

Metabolismi dei composti dello zolfo

DOTT. ROSA ANNA NASTRO

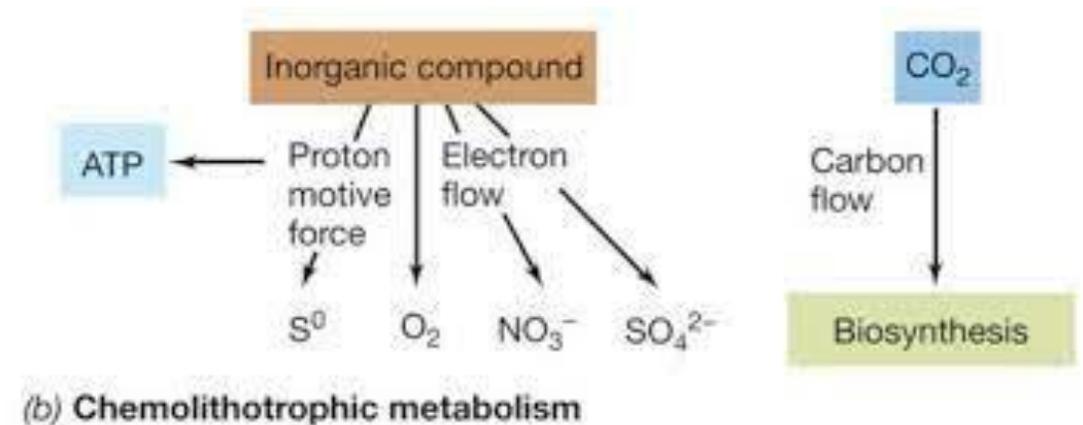
Avvertenza

I MATERIALI PRESENTI IN QUESTE DIAPOSITIVE SONO FRUTTO SIA DEL LAVORO DEL PROF. VINCENZO PASQUALE SIA DI LAVORO PERSONALE BASATO SU RICERCHE EFFETTUATE SUL WEB, SU LIBRI E SU ARTICOLI SCIENTIFICI E DIVULGATIVI. OVE POSSIBILE, SONO STATE RIPORTATE LE FONTI DA CUI SI È DESUNTO IL MATERIALE.

I chemiolitotrofi organicano la CO_2 utilizzando donatori di elettroni inorganici come H_2S , Fe^{2+} o NH_2 nel trasporto di elettroni. L'ATP viene generato mediante fosforilazione ossidativa. Il NADH si forma attraverso reazioni endoergoniche accoppiate al processo di ossidazione dei donatori di elettroni. Tali donatori, a loro volta, si sono formati in seguito alla riduzione di composti inorganici operata da organismi aerobi. In definitiva, l'energia liberata dall'ossidazione di tali composti inorganici ridotti deriva a sua volta dall'ossidazione dell'ossigeno

Il concetto di chemiolitotrofia si è affermato a partire nella seconda parte del XIX secolo quando Sergej Winogradskij pubblicò i suoi studi sui solfobatteri.

Ad oggi, si sa che la chemiolitotrofia dello zolfo è uno dei principali stili di vita metabolici di molti *Archea* e *Bacteria*



Ossidazione dei composti dello zolfo

Lo zolfo è il decimo elemento più abbondante sulla crosta della terra ed il sesto per abbondanza negli oceani.

E' uno dei principali elementi che costituiscono gli organismi viventi (circa 1% nei batteri) dove entra nella costituzione di amminoacidi (cistina e metionina), coenzimi, vitamine, ormoni ma anche di antibiotici (pennicillina).

Può presentare diversi stati di ossidazione che vanno da -2 a +6. In natura le forme più importanti sono 3: solfuro (HS^-) e sulfidrilico (R-SH) con stato di ossidazione -2, zolfo elementare con stato di ossidazione pari a 0 e solfato SO_4^{2-} con stato di ossidazione pari a +6.

Table 3.1 Inorganic sulfur compounds of biological relevance.

| Compound | Chemical Formula | Sulfur Oxidation State |
|------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| Sulfide | $\text{H}_2\text{S}, \text{HS}^-$ | -2 |
| Polysulfides | $^-\text{S-S}_n\text{-S}^-$ | -1 (terminal S)/0 (inner S) |
| Thiosulfate | $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ | -1 (sulfane S)/+5 (sulfone S) |
| Polythionates | $^-\text{OS-S}_n\text{-SO}_3^-$ | 0 (inner S)/+5 (sulfone S) |
| Elemental sulfur | S_n rings or chains | 0 |
| Sulfite | $\text{HSO}_3^-, \text{SO}_3^{2-}$ | +4 |
| Sulfate | SO_4^{2-} | +6 |

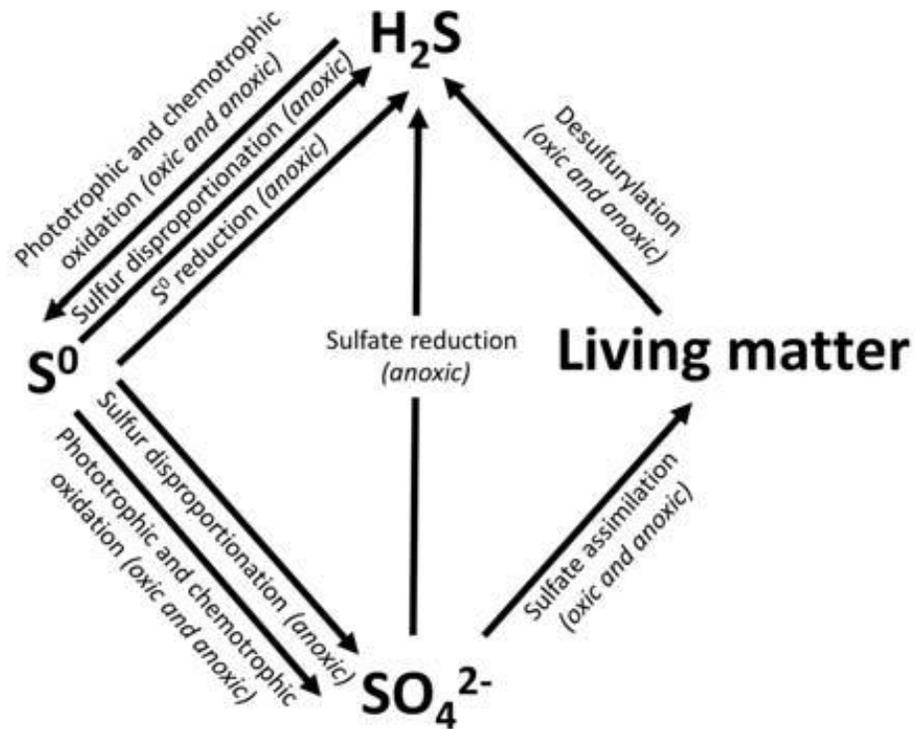
Energy metabolism**Biosynthesis and degradation**

Figure 3.1 Simple view of the biological sulfur cycle. Sulfur, an essential element for life is taken up by sulfate by prokaryotes, eukaryotic microorganisms, plants and in reduced form by animals. Decomposition of dead organic matter releases the sulfur in reduced form, as sulfide. Sulfate-reducing prokaryotes (e.g. *Desulfovibrio* spp.) use sulfate as respiratory electron acceptor and produce large amounts of sulfide which can in turn be oxidized by anaerobic phototrophic sulfur oxidizers (e.g. *Allochromatium* or *Chlorobium* spp.) or by chemolithotrophs (e.g. *Acidithiobacillus* or *Beggiatoa* spp.) under oxic or anoxic conditions. More specialized groups can reduce (e.g. *Desulfuromonas* spp.) or disproportionate (e.g. *Desulfovibrio sulfodismutans*) elemental sulfur.

