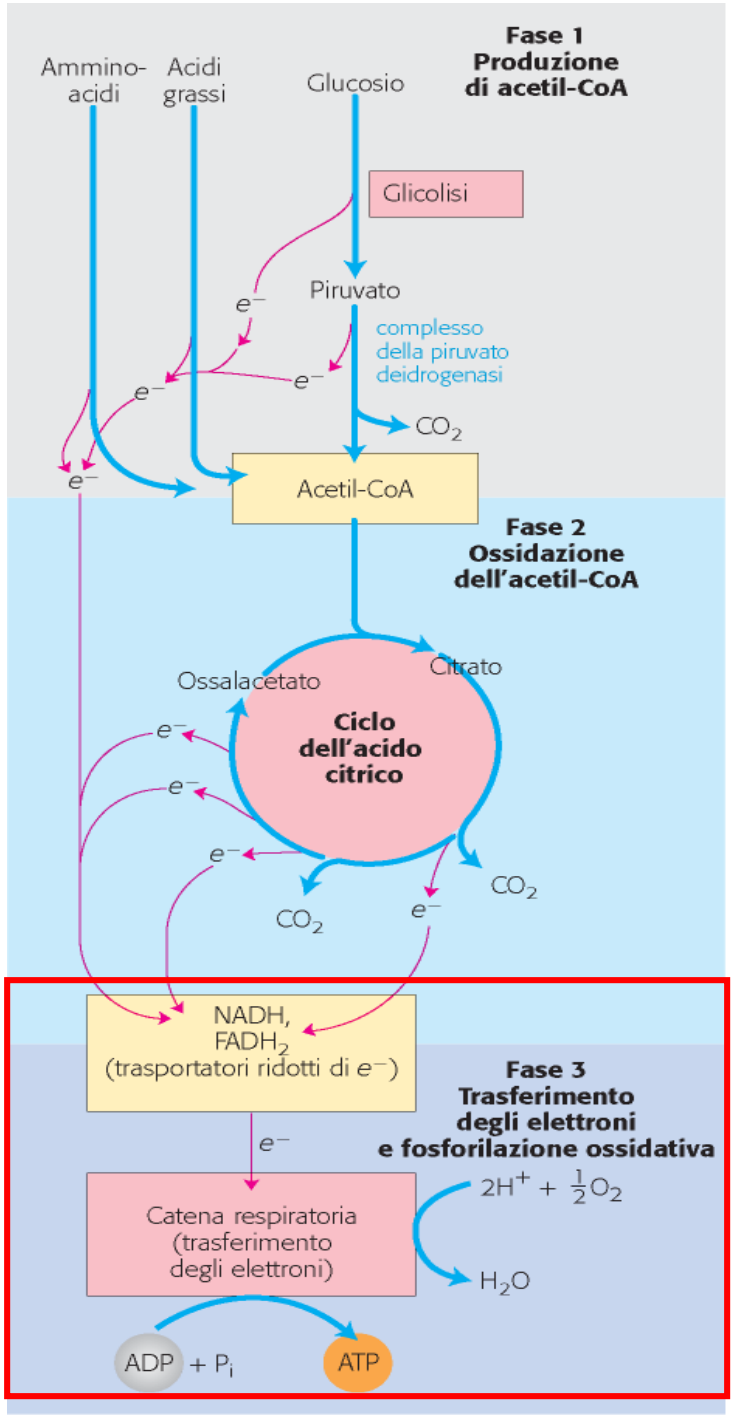
Fasi della respirazione cellulare ⟶

Metabolismo degradativo nelle cellule aerobiche

- cellule eucariotiche
- batteri

✓**Ossidazione completa dei nutrienti a CO_2 ed H_2O**

✓**Respirazione cellulare: consumo di O_2 e produzione di CO_2 da parte delle cellule**



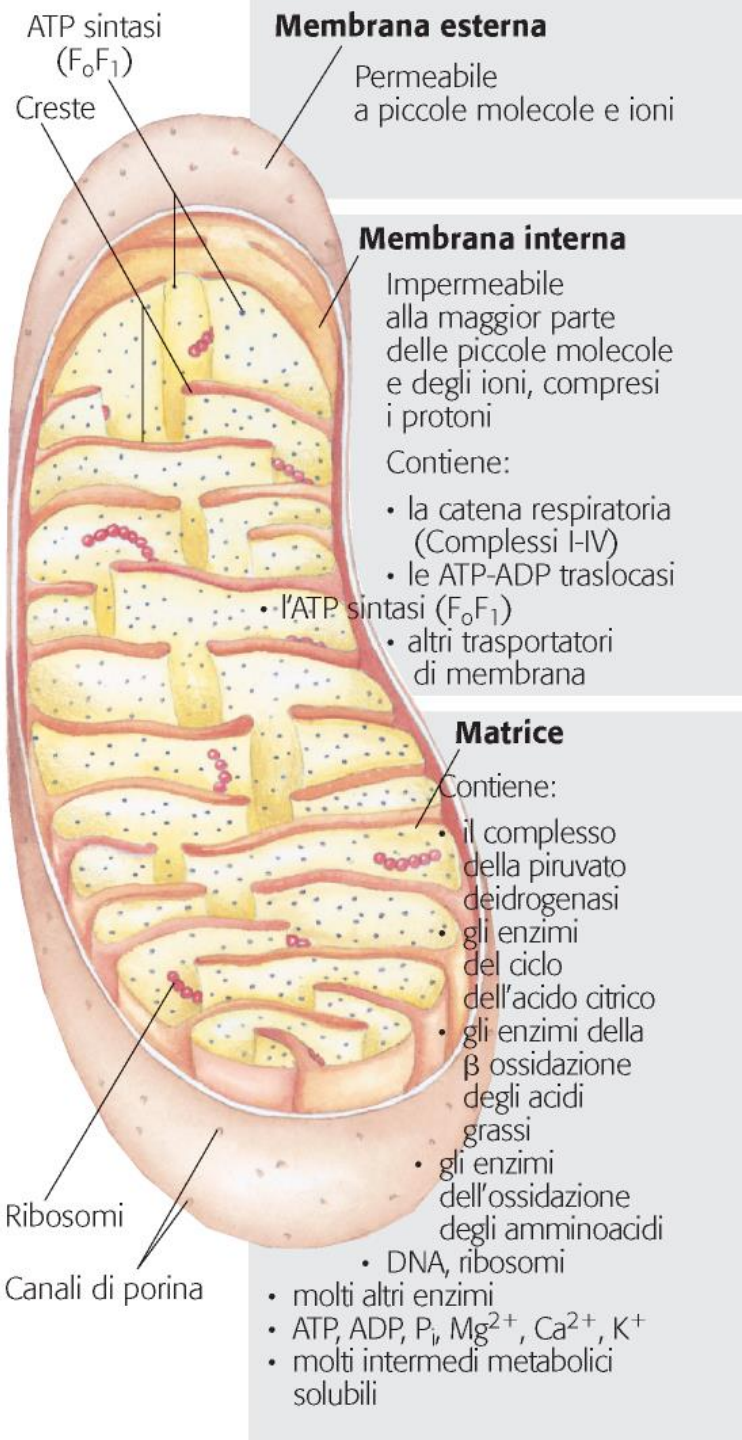
3 FASE:

TRASFERIMENTO DEGLI ELETTRONI E FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA

SEDE CELLULARE: MITOCONDRIO

- **membrana esterna: permeabile a molecole a basso PM (< 5000Da) e a ioni grazie alle PORINE, proteine integrali di membrana**
- **membrana interna: impermeabile a ioni e molecole, è attraversata solo da molecole che posseggono uno specifico trasportatore*; in essa sono disposti i componenti della catena respiratoria ed il complesso enzimatico che sintetizza l'ATP**

***piruvato, acidi grassi, amminoacidi e α-chetoacidi, ADP, P_i ed ATP**



TRASFERIMENTO DEGLI ELETTRONI

I coenzimi ridotti (NADH e $FADH_2$) prodotti nelle diverse vie degradative (glicolisi, β-ossidazione, ossidazione degli amminoacidi e ciclo di Krebs) sono ri-ossidati a spese di O_2 dalla catena di trasporto degli elettroni che si trova all'interno della membrana mitocondriale interna

FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA

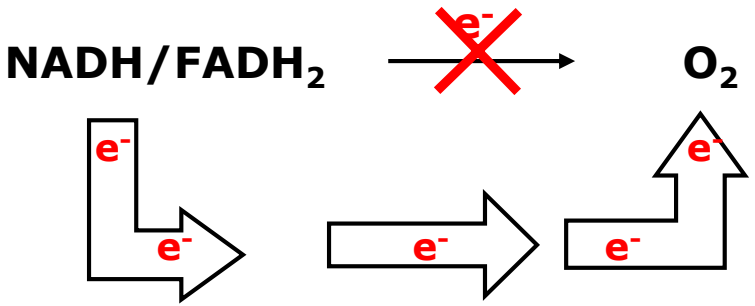
La riduzione dell'ossigeno, operata dalla catena di trasporto degli elettroni, genera un gradiente elettrochimico nello spazio intermembrana del mitocondrio che viene sfruttato per la sintesi di ATP mediante il meccanismo della fosforilazione ossidativa

CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI
ri-ossidazione dei coenzimi ridotti

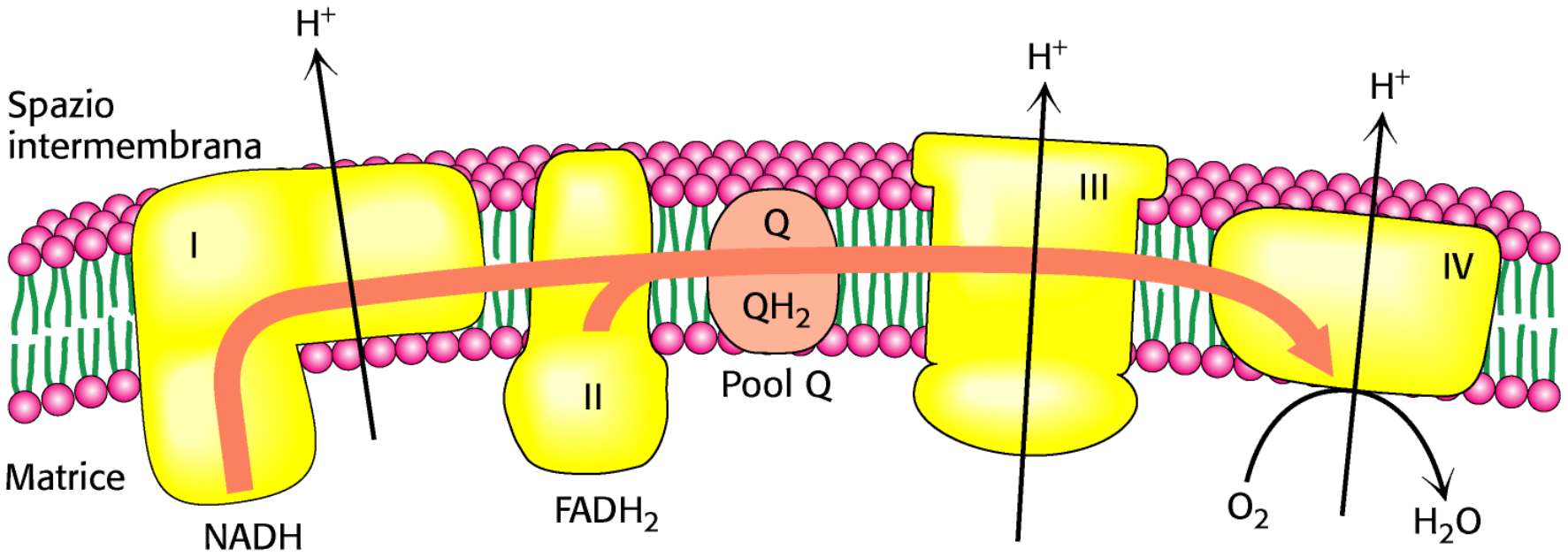
$$FADH_2 + ½\ O_2 \longrightarrow FAD + H_2O$$

$$NADH + ½\ O_2 + H^+ \longrightarrow NAD^+ + H_2O$$

- **L'ossidazione dei coenzimi ridotti da parte dell'ossigeno è un processo spontaneo ed esoergonico**
- **Il trasferimento di e^- non avviene in maniera diretta bensì attraverso una catena di trasportatori che si trova all'interno della membrana mitocondriale interna e che convoglia gli elettroni dei coenzimi ridotti verso l'ossigeno**



