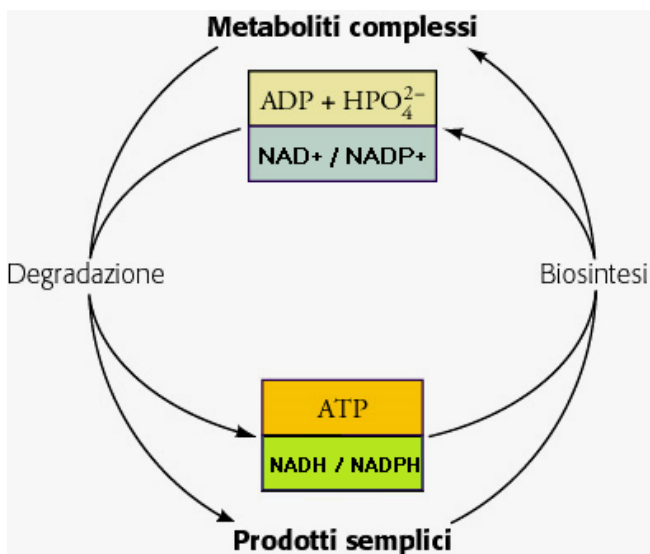
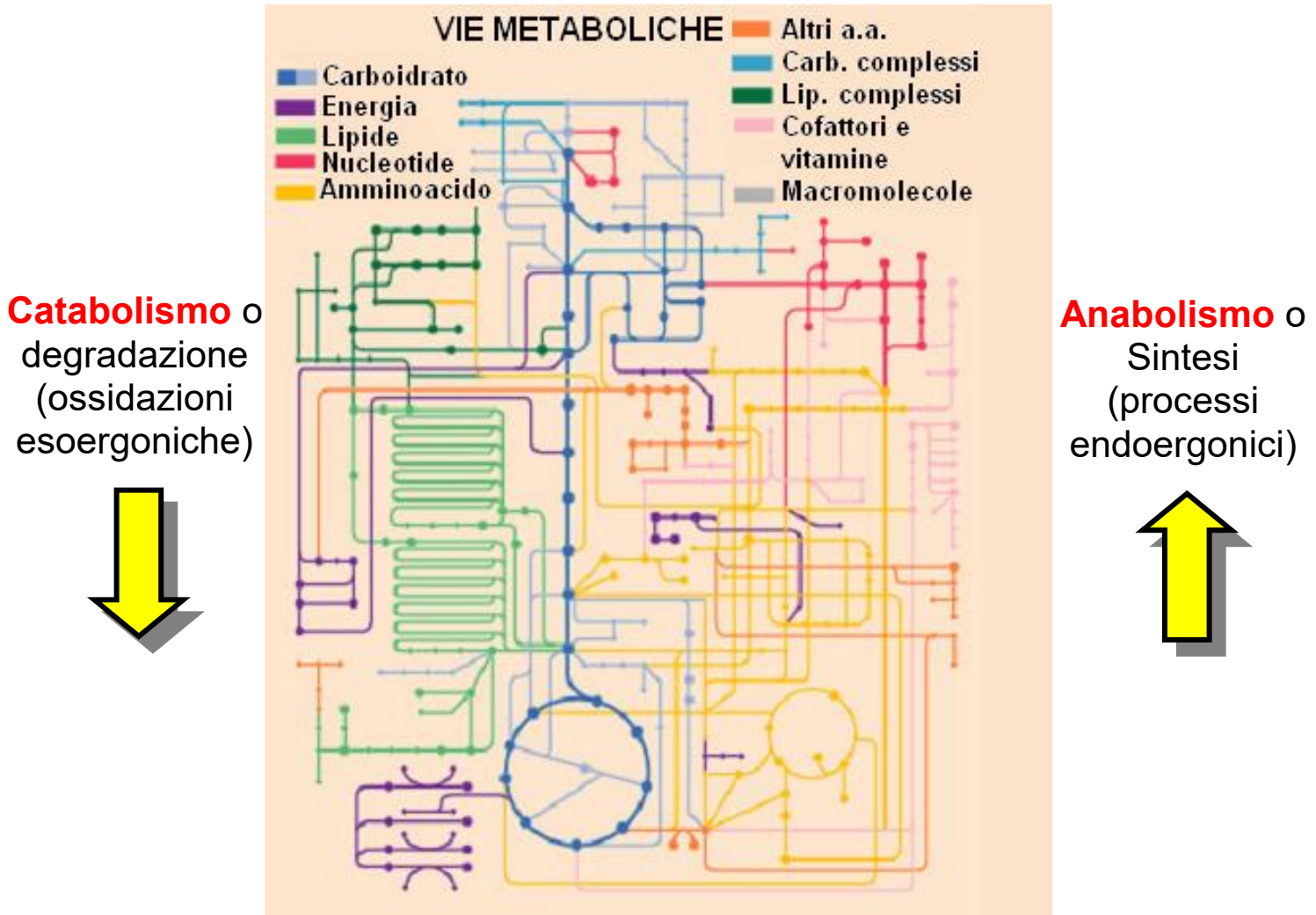


# Trasferimenti di Energia nella Cellula

I processi mediante i quali le molecole biologiche vengono scisse e risintetizzate costituiscono una **rete di reazioni enzimatiche**, complessa e finemente regolata, detta **metabolismo** dell'organismo. Questa rete consente di rendere disponibile ed utilizzare **energia libera**.