*Sulfur disproportionation is also termed dismutation or "inorganic fermentation" as one sulfur compound serves as electron donor and acceptor.

Tabella 14.2 Confronto tra le energie di ossidazione di alcuni comuni composti solforati ridotti

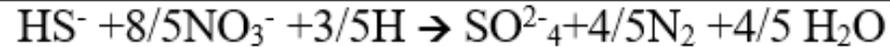
| Reazione chemiolitotrofica | Elettroni | Stechiometria ^a | Energetica (kJ/elettroni) ^a |
|----------------------------|-----------|---|---|
| Da solfuro a solfato | 8 | $\text{H}_2\text{S} + 2\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$ | $\Delta G^{0'} = -798,2 \text{ kJ/reazione } (-99,75 \text{ kJ/e}^-)$ |
| Da solfito a solfato | 2 | $\text{SO}_3^{2-} + \frac{1}{2}\text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-}$ | $\Delta G^{0'} = -258 \text{ kJ/reazione } (-129 \text{ kJ/e}^-)$ |
| Da tiosolfato a solfato | 8 | $\text{S}_2\text{SO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} + 2\text{O}_2 \rightarrow 2\text{SO}_4^{2-} + 2\text{H}^+$ | $\Delta G^{0'} = -818,3 \text{ kJ/reazione } (-102 \text{ kJ/e}^-)$ |

^aTutte le reazioni sono bilanciate, dal punto di vista sia atomico sia della valenza. Per ulteriori dettagli e calcoli si vedano la Tabella 3.3 e il Paragrafo 3.3. Per le reazioni e l'energetica dell'ossidazione dei solfuri a zolfo e da zolfo a solfato, si veda la Tabella 14.1.

Ossidazioni HS⁻

I batteri possono ossidare non solo HS⁻, ma anche S⁰ ed S₂O₃²⁻ per generare energia

HS⁻/NO₃⁻



Thiobacillus denitrificans
 $\Delta G_o' = -177.9 \text{ Kcal.}$

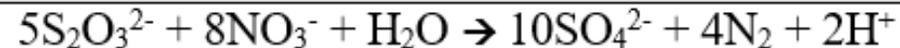
HS⁻/O₂



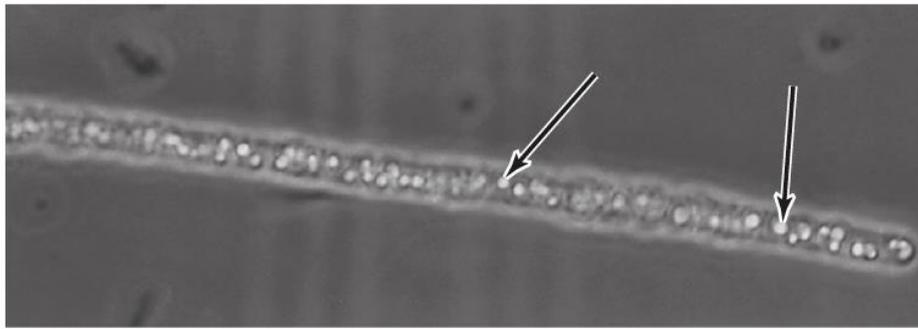
Thiobacillus, Beggiatoa, Thioploca,
Achromatium, Thiovolum
 $\Delta G_o' = -190.4 \text{ Kcal}$

La biochimica di quest'ossidazione è complessa e coinvolge un composto inusuale l'adenosina 5-fosfosulfonato (APS). E' l'unica reazione litotrofica ad avere fosforilazione a livello di substrato.

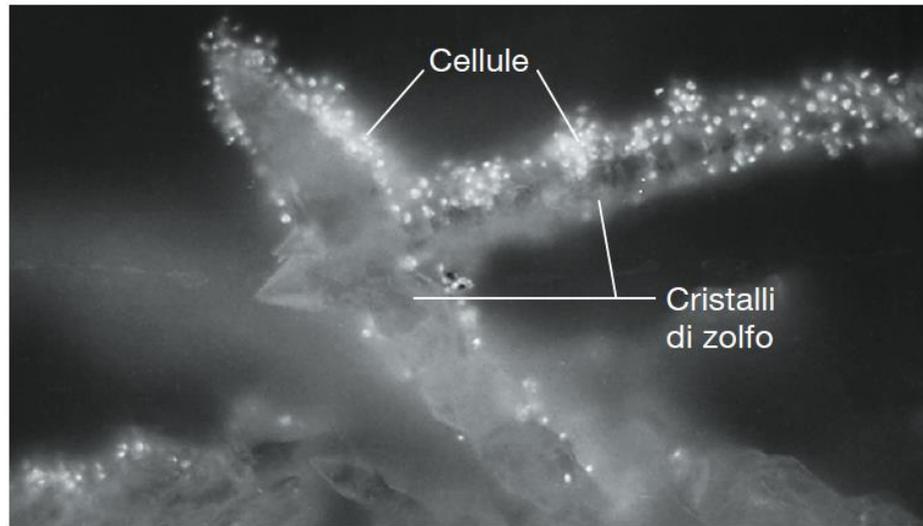
S₂O₃²⁻/NO₃⁻



Thiobacillus denitrificans
 $\Delta G_o' = -193 \text{ kcal/mole}$



(a)