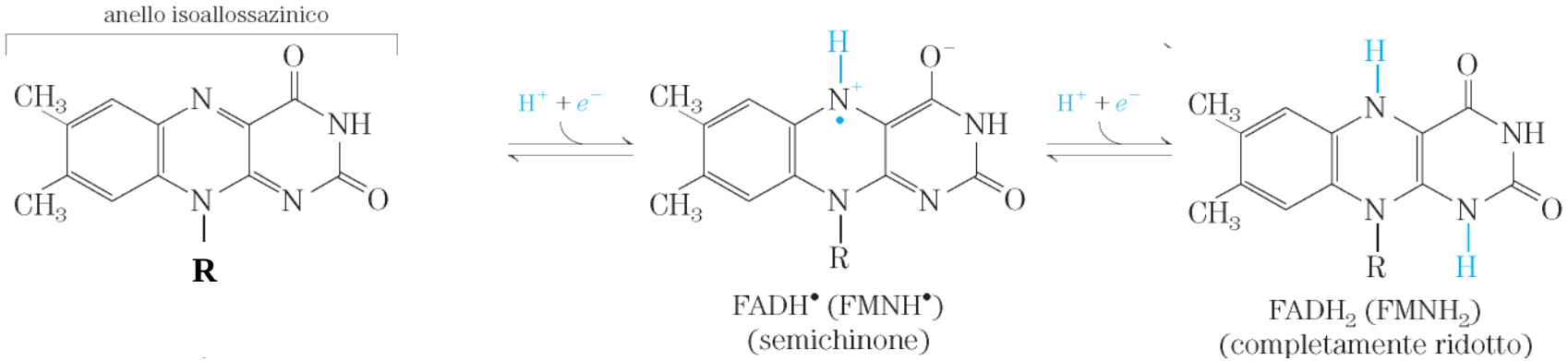
CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI
serie di complessi multienzimatici



- **Il flusso esoergonico degli elettroni viene accoppiato al trasporto endoergonico di ioni H^+ attraverso la membrana interna che genera a sua volta un potenziale elettrochimico**
- **Il flusso transmembrana degli ioni H^+ in senso inverso fornisce l'energia libera per la sintesi di ATP a partire da ADP e P_i**

COENZIMI: ACCETTORI UNIVERSALI DI ELETTRONI

- **flavin adenin dinucleotide (FAD)/ flavin mononucleotide (FMN)**



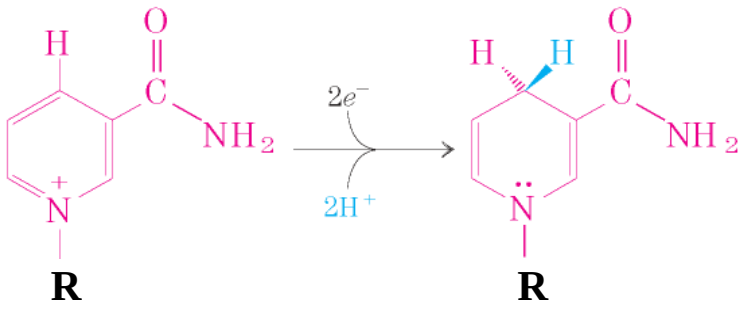
accettano 2 e^- sotto forma di atomi di idrogeno (H^+ ed e^-)

$$A + 2H^+ + 2e^- \rightleftarrows AH_2$$

possono accettare sia uno che due elettroni per volta: fungono da intermedi tra reazioni che scambiano un elettrone alla volta e reazioni che scambiano due elettroni alla volta

COENZIMI: ACCETTORI UNIVERSALI DI ELETTRONI

- **nicotinamide adenindinucleotide (NAD)**



accetta 2 e⁻ sotto forma di ioni idruro (H:⁻)

NAD^+ **NADH**

NAD: coenzima solubile che si associa reversibilmente alle deidrogenasi

- **accettore di elettroni da substrati del catabolismo**

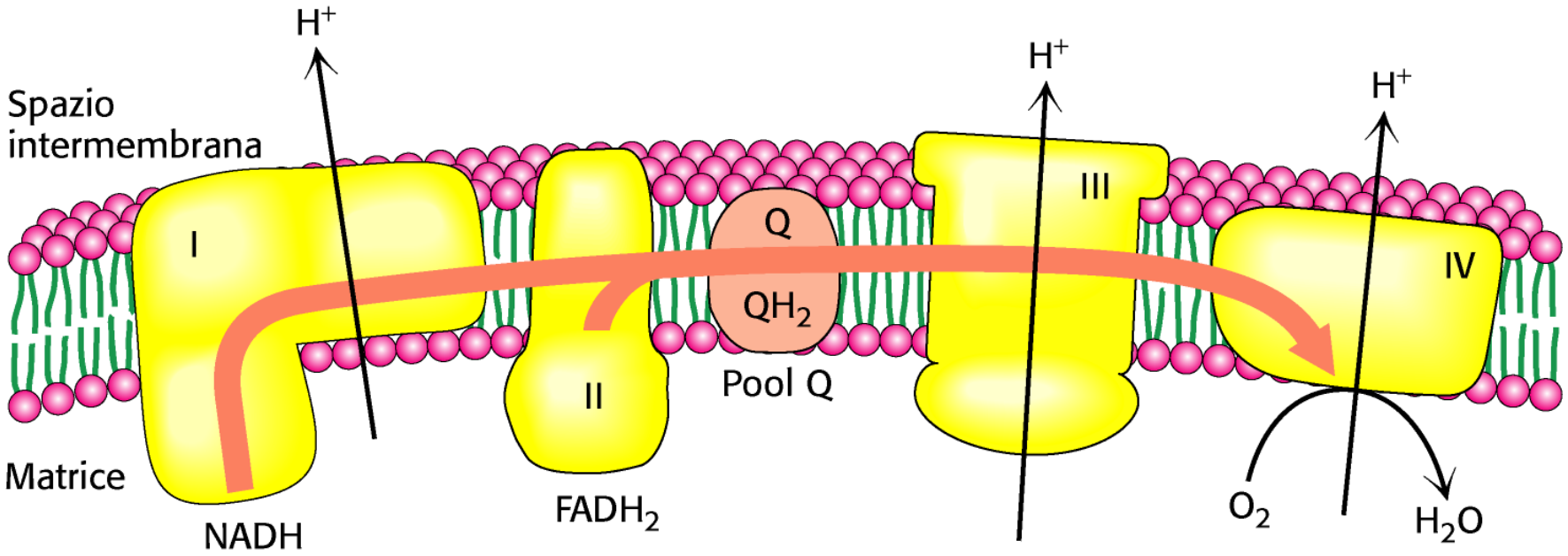
substrato ridotto + NAD^+ ⇄ substrato ossidato + NADH + H^+

- **accettore di elettroni da altri coenzimi ridotti**

NADPH + NAD^+ ⇄ $NADP^+$ + NADH

piridina nucleotide transidrogenasi

CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI
complessi multienzimatici



TRASPORTATORI DI ELETTRONI

- **sotto forma di atomi di idrogeno: H^+ ed e^-**
- **trasferimento diretto: es. Fe^{2+}/Fe^{3+}**
- **trasferimento di ioni idruro (FMN)**

TRASPORTATORI DI ELETTRONI

- **sotto forma di atomi di idrogeno: H^+ ed e^-**

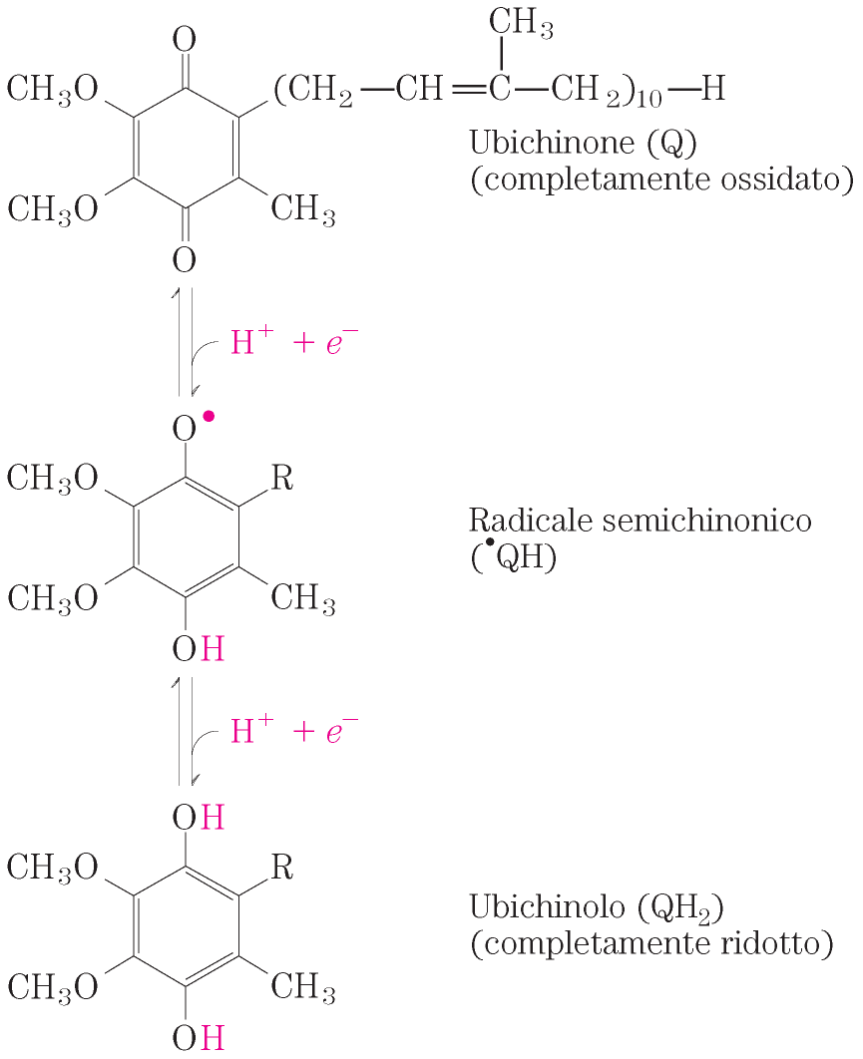
Ubichinone o coenzima Q

$$AH_2 \rightleftarrows A + 2H^+ + 2e^-$$

- **può accettare sia uno che due elettroni: funge da intermedio tra reazioni che scambiano un elettrone alla volta e reazioni che scambiano due elettroni alla volta**