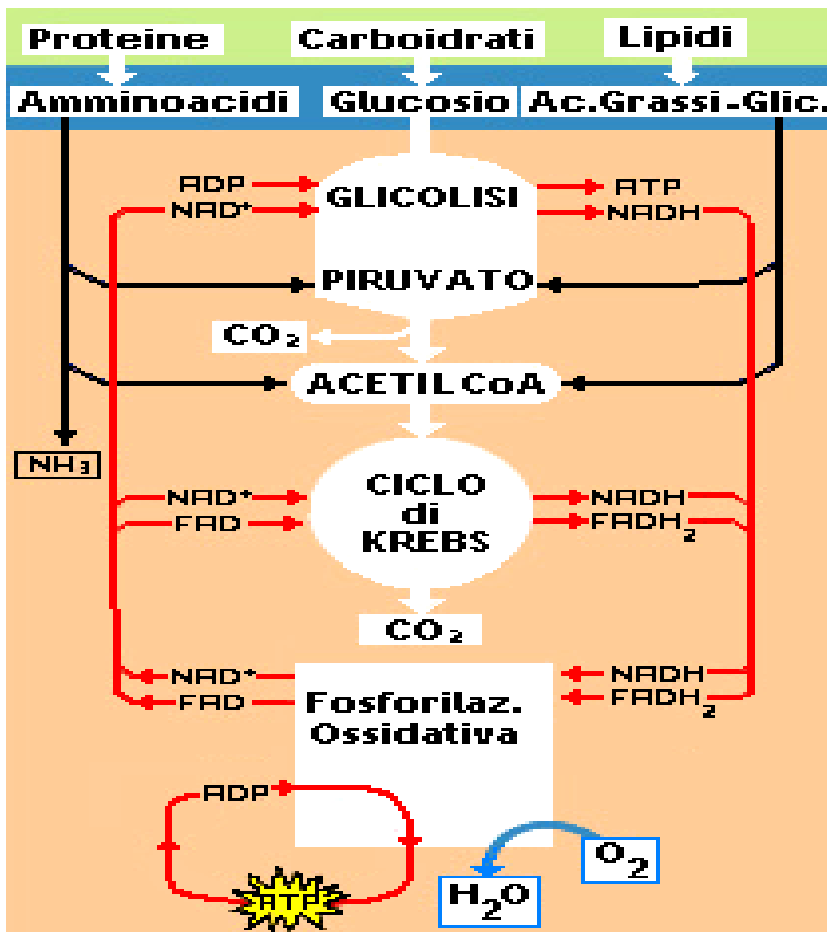
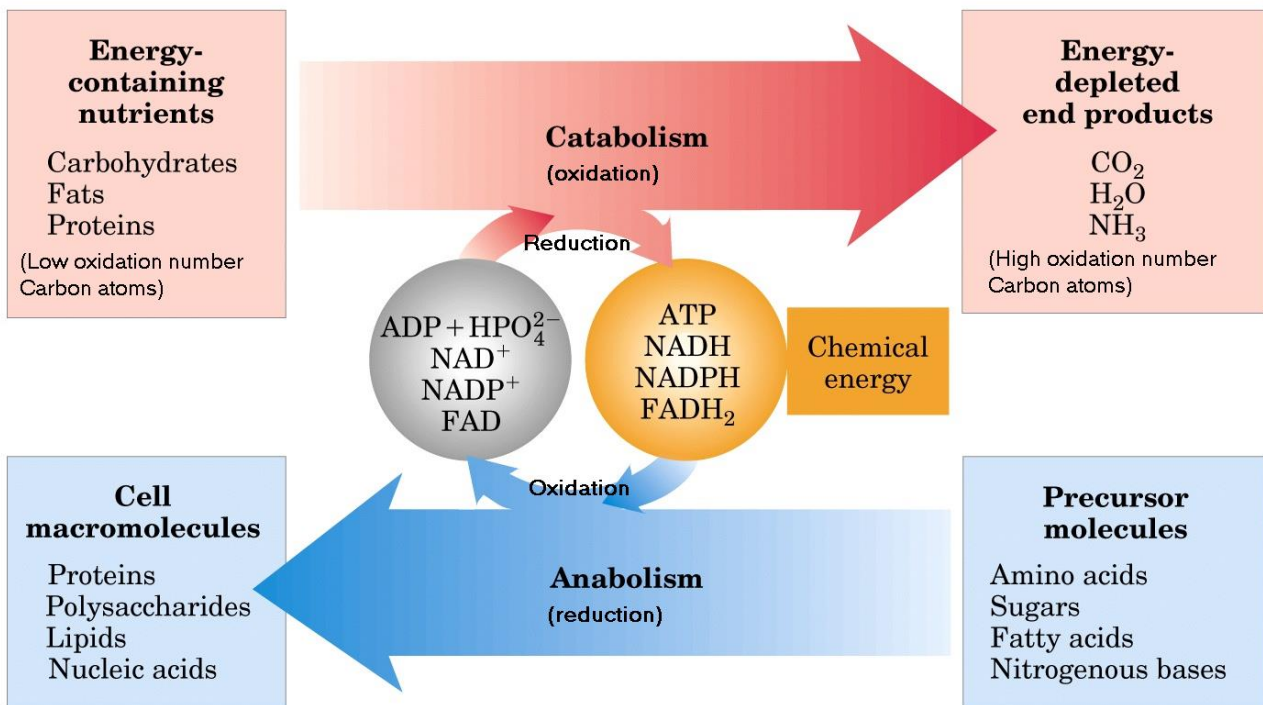


Processi esoergonici ed endoergonici sono accoppiati mediante la sintesi intermedia di composti "ad alta energia" come l'ATP o di coenzimi come l'NADPH, NADH e  $\text{FADH}_2$

Con l'alimentazione introduciamo nell'organismo delle molecole in cui gli atomi di Carbonio si trovano in uno stato di ossidazione relativamente basso (il carbonio ha legato atomi di idrogeno), il che corrisponde ad uno stato energetico relativamente elevato.