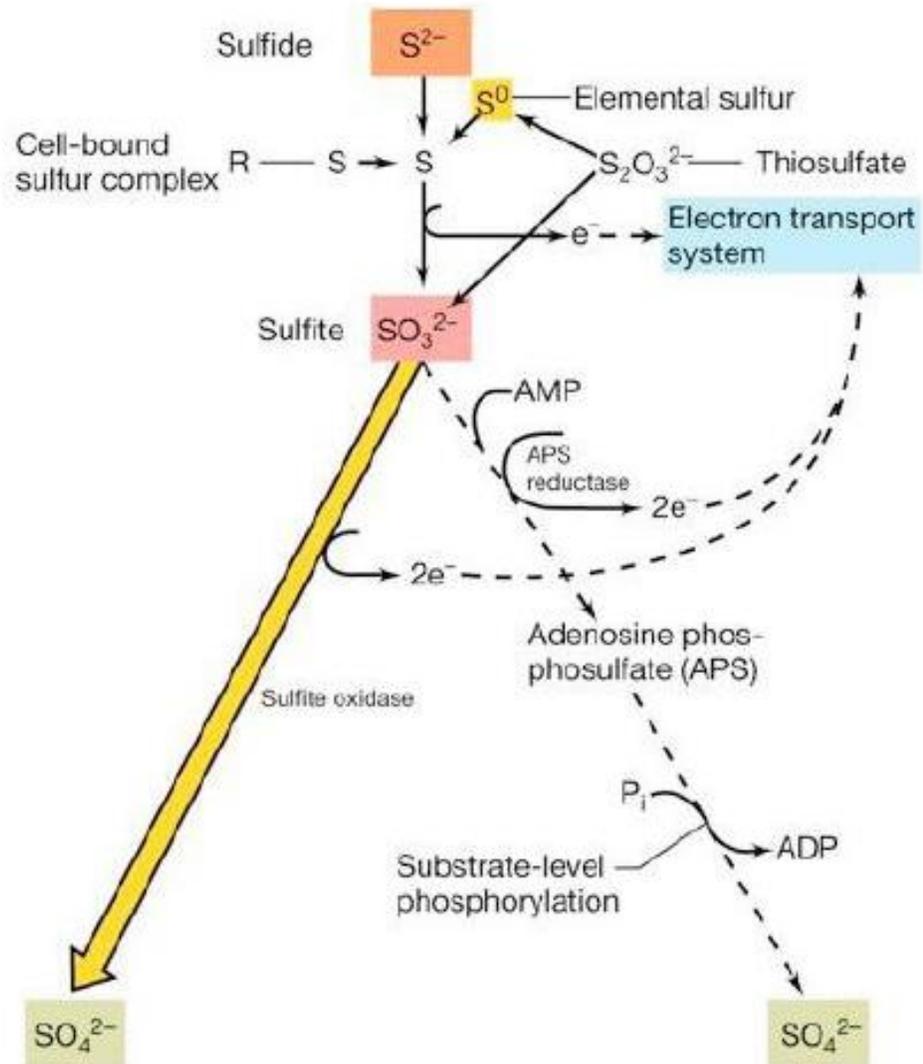
(b)

Figura 14.19 Solfobatteri. (a) Granuli di zolfo intracellulari in *Beggiatoa* (freccie). (b) Adesione di cellule dell'archeobatterio zolfo-ossidante *Sulfolobus acidocaldarius* a un cristallo di zolfo elementale. Le cellule sono state visualizzate mediante microscopia a fluorescenza dopo colorazione con il colorante arancio di acridina. Il cristallo di zolfo non è fluorescente.

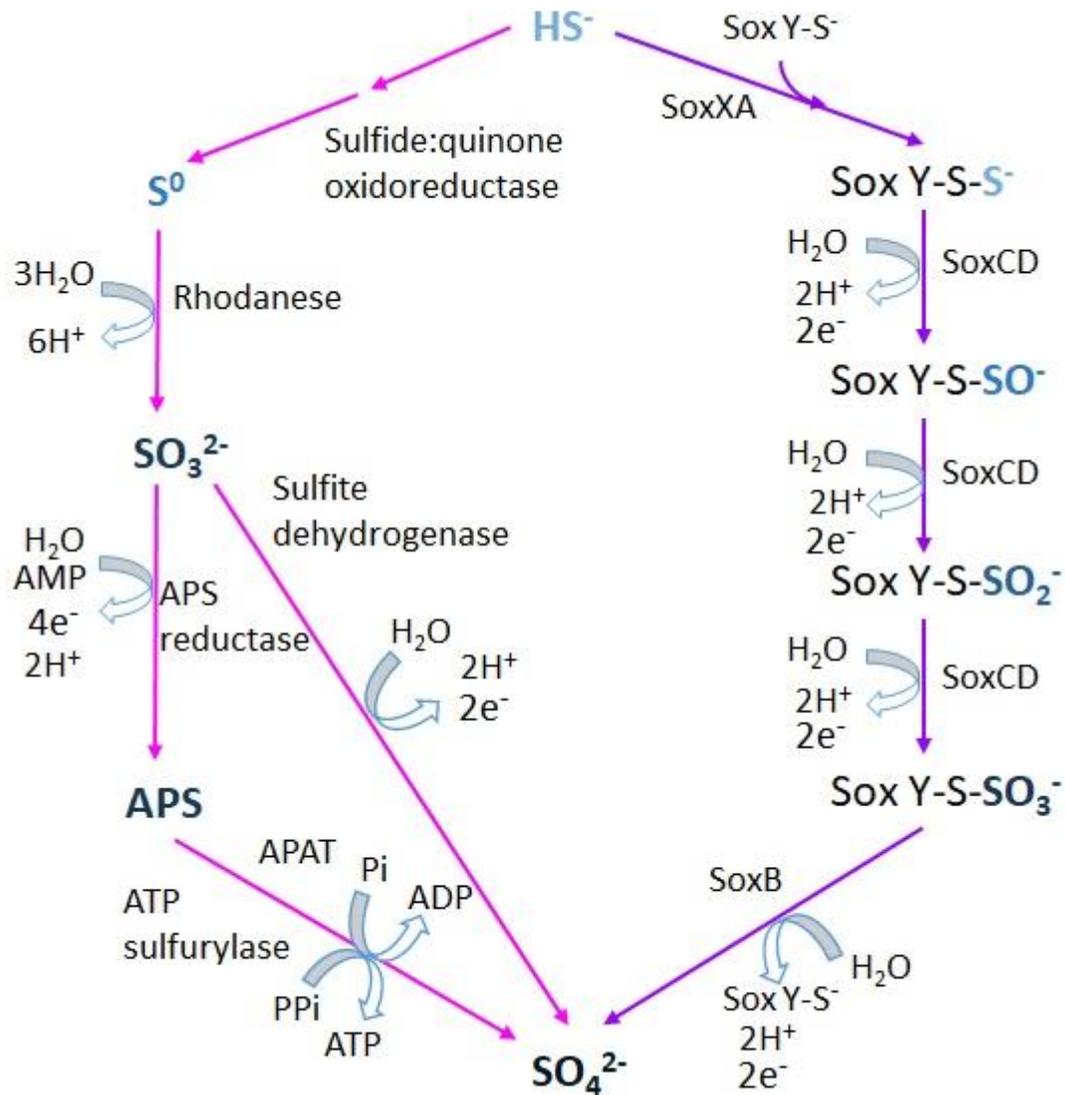
Uno dei prodotti dell'ossidazione dei composti ridotti dello zolfo sono i protoni (H^+) con conseguente acidificazione dell'ambiente.