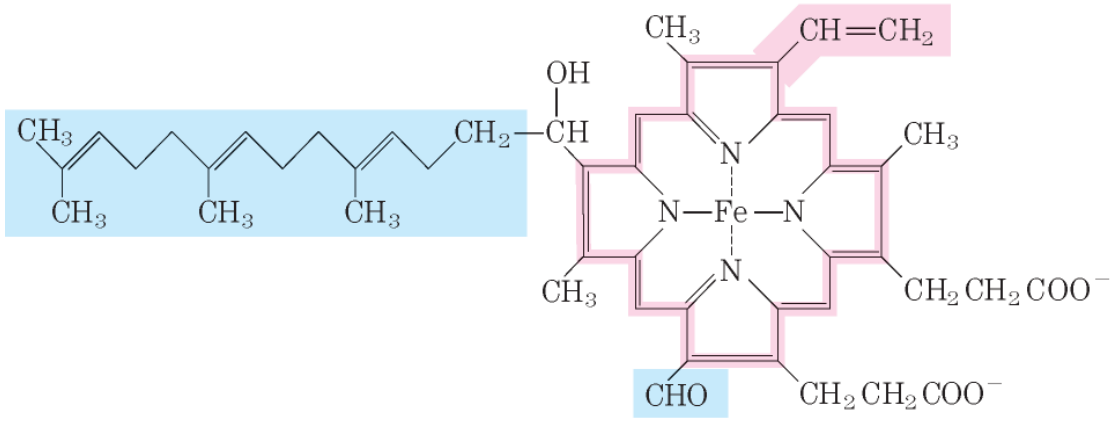
- **ha carattere altamente idrofobico: diffonde liberamente all'interno della membrana mitocondriale e agisce da ponte tra trasportatori di e^-**

- **trasporta sia e^- che H^+ ed agisce quindi nel processo di accoppiamento tra il flusso elettronico e quello protonico**

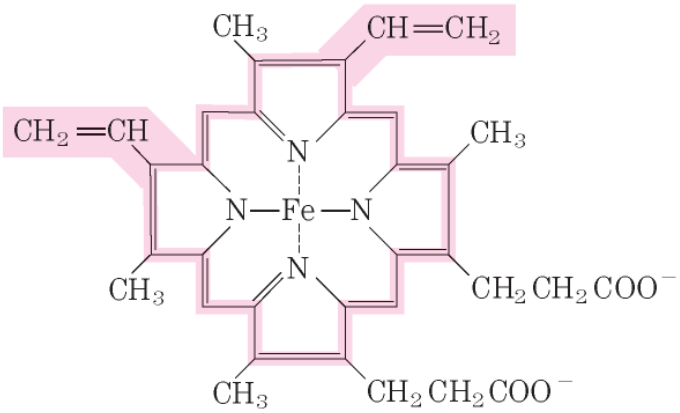


TRASPORTATORI DI ELETTRONI

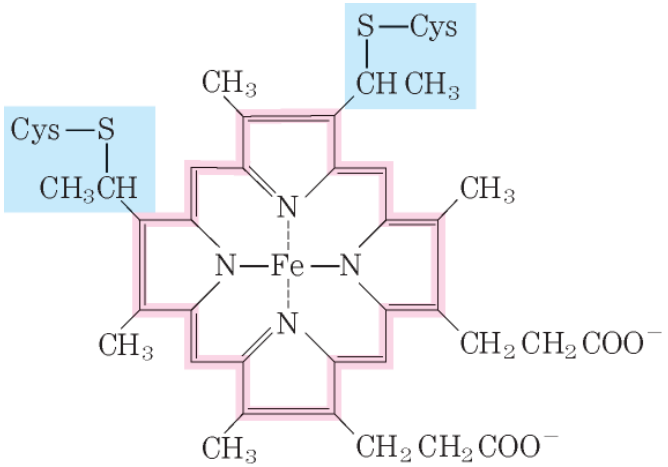
- **trasferimento diretto: Fe^{2+}/Fe^{3+}**



Eme A
(nei citocromi tipo *a*)



Ferro protoporfirina IX
(nei citocromi tipo *b*)



Eme C
(nei citocromi tipo *c*)

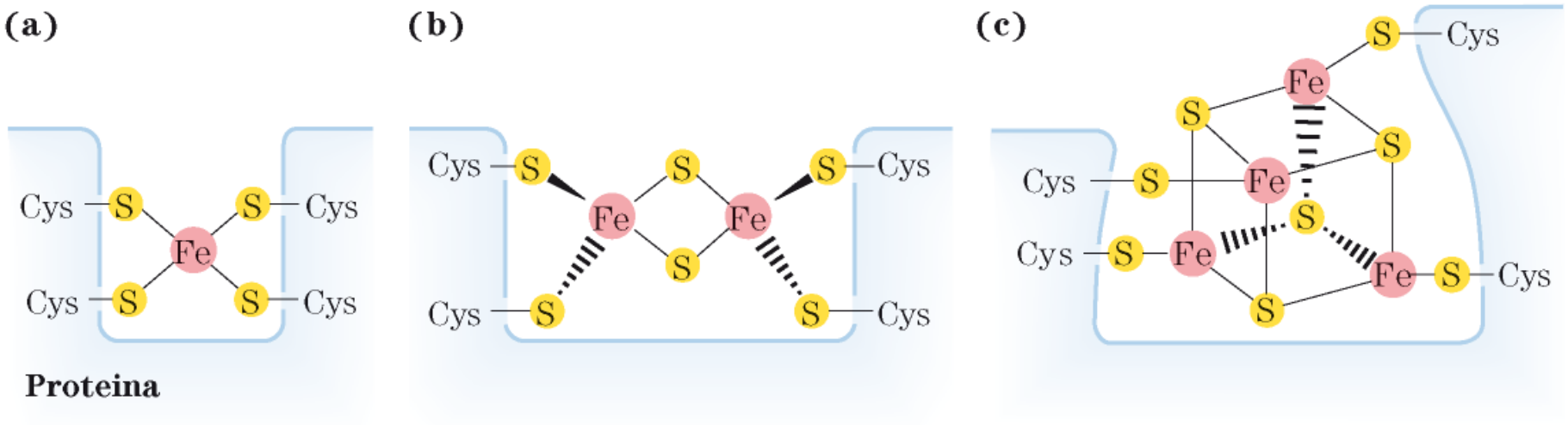
EME: gruppi prostetici dei CITOCROMI

- **Citocromi *a* e *b*: proteine integrali della membrana mitocondriale interna**
- **Citocromo *c*: proteina periferica, legata alla superficie esterna della membrana interna (nello spazio intermembrana)**