Nei vari stadi delle reazioni cataboliche il carbonio perde elettroni sino ad arrivare a  $\text{CO}_2$  (il composto in cui C ha il grado di ossidazione più elevato, +4) rilasciando energia. Questi elettroni e questa energia sono immagazzinati in quei coenzimi e composti ad alta energia citati sopra.

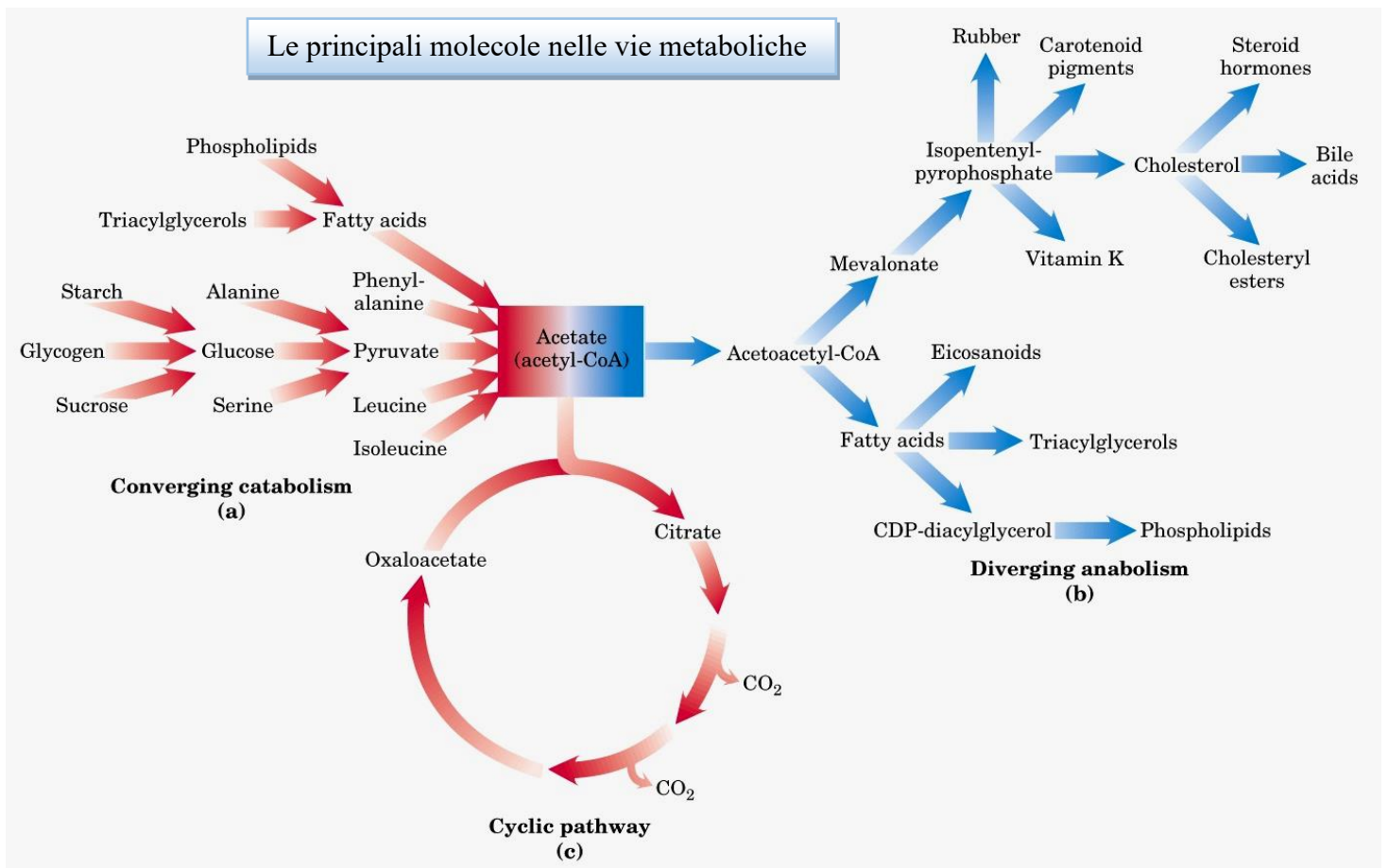
Questi composti vengono poi utilizzati, direttamente o indirettamente, dalla cellula nella fase anabolica, quando serve energia per costruire nuove molecole con stato di ossidazione del carbonio più basso.



QUALE È IL VANTAGGIO DI QUESTO MODO DI PROCEDERE?

Le vie del metabolismo degradativo (catabolismo) di carboidrati, proteine e lipidi convergono verso la formazione di un numero limitato di intermedi comuni che vengono poi utilizzati in una via ossidativa centrale (Glicolisi → Krebs).

Nelle vie del metabolismo biosintetico un numero limitato di metaboliti viene utilizzato per la produzione di una grande varietà di prodotti.



Nella cellula le vie metaboliche hanno **localizzazioni specifiche (compartmentazione)**.