Molti batteri sulfurei sono anche acidofili o acido tolleranti (*Acidithiobacillus thiooxidans* cresce a pH compreso 2 e 3)



L'ossidazione dei composti ridotti dello zolfo comporta una fase che avviene nel citoplasma

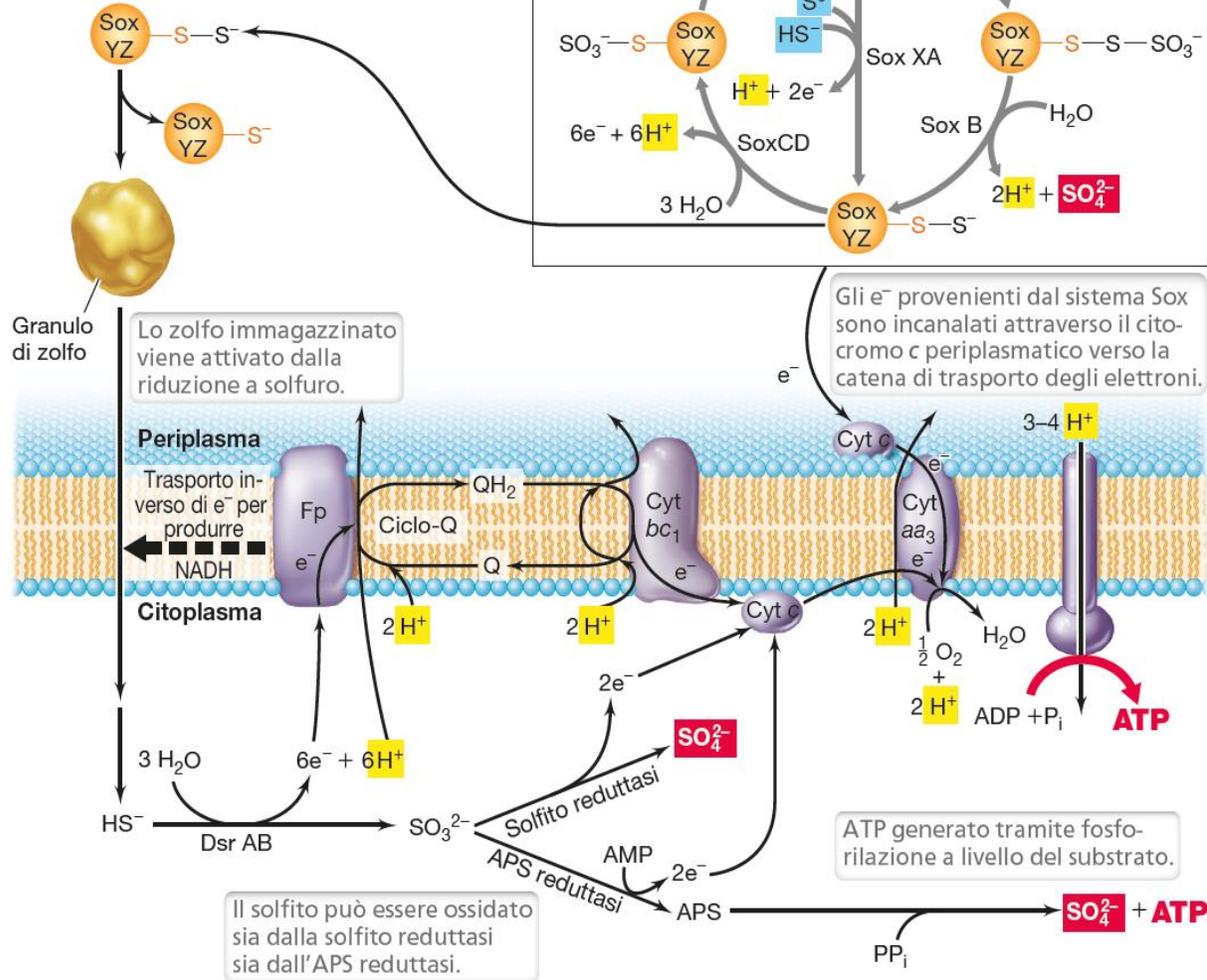


Il sistema Sox (ossidazione del solfuro) è codificato da più di 15 geni per citocromi e proteine coinvolti nell'ossidazione del solfuro a solfati. Elementi del sistema Sox sono presenti in solfochemiolitotrofi ed in alcuni batteri fotosintetici sulfurei (trasferimento genico orizzontale) che ossidano il solfuro per ridurre la CO_2 ed assimilarla.

Il percorso inizia con l'enzima SOxXA forma un legame disolfuro tra il composto da ossidare (HS^- , S^0 o S_2O_3^-) e la proteina di trasporto SoxYZ. Il composto subisce l'ossidazione con rilascio di un elettrone che viene destinato alla catena di trasporto con formazione di SO_3^{2-} (solfito) che viene ulteriormente ossidato da una solfito ossidasi a solfato. L'enzima SoxCD (solfuro deidrogenasi) è l'enzima chiave che media il trasferimento di 6e^- dal composto ridotto dello zolfo legato al trasportatore SoxYZ. Gli elettroni provenienti dal sistema Sox entrano nella catena di trasporto di membrana per la sintesi di ATP mentre gli H^+ vengono espulsi dal periplasma all'ambiente circostante.

Sistemi Sox/Dsr

In assenza di Sox CD, alcuni organismi generano granuli di zolfo nel periplasma che in ultimo vengono ossidati dalle reazioni che avvengono nel citoplasma.