TRASPORTATORI DI ELETTRONI

- **trasferimento diretto: Fe^{2+}/Fe^{3+}**

PROTEINE Fe-S



centro ferro-zolfo

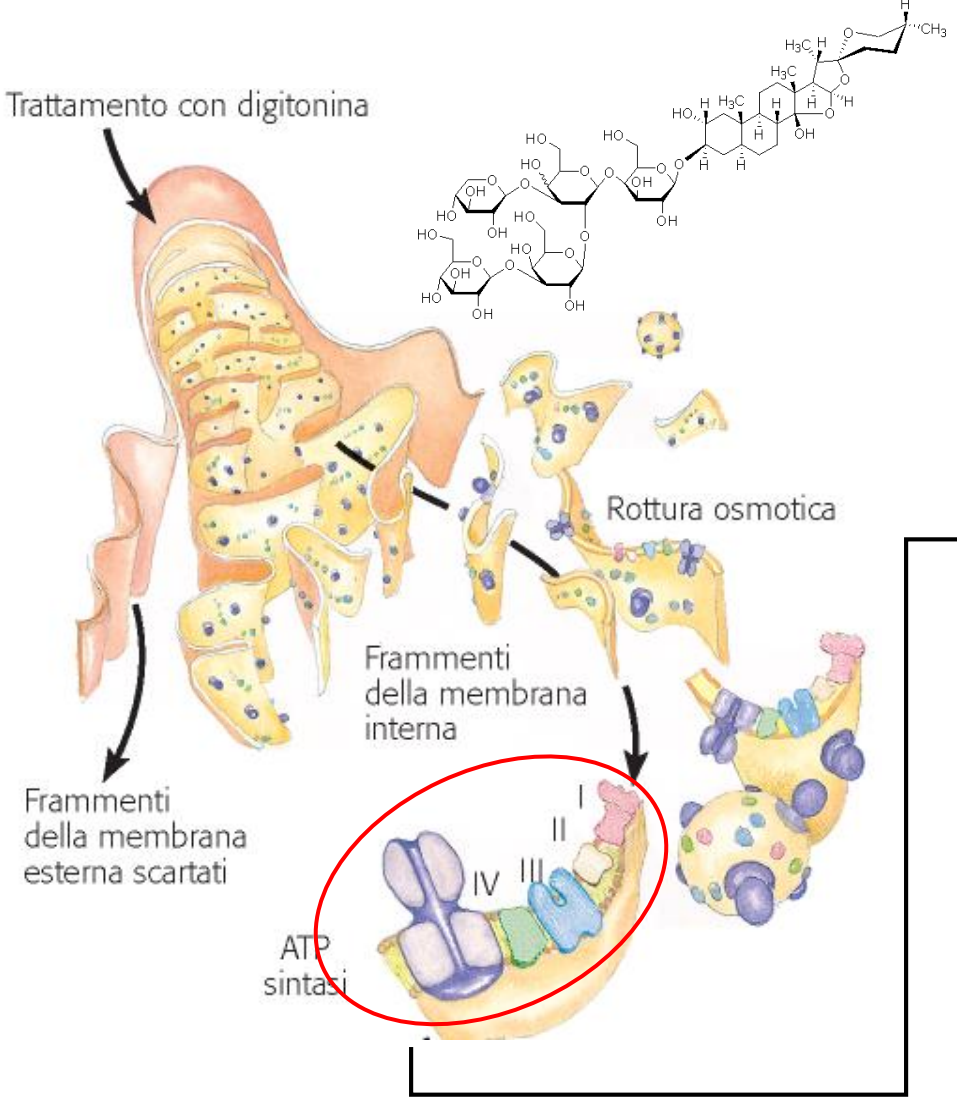
centro 2Fe-2S

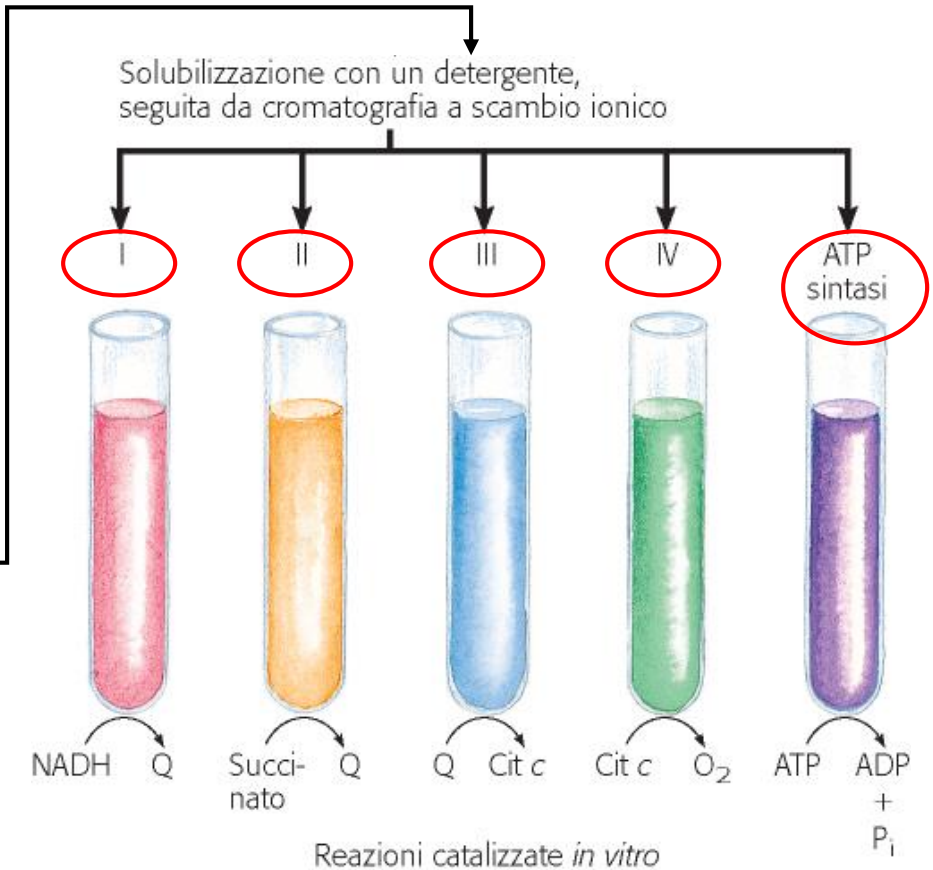
centro 4Fe-4S

CENTRI Fe-S

PROTEINE Fe-S di Rieske: Fe coordinato con 2 residui di His e non Cys

SEPARAZIONE DEI COMPLESSI FUNZIONALI DELLA CATENA RESPIRATORIA





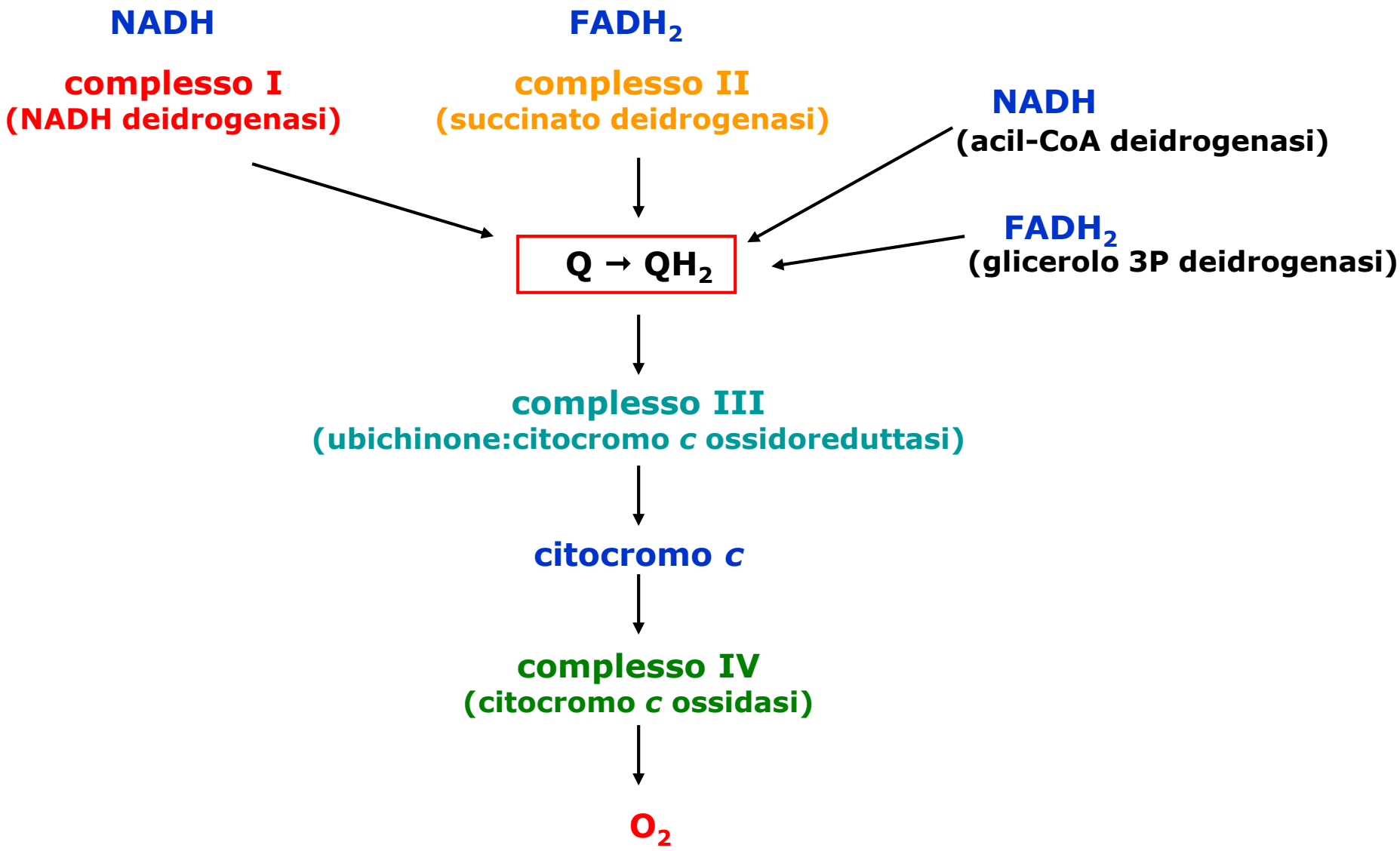
I, II, III e IV: COMPLESSI FUNZIONALI

COMPLESSI DELLA CATENA RESPIRATORIA

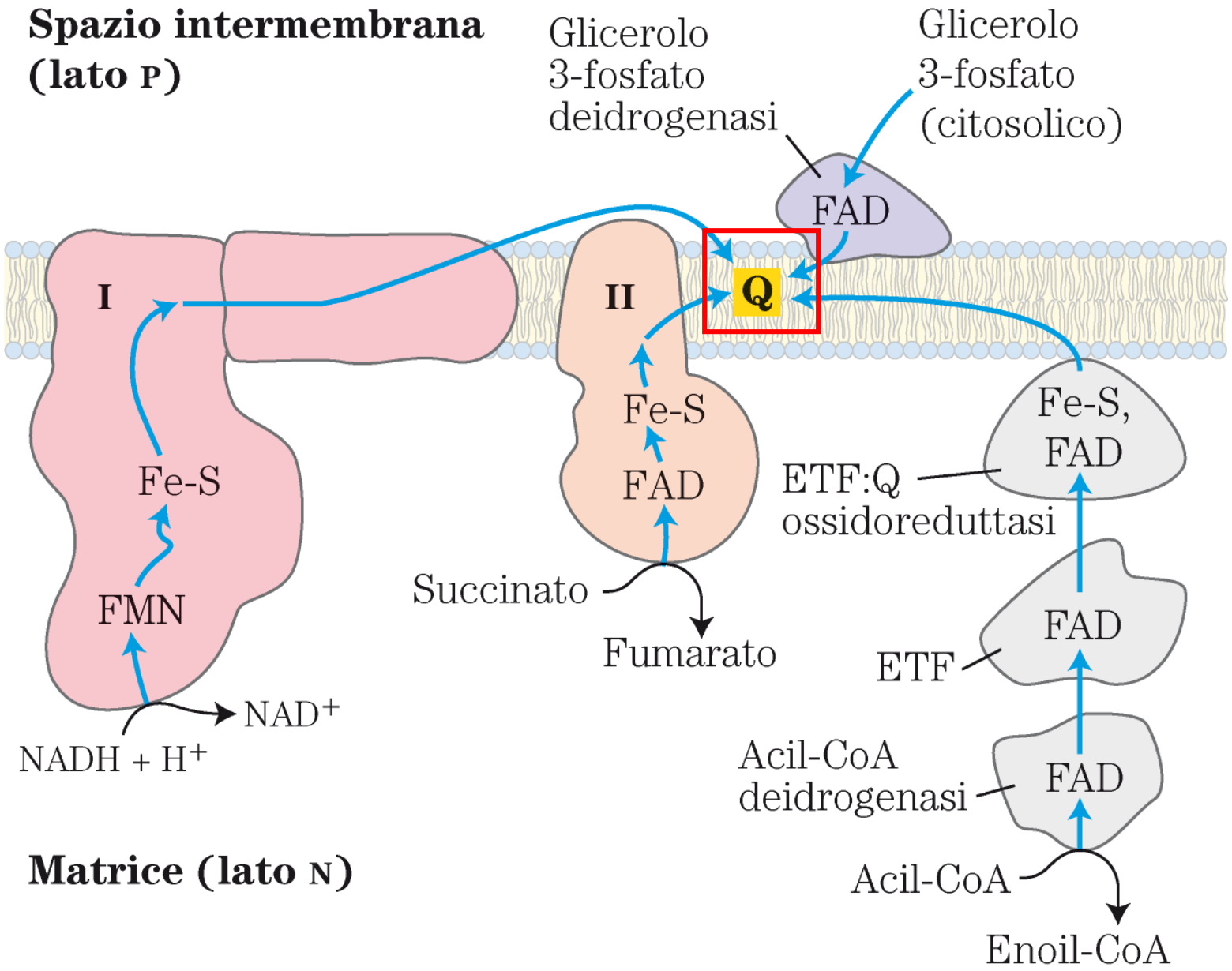
complesso enzimatico	massa (KDa)	numero subunità	gruppo prostetico
I. NADH deidrogenasi	850	42	FMN, Fe-S
II. Succinato deidrogenasi	140	5	FAD, Fe-S
III. Ubichinone:citocromo *c* ossidoreduttasi	250	11	Eme, Fe-S
Citocromo *c*	13	1	Eme
IV. Citocromo ossidasi	160	13	Eme, Cu_A e C_B

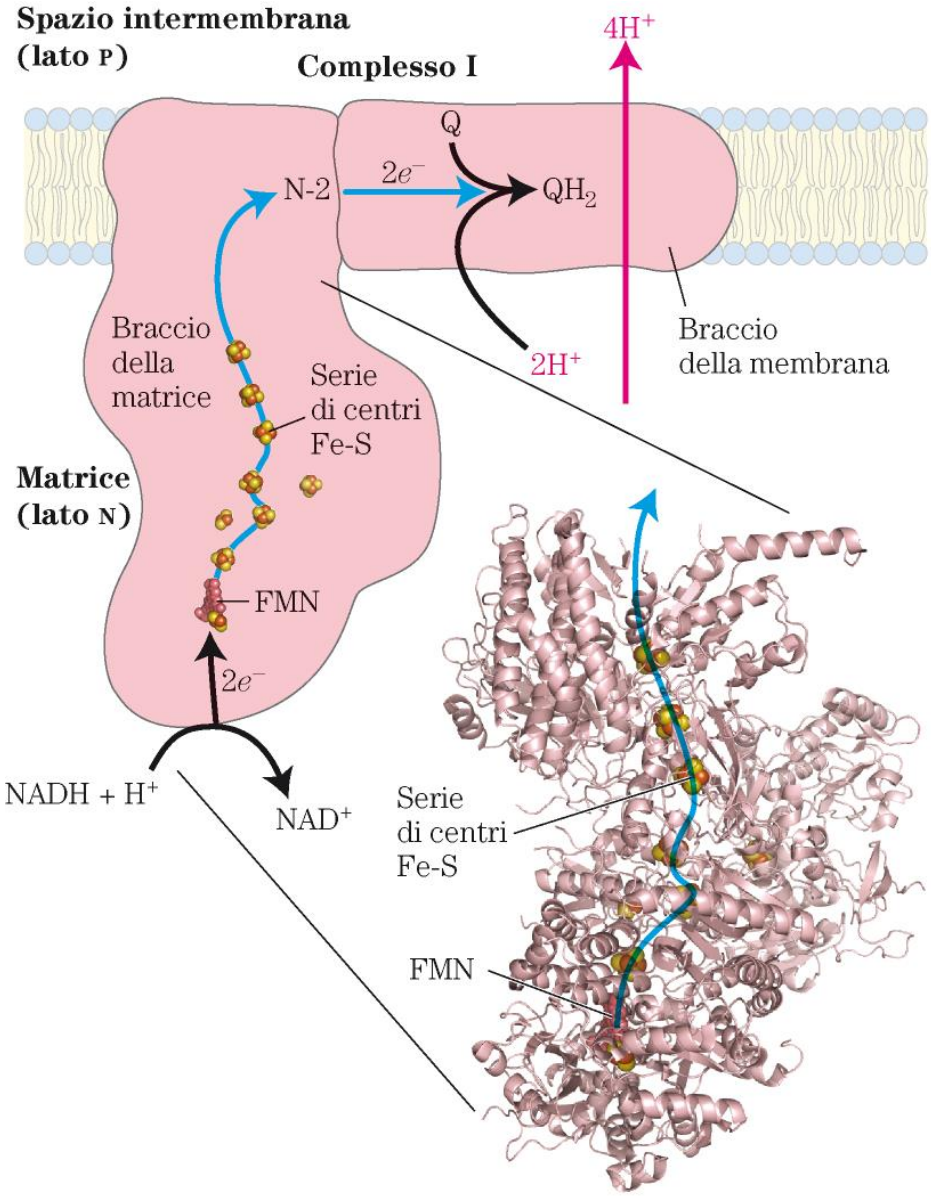
Complessi multienzimatici immersi nella membrana mitocondriale interna; fa eccezione il citocromo *c* che è una proteina solubile che si muove nello spazio intermembrana