**Vantaggi** : Non interferenza di vie metaboliche opposte e di attività enzimatiche “antagoniste”.

**Svantaggi** : Necessità di trasportatori attraverso le membrane che delimitano i compartimenti cellulari.

Ovviamente anche tutte le trasformazioni energetiche che avvengono nelle cellule seguono le leggi della termodinamica

**Equazione di Gibbs**

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S$$

**Isoterma di Van't Hoff**

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln Q_r$$

$$\Delta G^\circ = - RT \ln K_{eq}$$

**Equazione di Nerst**

$$E_{red} = E_{red}^\ominus + \frac{RT}{zF} \ln \frac{a_{Ox}}{a_{Red}}$$

**Relationships among  $K'_{eq}$ ,  $\Delta G'^\circ$ , and the Direction of Chemical Reactions under Standard Conditions**

When $K'_{eq}$ is	$\Delta G'^\circ$ is	Starting with 1 M components the reaction
> 1.0	Negative	Proceeds forward
1.0	Zero	Is at equilibrium
< 1.0	Positive	Proceeds in reverse

# Struttura e Regolazione delle vie metaboliche

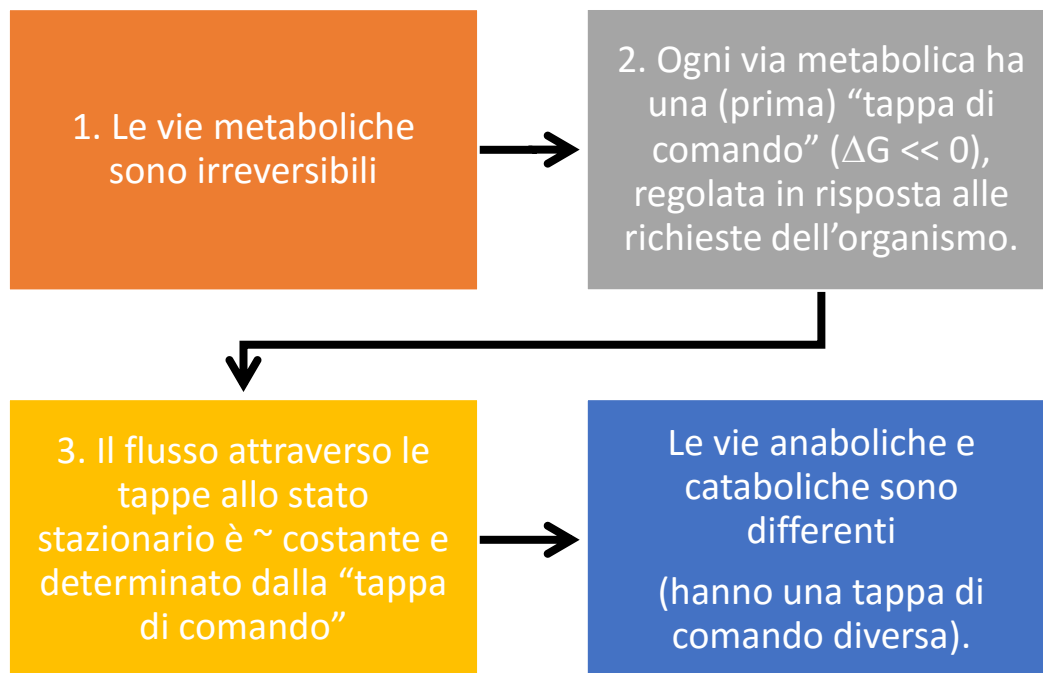
**Molte reazioni** metaboliche sono reazioni **vicine allo stato stazionario** ( $K_{eq} = 1$ )  
 $\Delta G \simeq 0$  e la velocità è regolata dalle concentrazioni relative di substrati e prodotti (pr. di Le Chatelier).

**Alcune reazioni** metaboliche sono reazioni **lontane dallo stato stazionario** a causa dell'eccesso dei substrati

Queste ultime reazioni generalmente sono le reazioni chiave dei processi metabolici. Sono quelle iniziali delle vie metaboliche o quelle situate in corrispondenza di diramazioni di più vie metaboliche.

La loro velocità è regolata dagli enzimi quindi in definitiva gli enzimi regolano il flusso di materia attraverso le vie metaboliche. In genere si tratta di enzimi allosterici inibiti dai prodotti finali della via metabolica stessa (**feedback**).

Questi fatti determinano che:



La velocità della "tappa di comando" può essere regolata in modi diversi

➔ **VELOCEMENTE** (secondi o minuti) mediante

1. Controllo allosterico (da substrati, coenzimi, prodotti – anche di reazioni successive)
2. Modificazione covalente dell'enzima (ad es. fosforilazione inibisce diversi enzimi)
3. Cicli del substrato (variazione della velocità di due reazioni opposte catalizzate da due enzimi diversi)

➔ **LENTAMENTE** (ore o giorni) mediante

1. Controllo dell'espressione genica (varia la concentrazione dell'enzima).

# ATP e altri intermedi ad alta energia

Una via catabolica nel suo insieme può essere fortemente esoergonica (Ad es. ossidazione completa del glucosio  $\Delta G^{\circ} = -2850 \text{ kJ/mole}$ )

Le reazioni cataboliche però sono realizzate attraverso più stadi intermedi. In questo modo si ottengono tre importanti vantaggi per le cellule:

## Accumulo dell'energia

- L'energia può essere accumulata in intermedi (molecole) che la rendano poi disponibile per le reazioni endoenergoniche quando necessario.