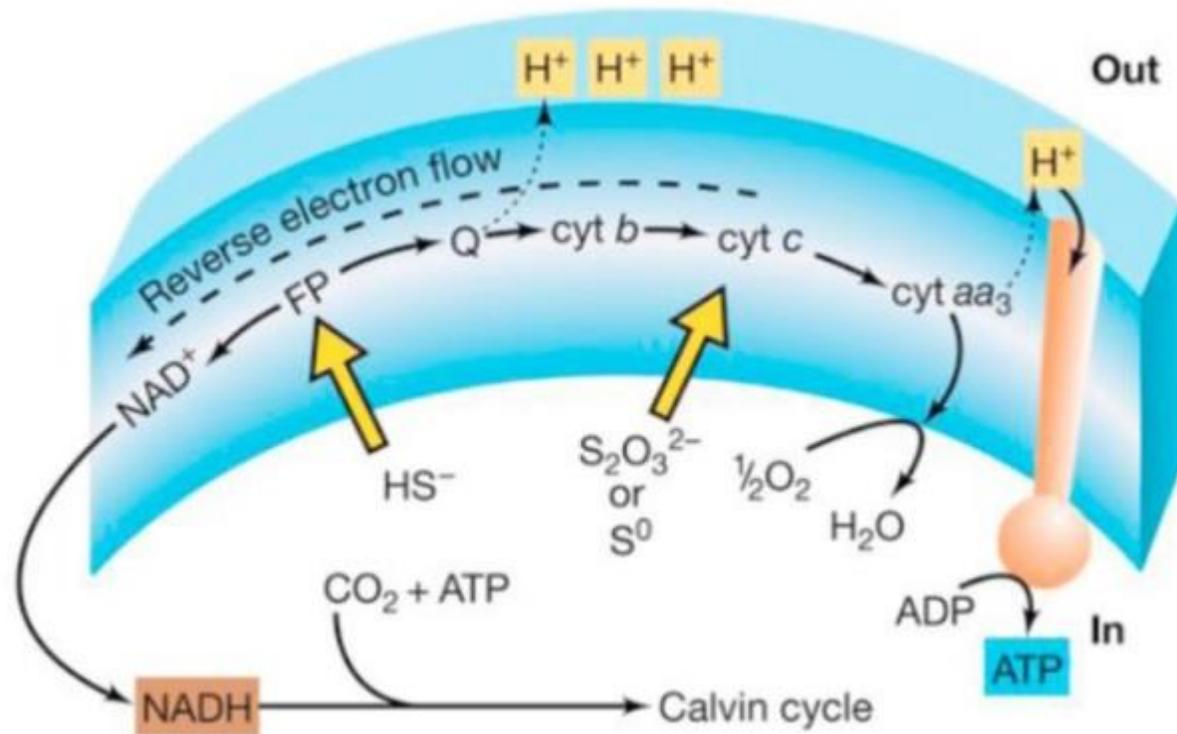
Quattro enzimi fondamentali: SoxA (solfuro ossidasi) SoxXY (proteina trasportatrice), SoxB (solfito ossidasi), SoxCD (solfuro deidrogenasi) presenti nel periplasma

Gli elettroni sono incanalati nella catena di trasporto elettronica mentre i protoni vengono espulsi nell'ambiente circostante

L'ATP è prodotto nel citoplasma per fosforilazione a livello di substrato

In assenza di SoxCD (SOLFURO DEIDROGENASI), lo zolfo viene accumulato nel periplasma in granuli

Figura 14.20 Ossidazione di composti ridotti dello zolfo nei chemiolitotrofi sulfurei. Esistono diverse vie metaboliche per la conservazione dell'energia tramite l'ossidazione del solfuro (H_2S), del tiosolfato ($S_2O_3^-$) e dello zolfo elementale (S^0). Nel sistema Sox (ossidazione dello zolfo), SoxXA lega un composto ridotto dello zolfo alla proteina di trasporto SoxYZ. La proteina SoxCD, solfuro deidrogenasi, catalizza la rimozione di $6e^-$ dall'atomo di zolfo legato e rappresenta un enzima chiave per i batteri che utilizzano il sistema Sox completo per l'ossidazione dello zolfo (come *Paracoccus pantotrophus*). Il solfato (SO_4^{2-}) viene rilasciato dall'azione di SoxB. Al contrario, i batteri che formano granuli di zolfo, come *Beggiatoa* (Figura 14.19a), mancano di SoxCD e ossidano i composti dello zolfo attraverso gli enzimi DsrAB, solfito reductasi dissimilativa e APS reductasi (si veda il Paragrafo 14.12). Nell'ossidazione dello zolfo, questi enzimi funzionano in senso inverso per ossidare i composti dello zolfo. In alcuni zolfo-ossidanti, l'APS reductasi è sostituita dalla solfito reductasi. Le reazioni del ciclo Sox avvengono nel periplasma e gli elettroni entrano nella catena di trasporto degli elettroni grazie all'attività di un citocromo periplasmatico di tipo c (Cyt c), mentre le reazioni dei sistemi Sox/Dsr avvengono nel citoplasma e gli elettroni possono entrare nella catena di trasporto degli elettroni a livello delle flavoproteine (Fp) o dei citocromi di tipo c.



Flusso degli elettroni nelle reazioni di ossidazione batterica chemolitotrofa dei composti ridotti dello zolfo

Gli elettroni per l'organizzazione della CO₂ provengono dalla catena di trasporto inverso degli elettroni che alla fine produce NADH. E' presente il ciclo di Calvin o altre vie autotrofiche

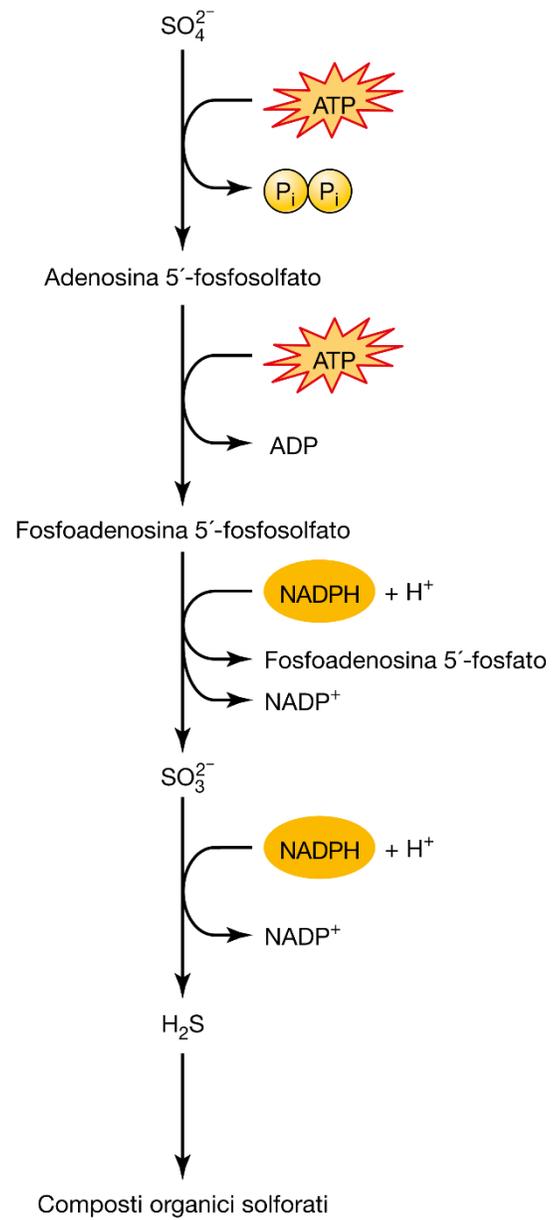


Figura 13.45. Assimilazione dello zolfo.