TRASFERIMENTO DEGLI ELETTRONI NELLA CATENA



TRASFERIMENTO DEGLI ELETTRONI ALL'UBICHINONE





COMPLESSO I
NADH:ubichinone ossidoreduttasi

N-2: proteina ferro-zolfo

La riduzione del NADH richiede un protone che viene sottratto dalla matrice mitocondriale

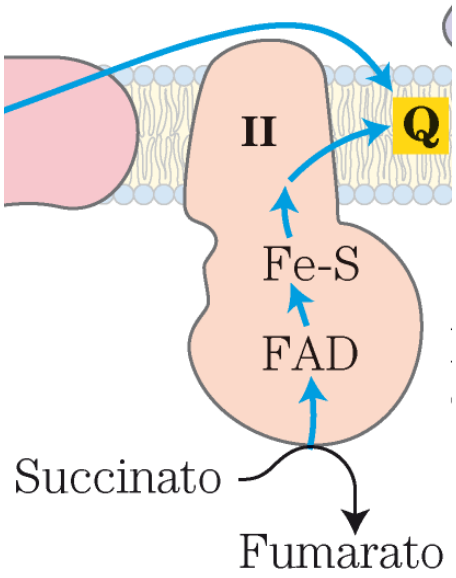
$$NADH + H^+ + Q \rightleftarrows NAD^+ + QH_2$$

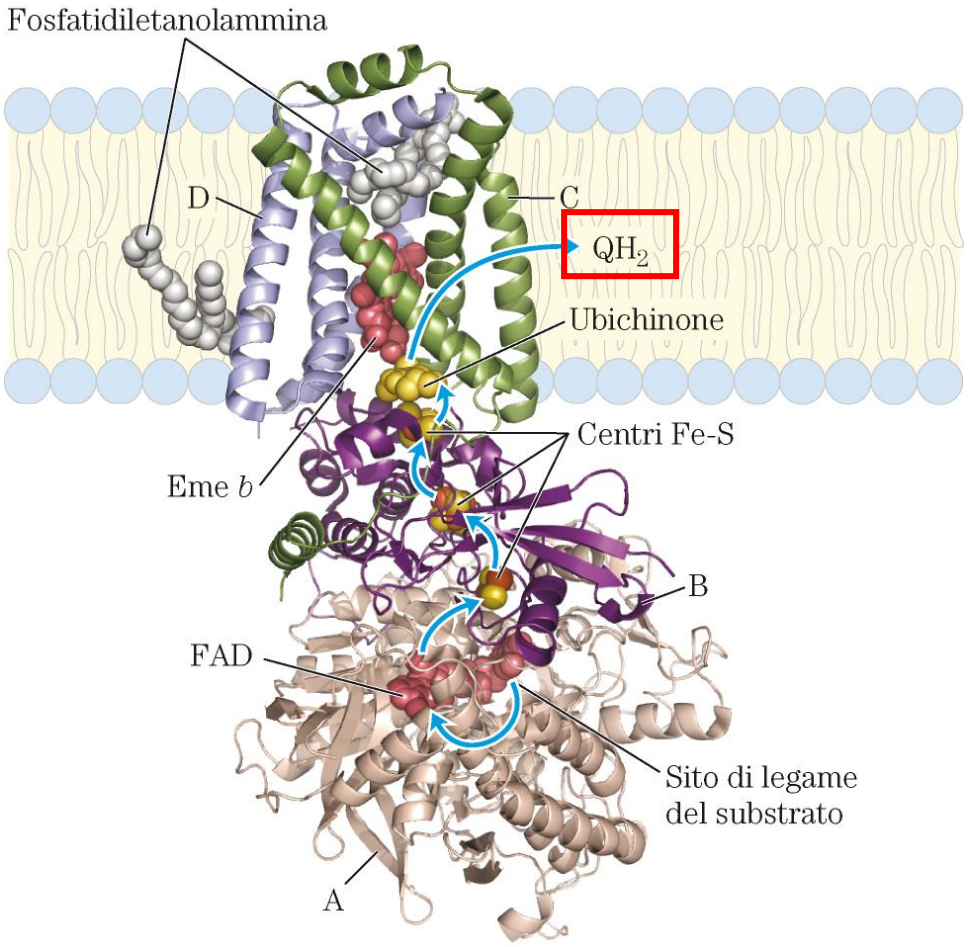
Il processo di riduzione è accoppiato al trasporto di 4 ioni H^+ dalla matrice allo spazio intermembrana ($4H_n^+ \rightarrow 4H_p^+$), in totale dunque:

$$NADH + 5H_N^+ + Q \rightleftarrows NAD^+ + QH_2 + 4H_P^+$$

COMPLESSO II
Succinato deidrogenasi

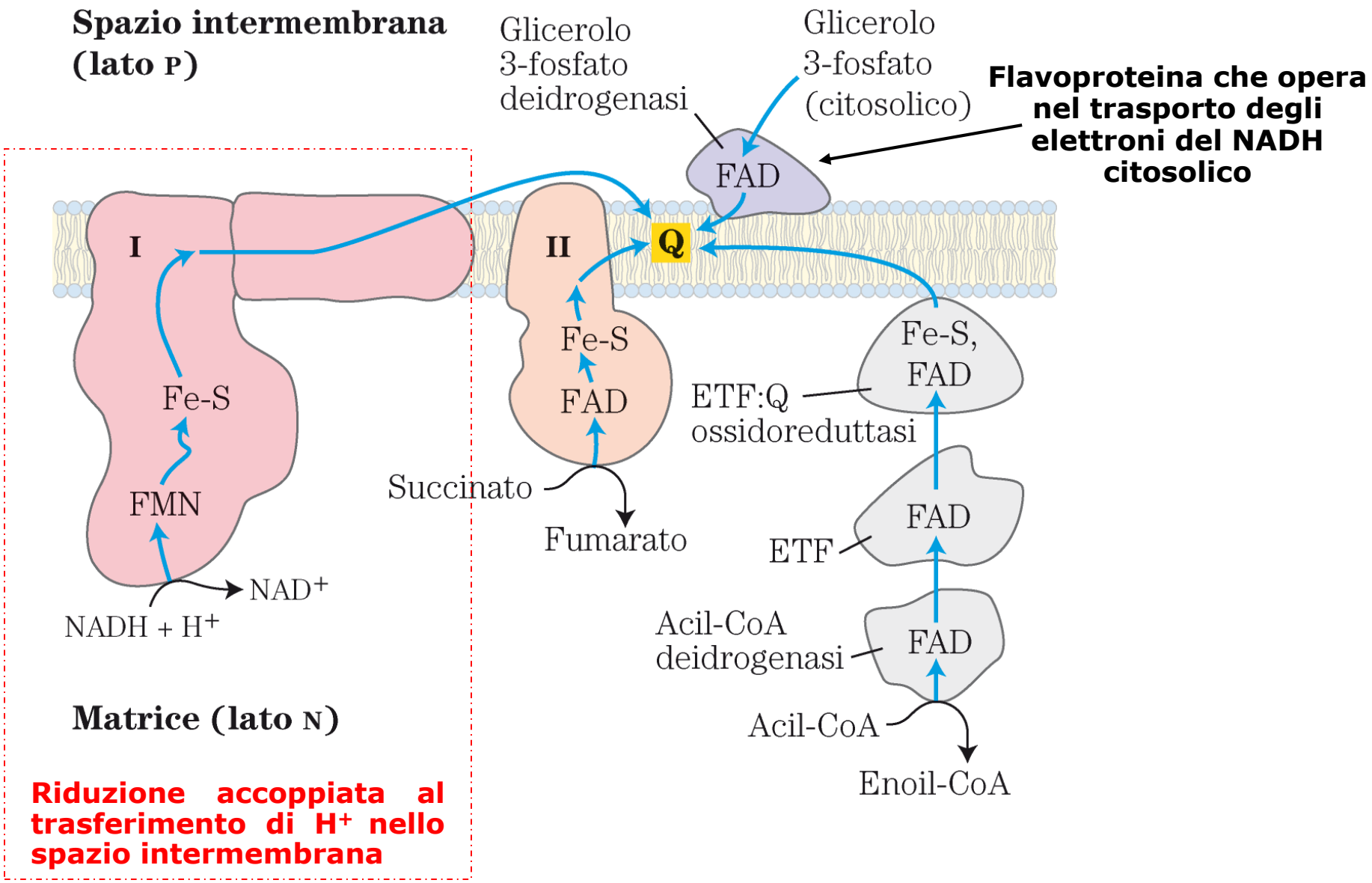
Spazio intermembrana (lato P)



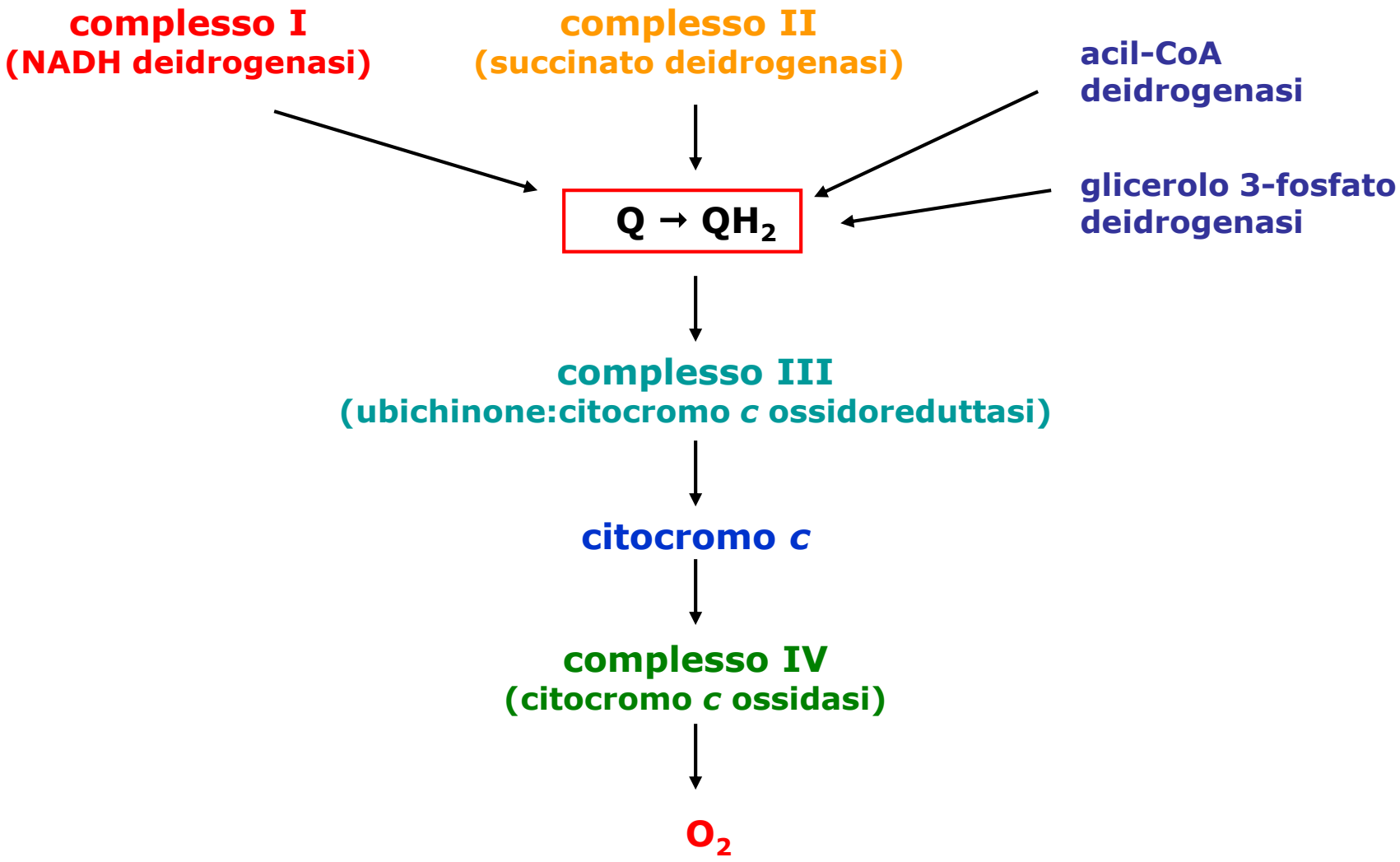


Matrice (lato N)