## Rendimento

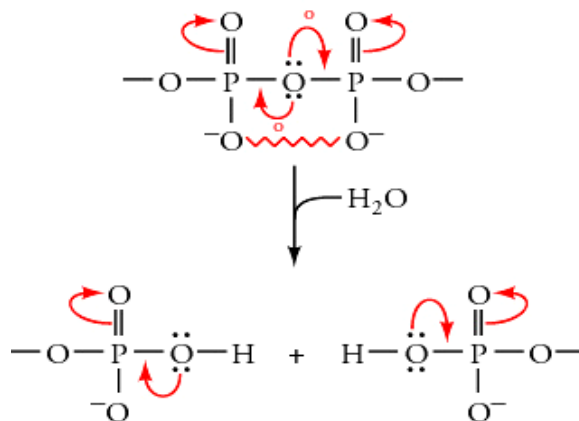
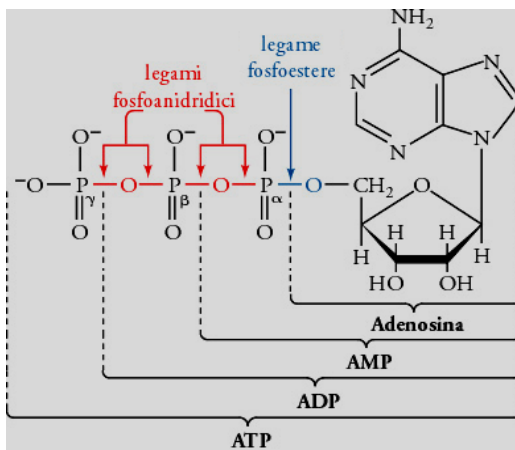
- Liberando poca energia alla volta aumenta il rendimento globale del processo e si controlla meglio la temperatura (meno energia libera è dissipata sotto forma di agitazione molecolare)

## Controllo e Regolazione

- E' possibile avere più punti di controllo e regolazione lungo il processo (attivazione e inibizione di enzimi).

In conseguenza di ciò deriva la necessità di intermedi che ricevano e conservino i "pacchetti di energia" liberati nei singoli passaggi catabolici.

Il più comune intermedio in cui viene immagazzinata l'energia delle reazioni cataboliche è l'ATP (adenosin trifosfato)



La struttura dello ione fosfato presenta molteplici forme di risonanza, ciò che determina le variazioni di energia libera delle reazioni di idrolisi dei nucleotidi:

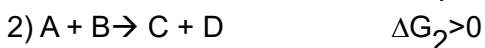
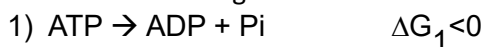
1. Le strutture di risonanza sono maggiori nei prodotti di dissociazione rispetto ai reagenti indissociati.
2. L'ATP presenta 4 cariche elettriche negative in uno spazio ridotto. La loro presenza è causa di repulsioni carica-carica che rendono meno stabile l'ATP rispetto ai suoi prodotti di idrolisi.
3. Nelle reazioni di dissociazione c'è sempre un aumento di entropia.

L'idrolisi dell'ATP ad ADP quindi risulta essere esoenergonica.



➔ L'idrolisi dell'ATP accoppiata a reazioni endoergoniche rende possibili queste ultime reazioni.

Consideriamo le seguenti reazioni:



Accoppiando le reazioni si ha:



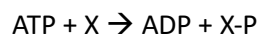
Se  $|\Delta G_1| > |\Delta G_2|$

Si ha  $\Delta G_3 = \Delta G_1 + \Delta G_2 < 0$

e la via metabolica è spostata verso destra.

L'accoppiamento delle reazioni procede tramite la formazione di **fosfati attivati**.

Ovvero stiamo parlando di reazioni del tipo:



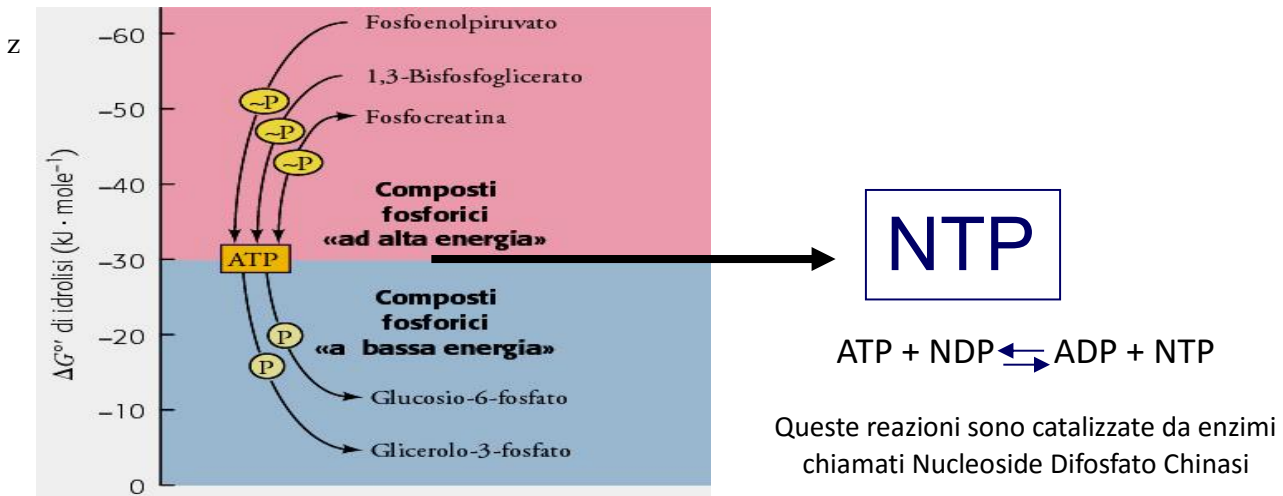
Ad es. si vedano le reazioni 1 (Glu  $\rightarrow$  G6P) e 3 (F6P  $\rightarrow$  F1,6BP) della glicolisi.