Batteri Solfo-ossidanti

Tre Phyla di Bacteria:

- *Proteobacteria*
- *Aquificae*
- *Deinococcus-Thermus*

Un Phylum di Archea:

- *Crenarcheota*

La maggior parte dei batteri solfo-ossidanti appartiene ai Beta- (*Thiobacillus*), Gamma- (*Achromatium e Beggiatoa*) ed Epsilon –proteobacteria (*Thiovulum e Sulfurimonas*)

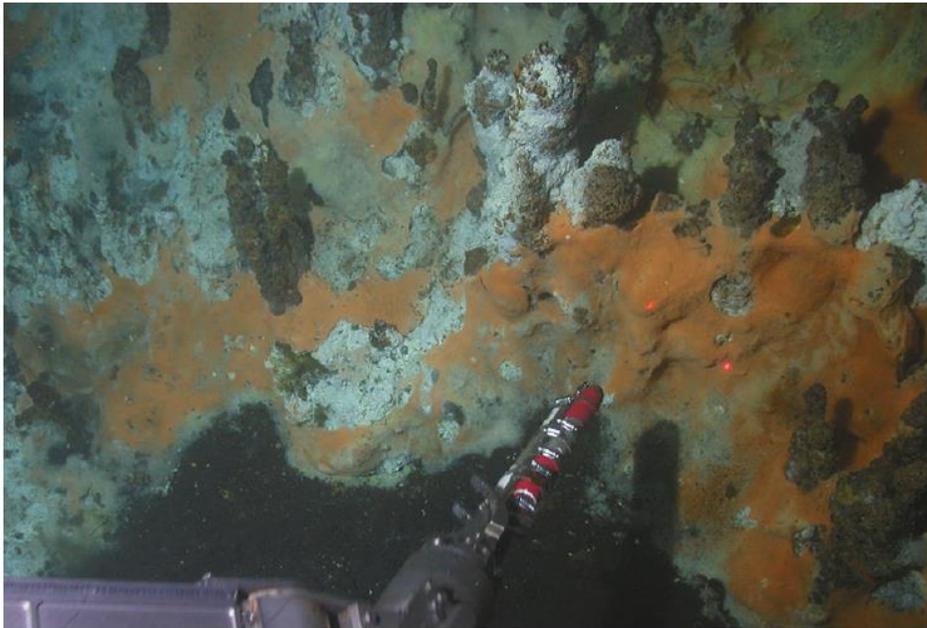
Grandi differenze in termini:

- Dimensioni: <1 μm (*Sulfurimonas denitrificans*) fino a 2 cm (*Thiomargarita magnifica*)
- Accettore di elettroni: O_2 e NO_3 in denitrificanti
- Gradi di ossidazione dello zolfo: formazione di granuli di S° da ossidare in un secondo step metabolico
- Alcuni sono chemiolitotrofi obbligati \rightarrow presenza di carbossisomi contenenti alte concentrazioni di RuBisCO ed anidrasi carbonica
- Alcuni sono chemiolitotrofi facoltativi (utilizzano composti organici come fonte di carbonio) altri sono mixotrofi (autotrofi facoltativi)



Michael F. McGlannan, Florida International University

(a)



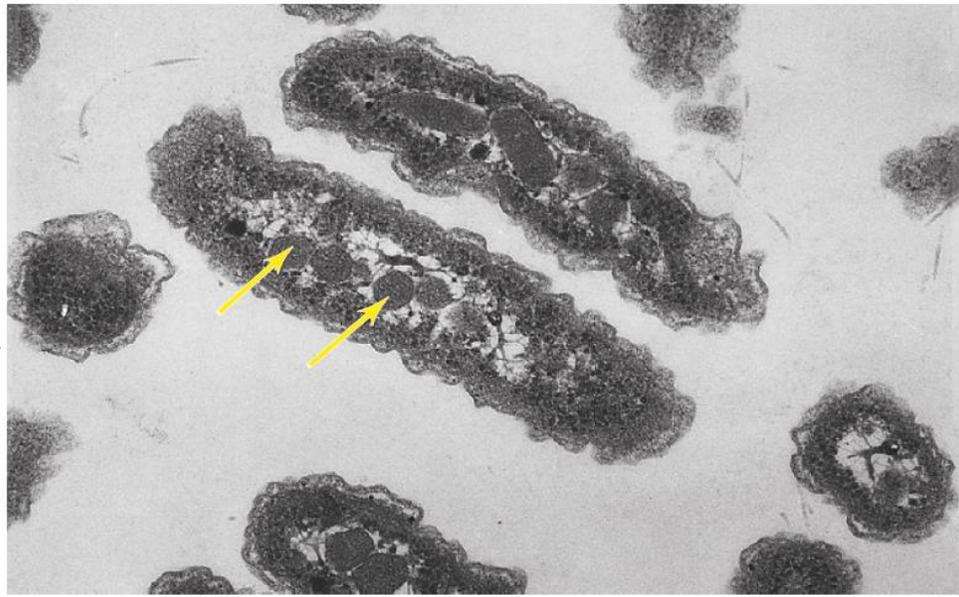
Andreas Teske

(b)

Figura 15.29 Habitat tipici dei batteri solfo-ossidanti.

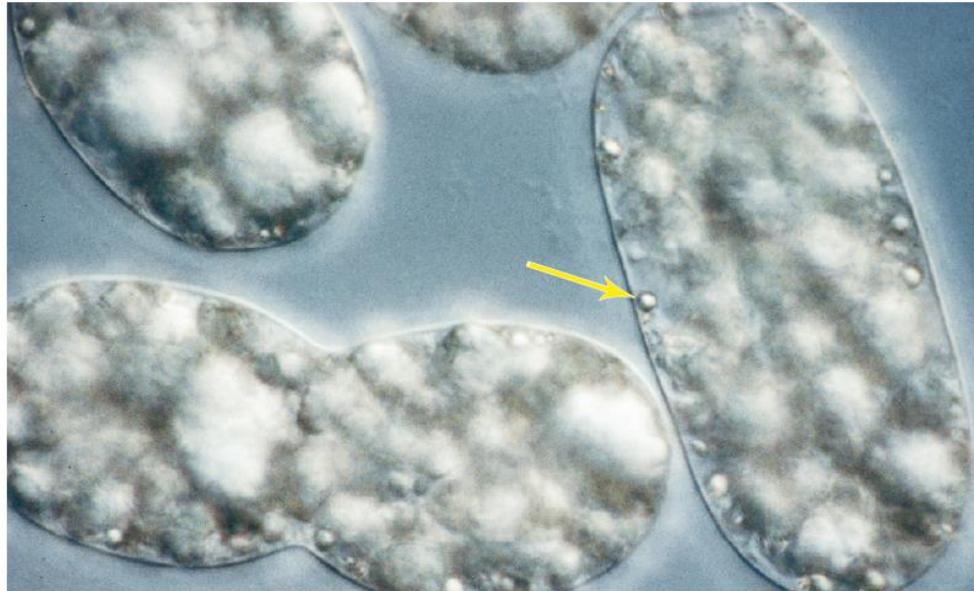
(a) Sorgente solfidrica artesianiana in Florida (USA) contenente solfuri. La rima esterna della sorgiva presenta un denso rivestimento costituito da un tappeto microbico di *Thiothrix* (Figura 15.31 b), che si estende all'intorno per un diametro di circa 1,5 m.