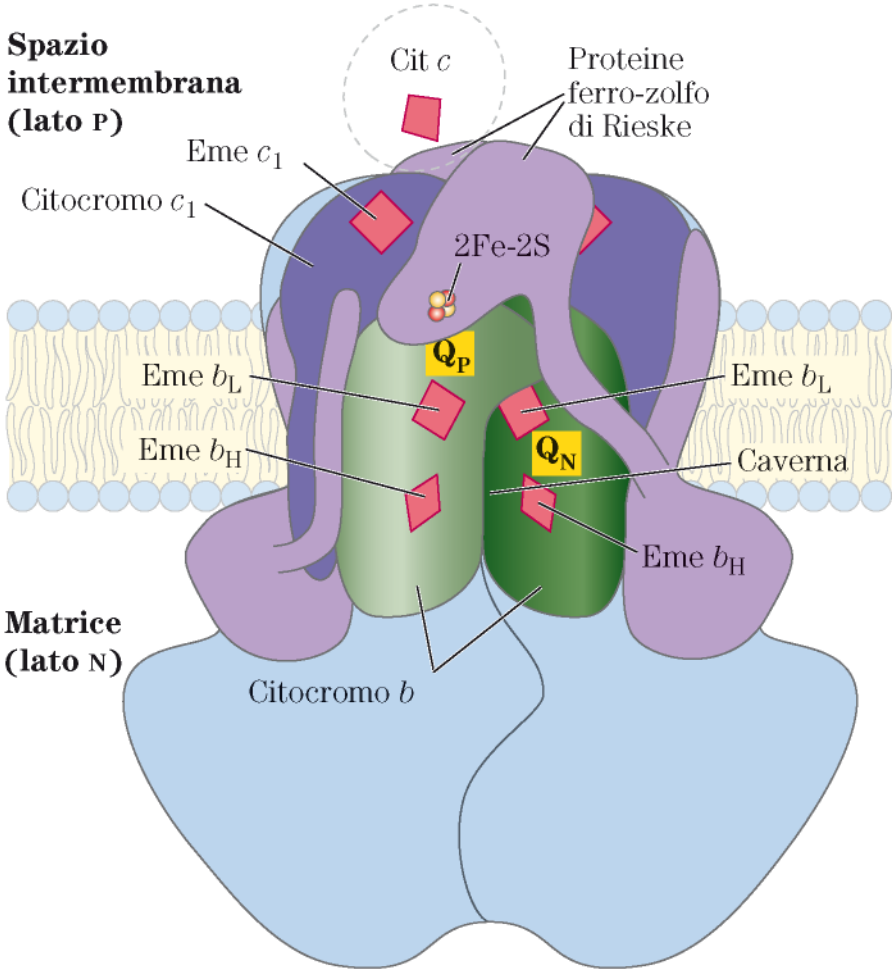
Flusso complessivo di elettroni verso l'ubichinone



TRASFERIMENTO DEGLI ELETTRONI NELLA CATENA



COMPLESSO III
ubichinone: citocromo *c* ossidoreduttasi

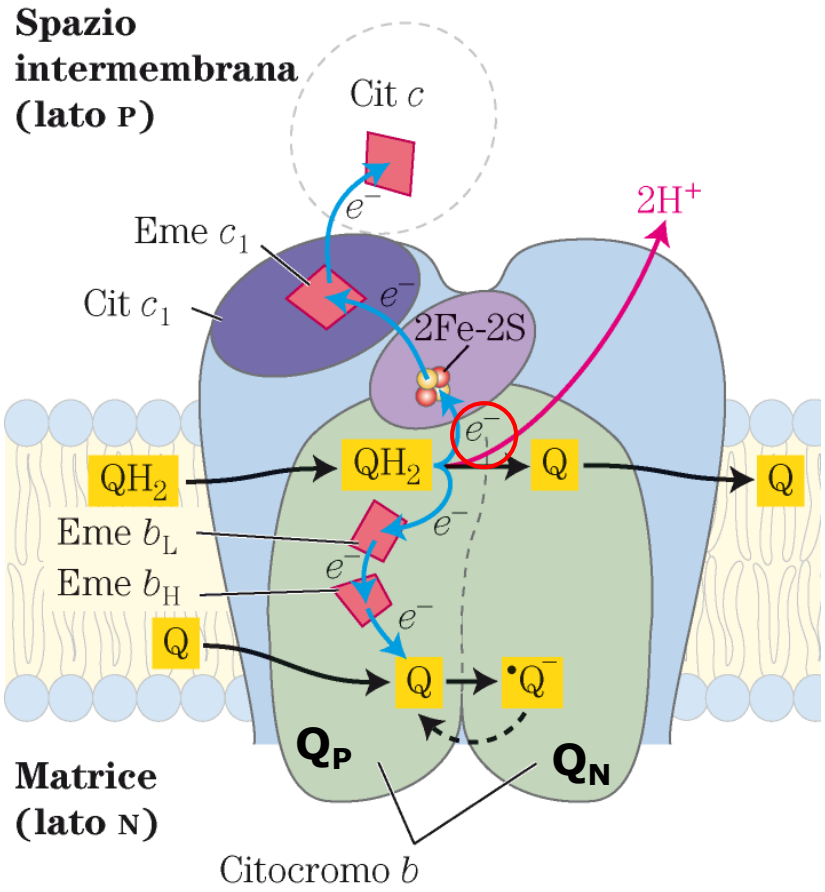


L'unità funzionale del complesso III è un dimero in cui i due monomeri di citocromo *b* formano una caverna in cui Q si muove dal lato della matrice (sito Q_N) a quello dello spazio intermembrana (sito Q_P)

Il processo di riduzione è accoppiato al trasporto di 4 ioni H^+ dalla matrice allo spazio intermembrana

$$QH_2 + 2 \text{ cit } c_1 \text{ (ossidato)} + 2H_N^+ \rightarrow Q + 2 \text{ cit } c_1 \text{ (ridotto)} + 4H_P^+$$

COMPLESSO III
ubichinone: citocromo *c* ossidoreduttasi

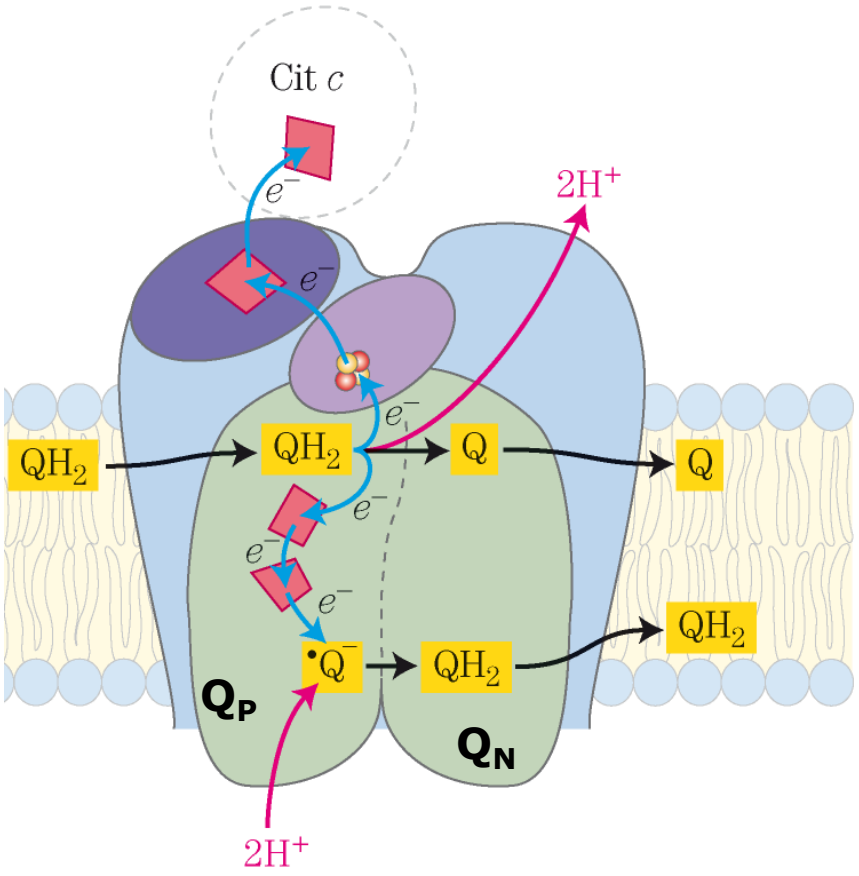


$$QH_2 + Q + \text{cit } c_1 \text{ (ossidato)} \longrightarrow {}^{\bullet}Q^{-} + Q + 2H^{+}_{P} + \text{cit } c_1 \text{ (ridotto)}$$

I fase: QH_2 cede un e^- ai centri Fe-S che attraverso cit c_1 riduce la prima molecola di citocromo *c*; il secondo e^- riduce una molecola di Q a semichinone $Q^{\bullet-}$ che dal sito sito Q_N si sposta al sito Q_P per reagire nella seconda fase con un altro QH_2

La molecola di QH_2 che entra viene completamente ossidata a Q, a tale processo è associato il rilascio di $2H^+$ nello spazio intermembrana