In questa via catabolica si deve rompere il legame C3-C4 del glucosio (reaz. endoenergonica in sé). Tutti gli intermedi che si formano nella glicolisi sono mono-fosfati o bifosfati (G6P, F6P, F1,6BP ecc...).



L' ATP non è l'unico intermedio usato per immagazzinare l'energia nelle cellule.

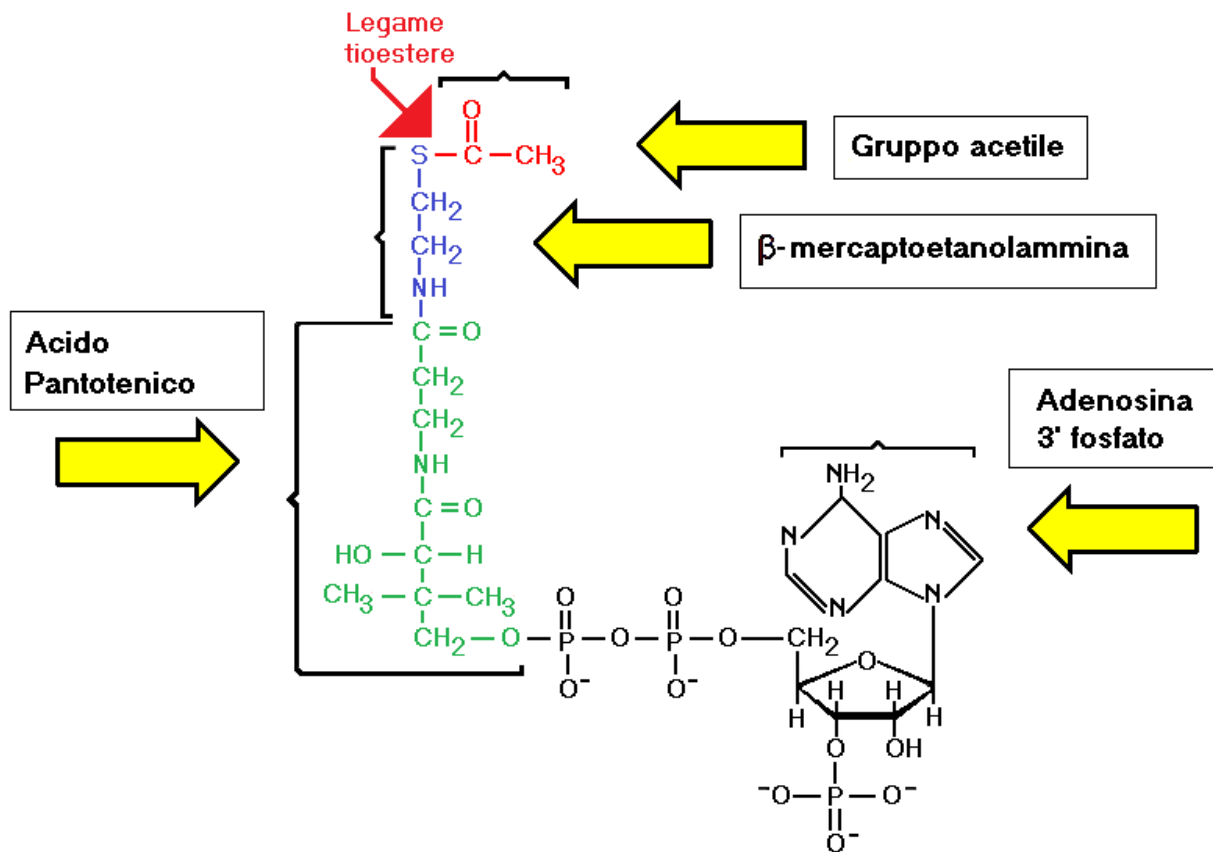
Il gruppo fosfato può essere ad esempio legato ad altri nucleosidi (contenenti cioè Guanina, Timina, Citosina o Uracile invece di Adenina).



La possibilità di usare nucleotidi diversi (es. UDP in glicogenosintesi, GTP in signalling cascades) consente alla cellula di non confondere le vie metaboliche.

Il nucleoside adenosina, oltre che nell'ATP, è presente in molte molecole (NAD<sup>+</sup>, FAD, CoA-SH).

Il **Coenzima A**, oltre che da trasportatore di gruppi acetili e acili, si comporta anche da composto "ad alta energia" per il suo legame tioestere parzialmente instabile ( $\Delta G^\circ = -31.5 \text{ kJ/mol}$ )







# Ossidoriduzioni nella cellula

Una reazione di ossidoriduzione è un **trasferimento di elettroni** e nella cellula vi sono **tre modi** principali di realizzarlo:

## 1. Trasferimento diretto di elettroni da una coppia redox.

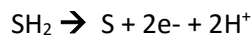
Esempio:  $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$  cede un elettrone alla coppia redox  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  secondo l'equazione (reaz. della catena elettronica nella fosforilazione ossidativa):



## 2. Trasferimento di due atomi di idrogeno

Ricordiamo che essi sono in definitiva composti da due elettroni e due protoni ( $\text{H}^+$ ).