(b) Camini idrotermali a Cathedral Hill, a 2000 m di profondità al fondo del bacino di Guaymas (Messico). Le acque ricche di solfuri fuoriescono dai camini, ricoperti da tappeti microbici di cellule di *Beggiatoa* di colore arancio, bianco e giallo.



Jessup M. Shively

(a)



Hans-Dietrich Babenzien

(b)

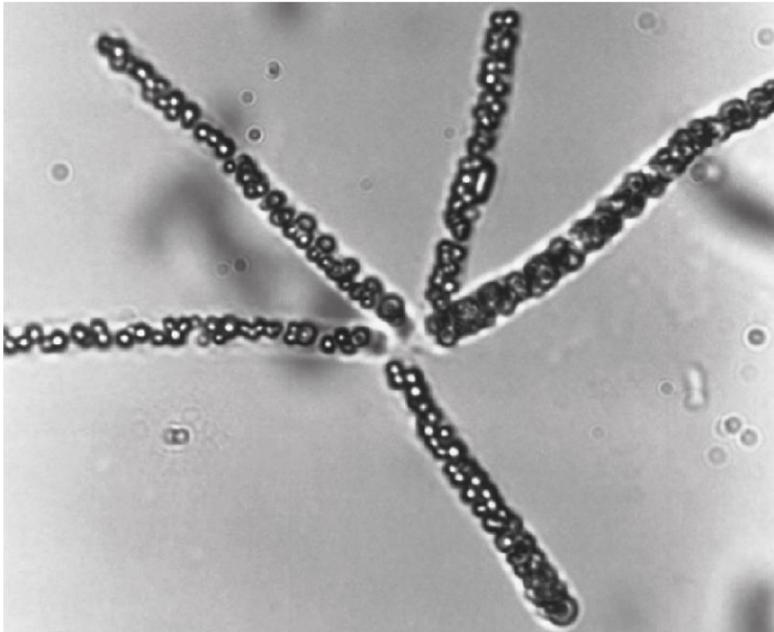
Figura 15.30 Chemiolitotrofi sulfurei non filamentosi.

(a) Micrografia elettronica a trasmissione di cellule dello zolfo-ossidante chemiolitotrofo *Halothiobacillus neapolitanus*. La singola cellula ha un diametro di circa $0,5 \mu\text{m}$. Si notino i corpi poliedrici (carbossisomi) distribuiti all'interno della cellula (indicati dalle frecce) (◀ Figura 14.3). (b) *Achromatium*. Cellule fotografate mediante microscopia a contrasto per interferenza differenziale. Le piccole strutture globulari vicino alla periferia delle cellule (come quella indicata dalla freccia) corrispondono a zolfo elementale, mentre i grossi granuli sono formazioni di carbonato di calcio. Una singola cellula di *Achromatium* ha un diametro di circa $25 \mu\text{m}$.



Verena Salman

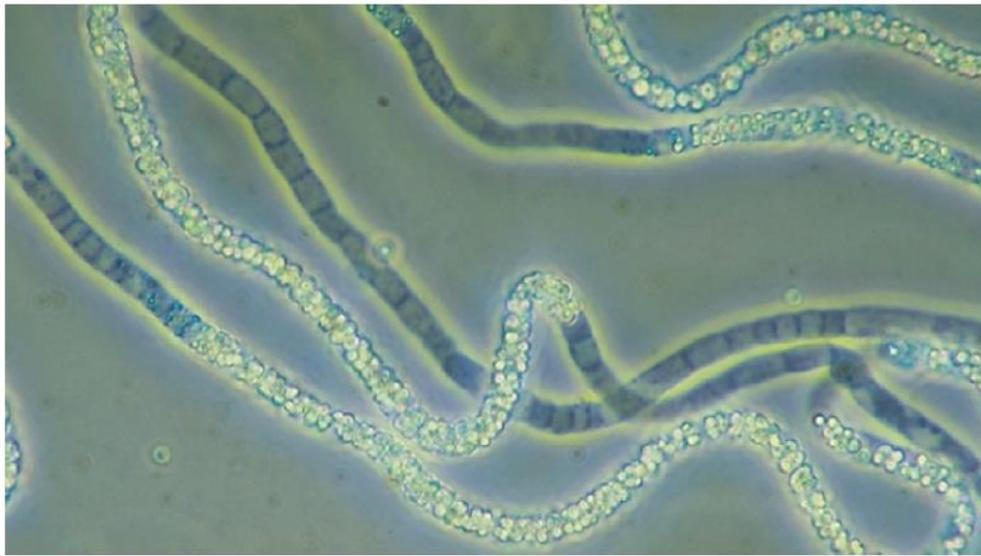
(a)



Michael F. McClannan, Florida International University

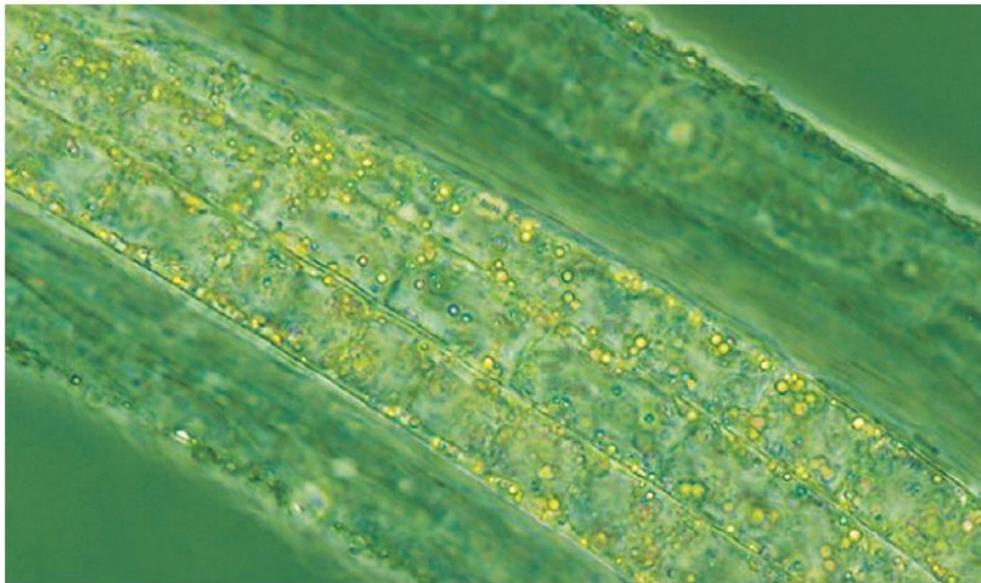
(b)

Figura 15.31 *Thiothrix*. (a) Filamenti di *Thiothrix* adesi a materiale vegetale nelle acque di drenaggio in uscita da una spelonca sulfidrica a Frasassi (Italia). Se misuriamo i filamenti partendo dal punto di inserzione sulla nervatura del detrito vegetale, quello più lungo risulta di circa 4 μm . (b) Microfotografia a contrasto di fase di una rosetta di cellule di *Thiothrix* isolata dalla sorgente artesiana mostrata nella Figura 15.29a. Si notino i globuli di zolfo interni prodotti in seguito all'ossidazione del solfuro. Ogni filamento è lungo circa 4 μm .