COMPLESSO III
ubichinone: citocromo *c* ossidoreduttasi

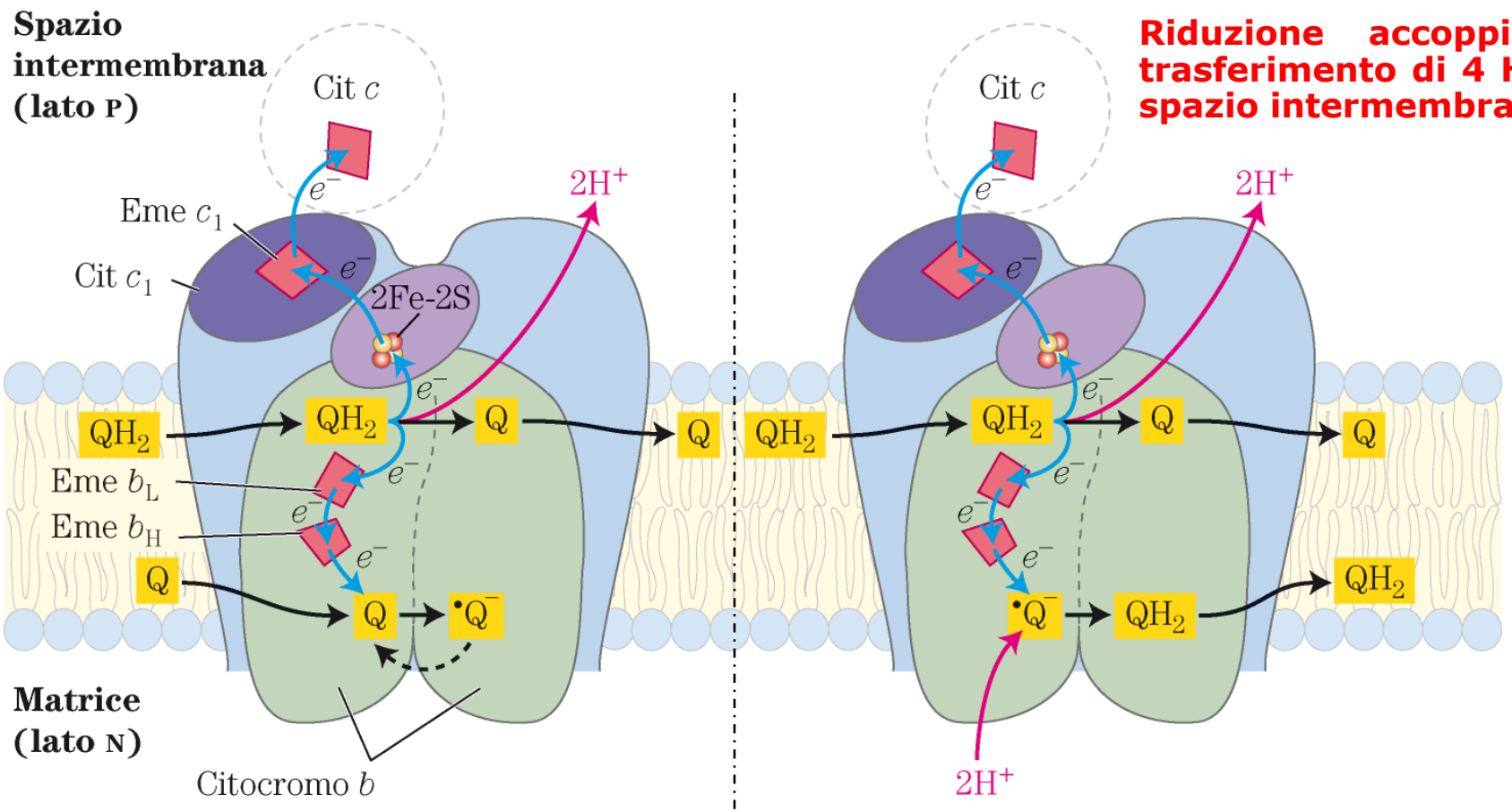


$$QH_2 + {}^{\bullet}Q^- + 2H_N^+ + \text{cit } c_1 \text{ (ossidato)} \longrightarrow QH_2 + 2H_P^+ + Q + \text{cit } c_1 \text{ (ridotto)}$$

II fase: una seconda molecola di QH_2 entra nel complesso e cede un e^- ai centri Fe-S che attraverso cit c_1 riduce la prima molecola di citocromo *c*; il secondo e^- riduce il semichinone $Q^{\cdot-}$ a QH_2 che diffonde nel doppio strato della membrana interna: questo processo sequestra $2H^+$ dalla matrice

Anche questa seconda molecola di QH_2 è ossidata completamente a Q con rilascio di $2H^+$ nel lato P

COMPLESSO III
ubichinone: citocromo *c* ossidoreduttasi

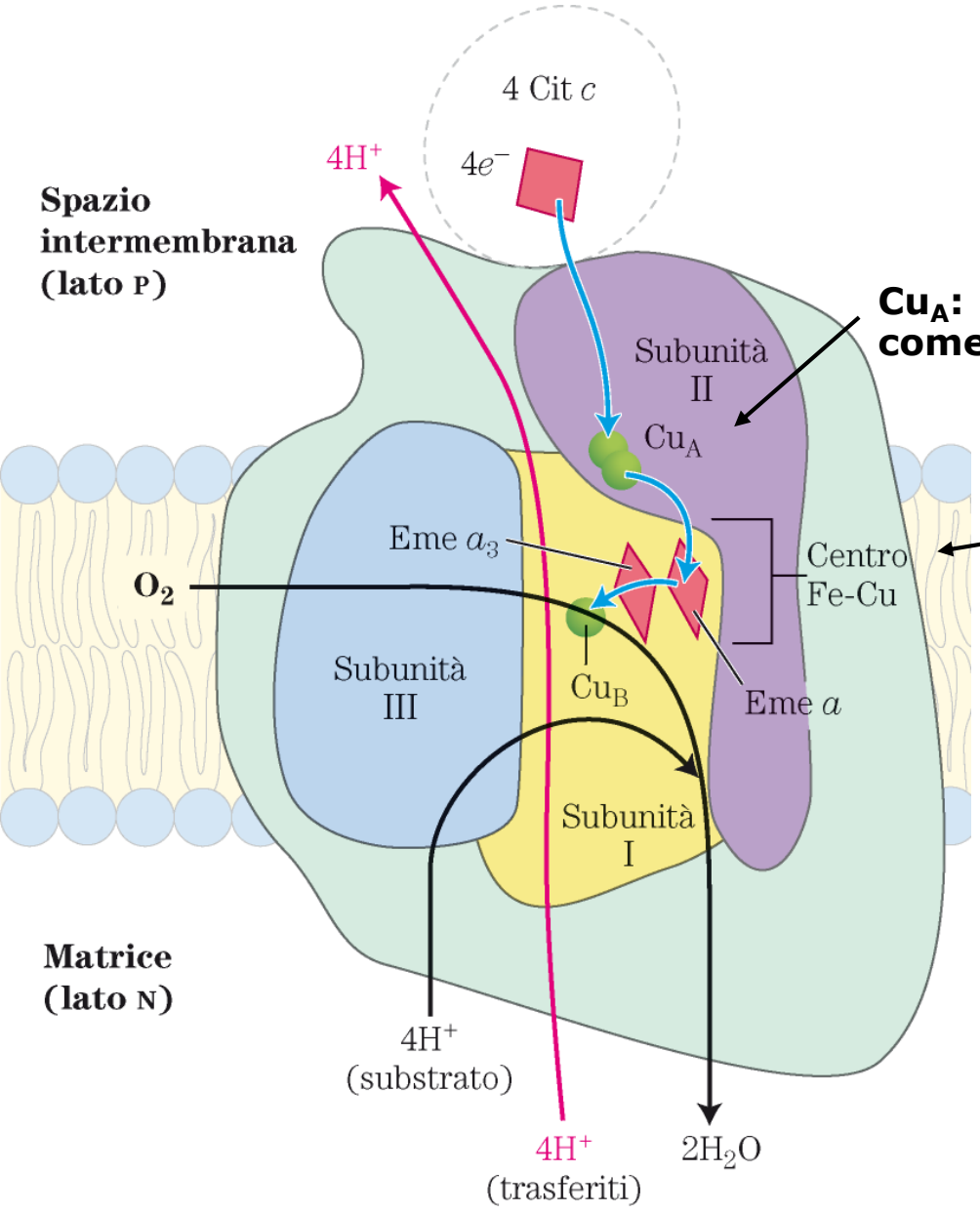


$QH_2 + Q + \text{cit } c_1 \text{ (ossidato)} \longrightarrow {}^\bullet Q^- + Q + 2H_P^+ + \text{cit } c_1 \text{ (ridotto)}$

$QH_2 + {}^\bullet Q^- + 2H_N^+ + \text{cit } c_1 \text{ (ossidato)} \longrightarrow QH_2 + 2H_P^+ + Q + \text{cit } c_1 \text{ (ridotto)}$

Equazione netta: $QH_2 + 2 \text{ cit } c_1 \text{ (ossidato)} + 2H_N^+ \longrightarrow Q + 2 \text{ cit } c_1 \text{ (ridotto)} + 4H_P^+$

COMPLESSO IV
citocromo ossidasi



Cu_A: 2 atomi di Cu organizzati come centri binucleari Cu-S

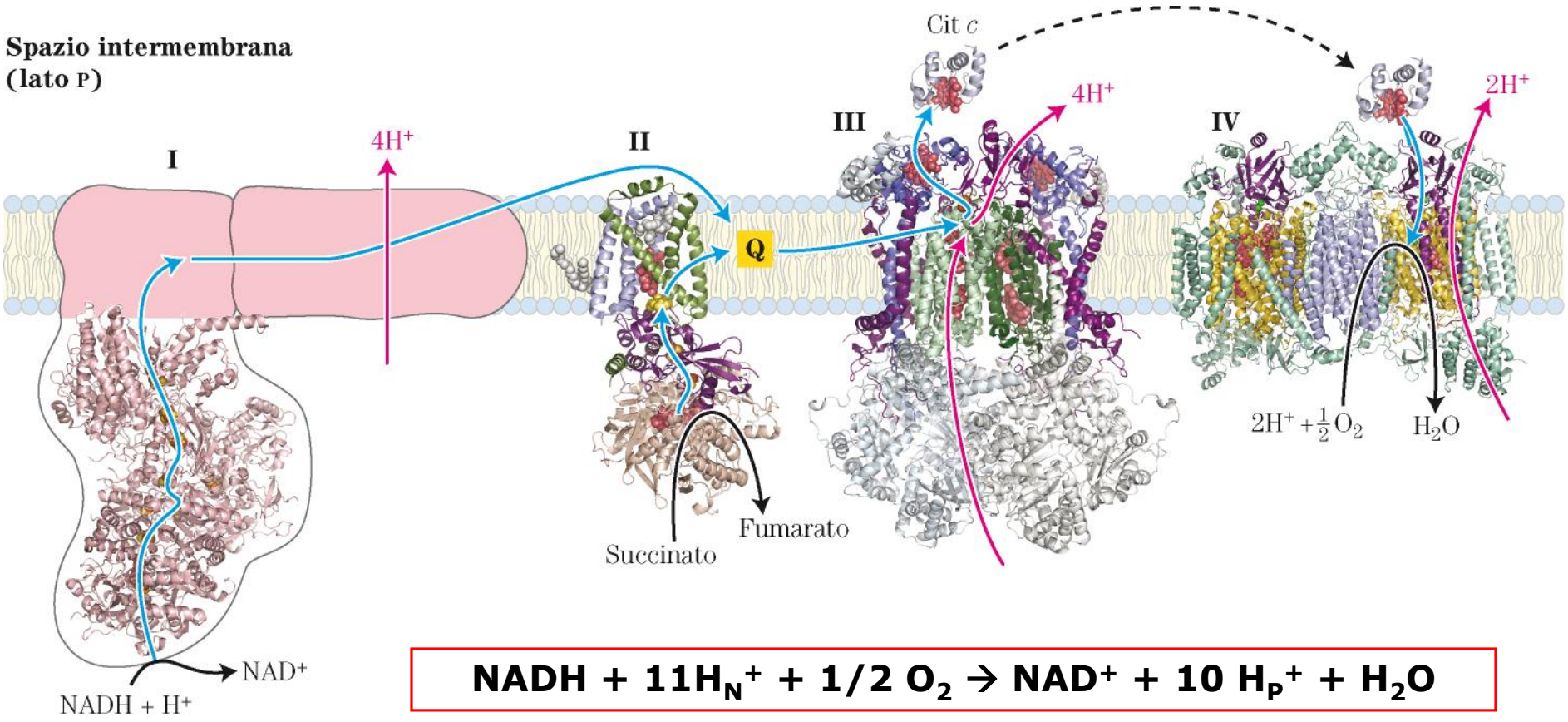
Cu_B: un atomo di Cu legato in un centro binucleare Fe-Cu