Un substrato S ridotto lo possiamo rappresentare legato a due atomi di H ed è il donatore di protoni ed elettroni secondo lo schema:



$\text{SH}_2$  ha perso due atomi di H e si è ossidato in S.  $\text{SH}_2$  può cedere gli elettroni ad un altro composto X che si riduce.



Conviene imparare a leggere queste reazioni parlando di **substrato ridotto** ( $\text{SH}_2$ ), **substrato ossidato** (S), **intermedio ridotto** ( $\text{XH}_2$ ) ed **intermedio ossidato** (X)

## 3. Trasferimento di elettroni sotto forma di ione idruro

Ricordiamo che lo ione  $\text{H}^-$  è formato da due elettroni e un protone ( $:\text{H}$ )

Per tutti i trasferimenti di idrogeno sono necessari particolari enzimi che si chiamano deidrogenasi. Le deidrogenasi sono fondamentali nel metabolismo energetico (e non solo).

I loro coenzimi FAD e  $\text{NAD}^+$  saranno in grado di accettare rispettivamente 2 atomi di H, come visto al punto 2 e uno ione idruro, come visto al punto 3.

Le reazioni di ossidazione si possono separare fisicamente da quelle di riduzione in una cella elettrochimica e il loro decorso è descrivibile mediante l'**equazione di Nernst**.

Ad es. per una reazione  $\text{A}_{\text{ox}} + \text{B}_{\text{red}} \rightarrow \text{A}_{\text{red}} + \text{B}_{\text{ox}}$  si ha

(ricordare isoterma di Van't Hoff e che  $\Delta G = -zF\Delta V$ )

$$\Delta \mathcal{E} = \Delta \mathcal{E}^\circ - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[\text{A}_{\text{rid}}][\text{B}_{\text{ox}}^{n+}]}{[\text{A}_{\text{ox}}^{n+}][\text{B}_{\text{rid}}]}$$

$\Delta \mathcal{E}$  è detta differenza di **potenziale di riduzione**

( $E_{\text{red}} - E_{\text{ox}}$ , in questo caso  $E(\text{A}) - E(\text{B})$ ).

"F" è la costante di Faraday (96500) coulomb (carica di una mole di elettroni)

"n" è il numero di elettroni scambiati da ogni particella

Come abbiamo ricordato → Potenziale elettrico = Energia/Carica;  
 Quindi avremo →  $\Delta G = -nF\Delta E$   
 Per cui



**Se  $\Delta E > 0 \rightarrow \Delta G < 0$**

Cioè più positiva è la differenza di potenziale di riduzione, maggiore è l'affinità per gli elettroni della forma ossidata della coppia redox, cioè maggiore sarà la tendenza della forma ossidata ad accettare elettroni e quindi diventare ridotta

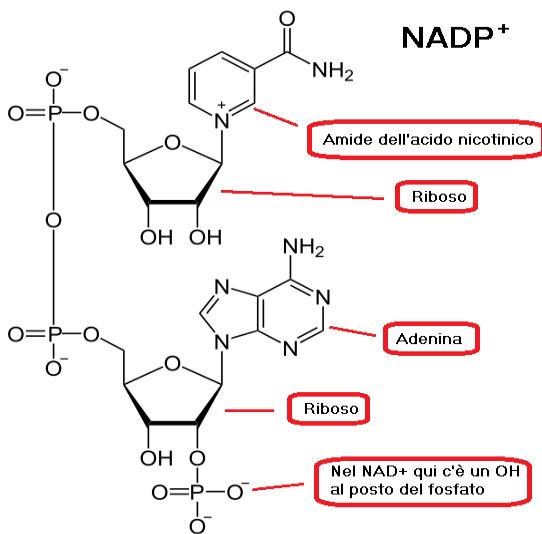
## Coenzimi di Riduzione

Durante l'ossidazione catabolica di substrati, come detto, l'accumulo di energia può avvenire anche mediante trasporto di elettroni. In queste reazioni di ossido-riduzione si ha la formazione delle specie ridotte di diversi coenzimi.

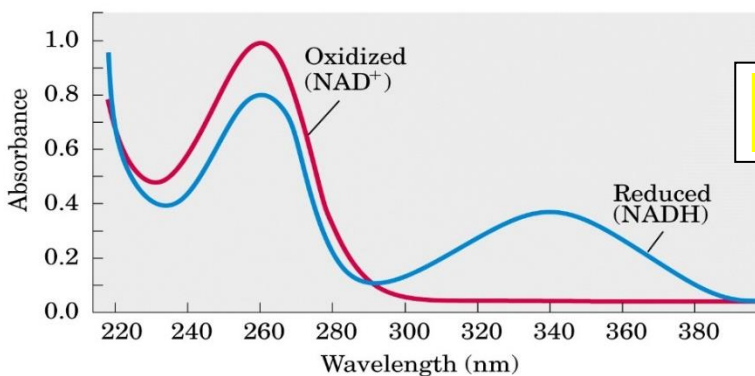
La fosforilazione ossidativa comporta in successione:

- La ri-ossidazione di questi coenzimi ridotti nei mitocondri
- La formazione di un gradiente di protoni trans-membrana
- La formazione di molecole di ATP

Tra i più comuni trasportatori di elettroni ci sono i coenzimi NAD<sup>+</sup> (Nicotinamide Adenina Dinucleotide) e NADP<sup>+</sup> (Nicotinamide Adenina Dinucleotide Fosfato)