Michael Richard

(a)

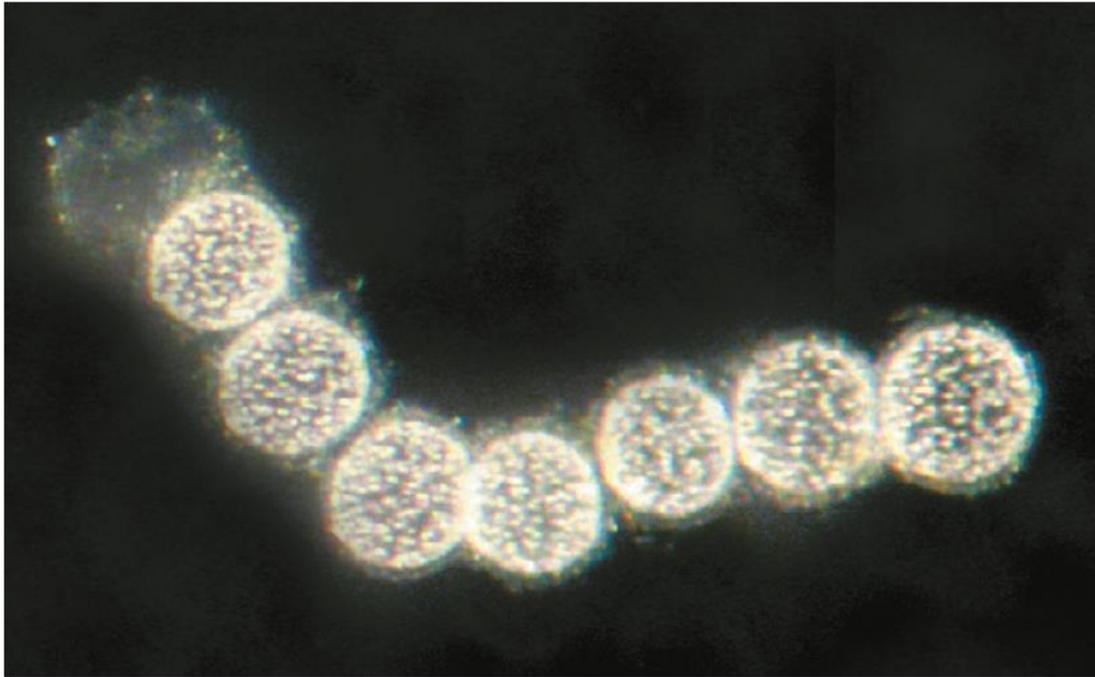


M. Hüttel

(b)

Figura 15.32 Batteri solfo-ossidanti filamentosi.

(a) Microfotografia a contrasto di fase di specie di *Beggiatoa* isolate da un impianto per il trattamento delle acque reflue fognarie. Si noti, in alcune cellule, l'abbondante quantità di granuli di zolfo elementale. (b) Grosse cellule appartenenti a una specie marina di *Thioploca*. Le cellule contengono granuli di zolfo (in giallo) e hanno una larghezza di circa 40-50 μm .

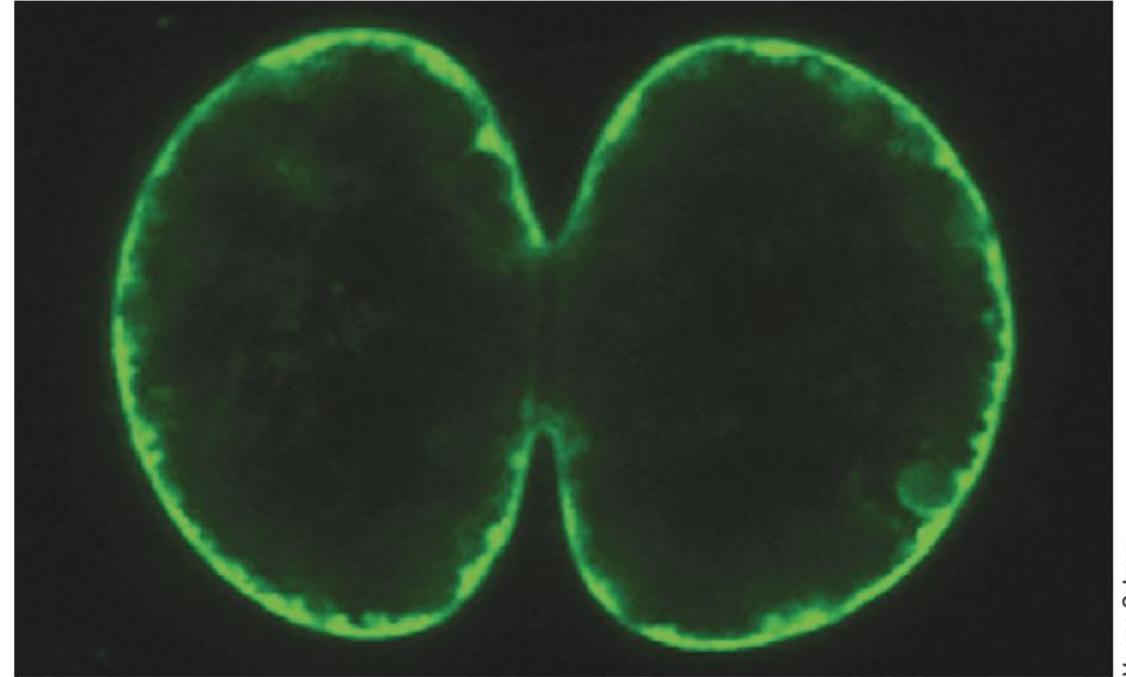


Verena Salzman

(a)

Figura 15.33 Il batterio gigante solfuro-ossidante *Thiomargarita*.

(a) *Thiomargarita namibiensis* isolata da una corrente marina ascendente a largo della costa della Namibia (Africa sud-occidentale). Le cellule qui rappresentate raggiungono un diametro di circa 100 μm . (b) Cellule in divisione del suddetto solfuro-ossidante contenenti vacuoli, prelevate nello stesso sito di campionamento. La fotografia in fluorescenza mostra i ribosomi



Verena Salzman

(b)

di *Thiomargarita* evidenziati con un colorante fluorescente specifico per gli acidi nucleici. I ribosomi sono presenti nel citoplasma, corrispondente allo strato sottile lungo la rima periferica delle cellule. Il citoplasma si trova schiacciato tra la parete cellulare e il grande vacuolo centrale, caratteristico delle cellule di *Thiomargarita*, vacuolo che nell'immagine appare di colore scuro. Le cellule sono larghe circa 50 μm .