L' O_2 si lega al gruppo eme a_3 e qui riceve i 4 e^- necessari alla sua riduzione completa ad H_2O, che richiede anche l'uso di 4 H^+

Riduzione accoppiata al trasferimento di ioni H^+ nello spazio intermembrana: la riduzione completa di O_2 richiede 4 Cit c_1 e comporta il rilascio di 4 H^+

4 Cit c_1 (ridotto) + $8H_N^+$ + O_2 → 4 Cit c_1 (ossidato) + $4H_P^+$ + $2H_2O$

CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI



$NADH + 11H_N^+ + 1/2\ O_2 \rightarrow NAD^+ + 10\ H_P^+ + H_2O$

$\Delta G'° = -200$ kJ/mol*

*** Energia rilasciata per mole di coppie di e^- in condizioni standard; nelle condizioni cellulari la variazione è maggiore**

CATENA DI TRASPORTO DEGLI ELETTRONI

- **Per ogni coppia di e- trasferiti da NADH ad O_2 sono pompati nella regione intermembrana**

4 H^+ dal complesso I

4 H^+ dal complesso III

2 H^+ dal complesso IV

- **Per ogni coppia di e- trasferiti da $FADH_2$ ad O_2 sono pompati nella regione intermembrana**

4 H^+ dal complesso III

2 H^+ dal complesso IV

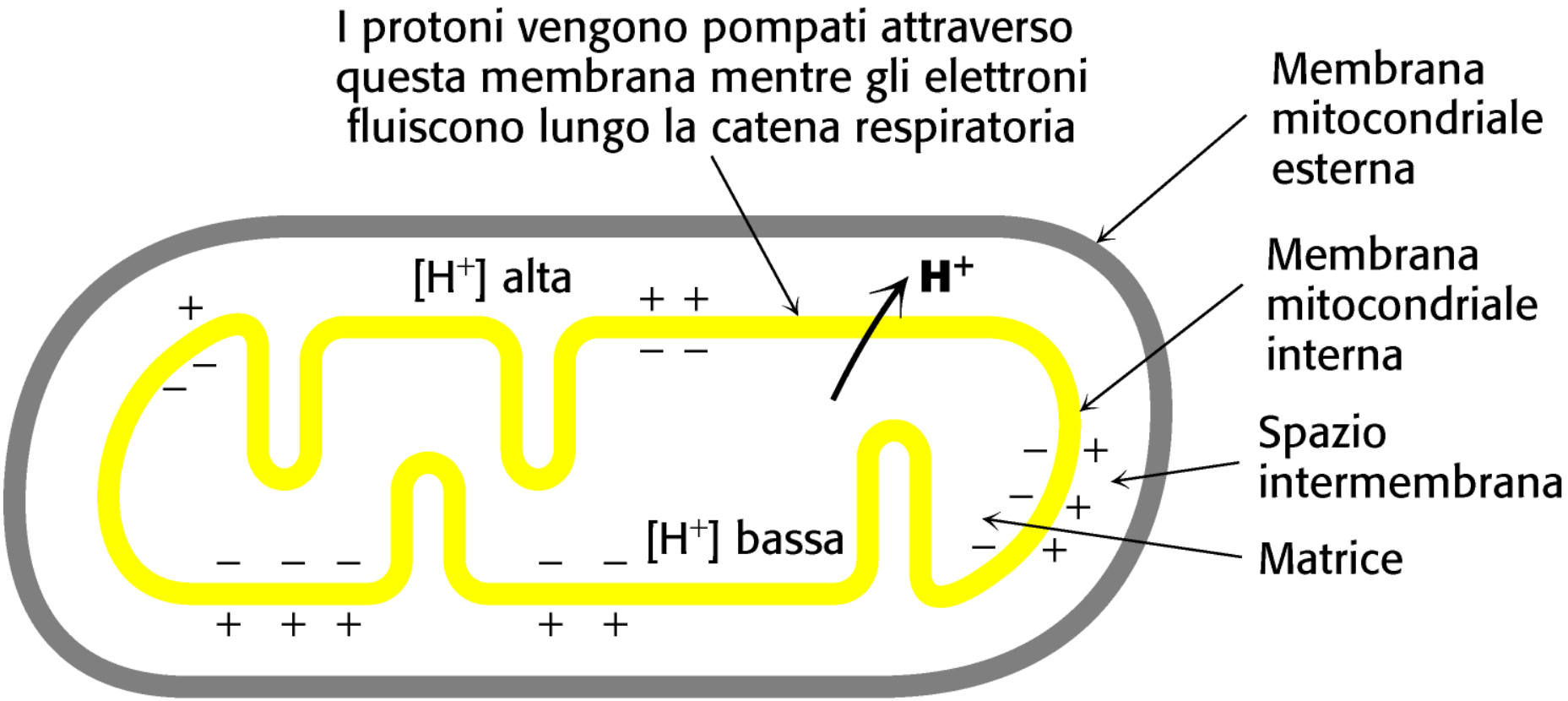
In tal modo si genera un gradiente elettrochimico detto

FORZA MOTRICE PROTONICA formato da

1. **Energia potenziale chimica (ΔpH)**
2. **Energia potenziale elettrica dovuta alla separazione delle cariche**

FORZA MOTRICE PROTONICA

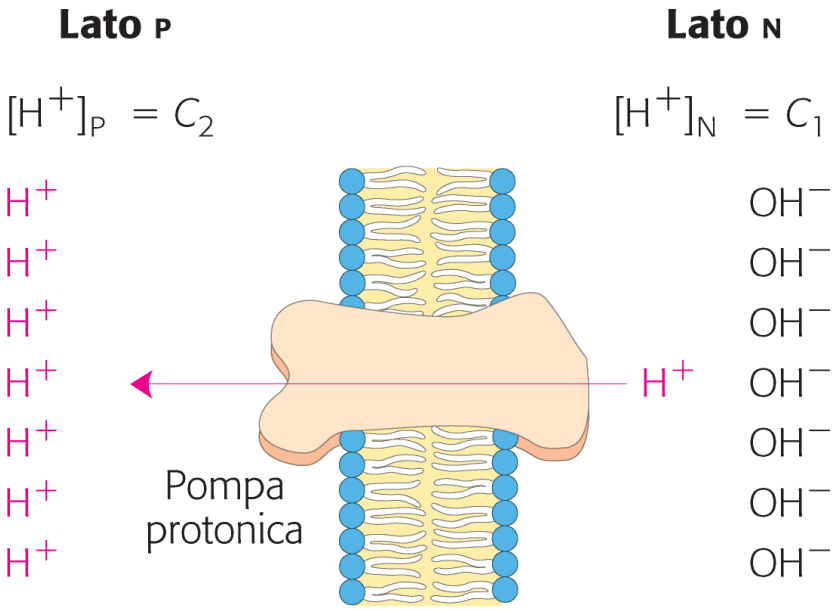
1. **Energia potenziale chimica (ΔpH)**
2. **Energia potenziale elettrica dovuta alla separazione delle cariche**



FORZA ELETTROMOTRICE PROTONICA

ENERGIA POTENZIALE CHIMICA
dovuta a ΔpH = differenza di concentrazione dei protoni tra le membrane

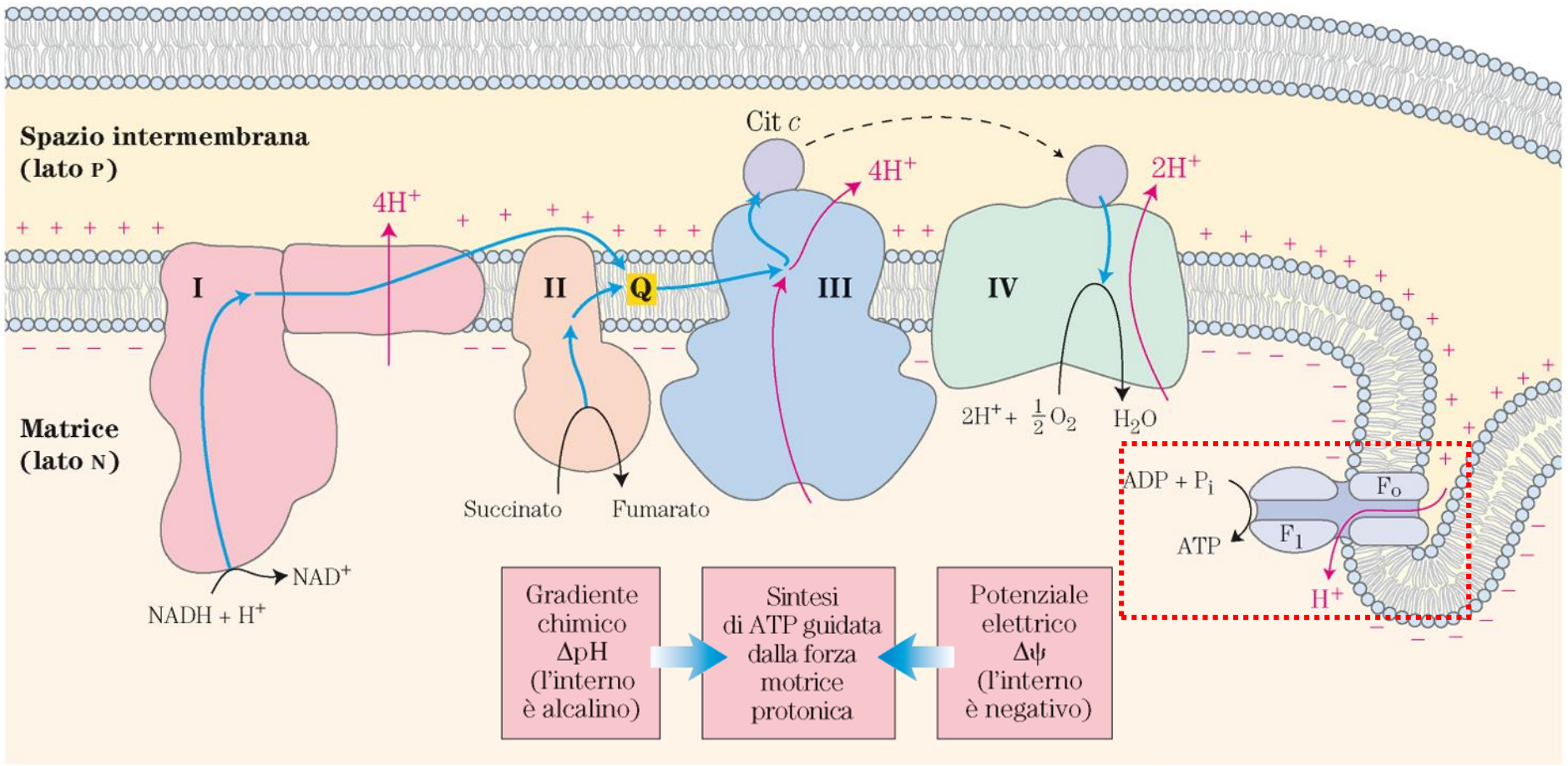
ENERGIA DEL POTENZIALE ELETTRICO
Dovuta a Δψ = differenza di potenziale elettrico transmembrana



TEORIA CHEMIOSMOTICA

L'energia liberata dal flusso degli elettroni da NADH verso O_2 è conservata nel gradiente protonico.
La trasduzione dell'energia recuperata nelle fasi cataboliche avviene mediante la creazione del gradiente protonico transmembrana che rende possibile la fosforilazione ossidativa ovvero un processo energeticamente sfavorito.

MODELLO CHEMIOSMOTICO

La forza elettromotrice protonica generata dal gradiente protonico guida la sintesi dell'ATP mediante fosforilazione ossidativa quando il flusso protonico attraverso la membrana è invertito:

$$ADP + P_i + nH_P^+ \rightarrow ATP + H_2O + nH_N^+$$