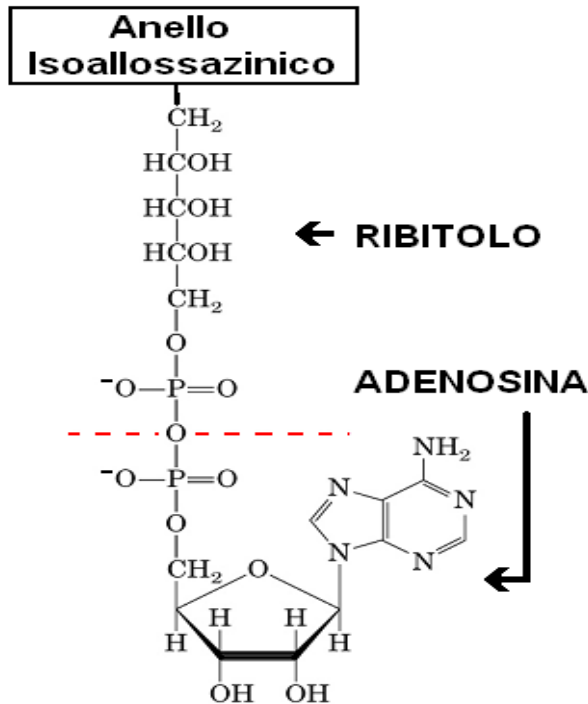
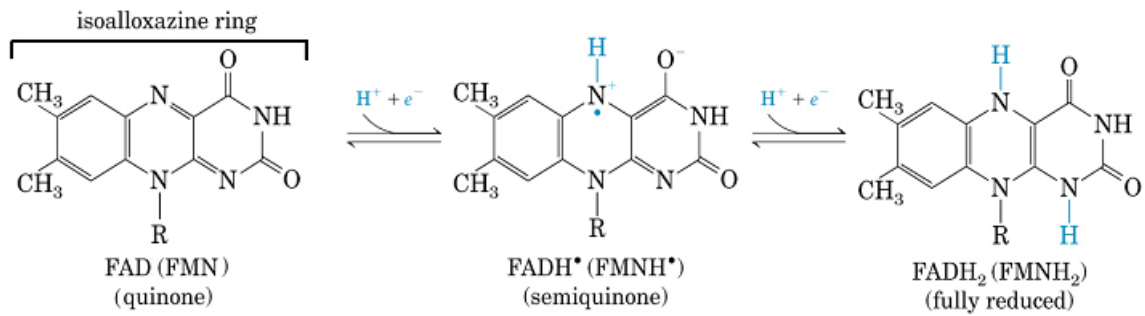
La riduzione del NAD<sup>+</sup> avviene grazie all'azione dello ione idruro e porta alla formazione del NADH con perdita della delocalizzazione elettronica sull'anello piridinico e conseguente shift nello assorbimento UV. (H<sup>-</sup> = ione idruro, donatore di due elettroni)



**SPETTRO UV delle forme ossidate e ridotte NAD<sup>+</sup> e NADH**

**(b)**

➔ Altro importante coenzima nella catena della fosforilazione ossidativa è il FAD. Ha un potenziale (= capacità di attirare gli elettroni) superiore al NAD+



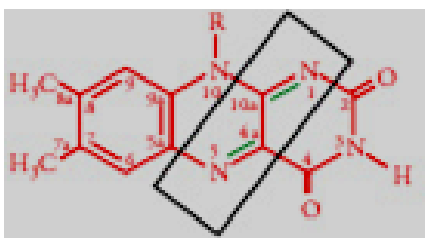
Abbiamo il Flavin Mono Nucleotide (FMN) se il residuo R è costituito solo da ribitolo fosfato.

Nel Flavin Adenosin Nucleotide il gruppo R invece è costituito dal ribitolo fosfato legato all' Adenosin Mono Fosfato

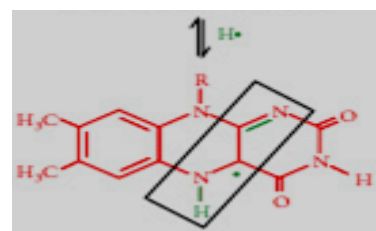
La molecola costituita dall'anello isoallossazinicco legato al ribitolo è chiamata Riboflavina ed è la vitamina B2

Il FAD può accettare uno o due elettroni.

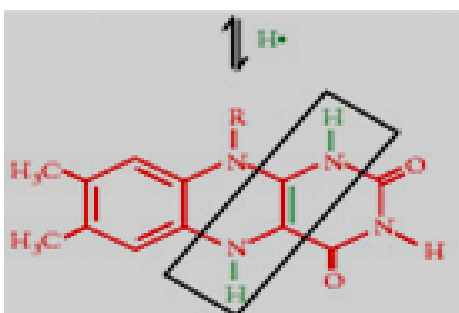
Nei sistemi biologici ossidazione e deidrogenazione sono spesso termini equivalenti.



1. FAD (forma ossidata o chinonica)



2. FADH (forma radicalica o semichinonica)



3. FADH<sub>2</sub> (forma ridotta o idrochinonica)

# Catena di trasporto degli elettroni

La fosforilazione ossidativa è il processo biochimico cellulare attraverso cui si produce ATP nei mitocondri. E' la fase finale della respirazione cellulare, dopo glicolisi e ciclo di Krebs.

L'ubicazione fisica del processo è sempre a cavallo di una membrana biologica: negli eucarioti, esso avviene presso la cresta mitocondriale, mentre nei procarioti, ha luogo presso la membrana cellulare.

La fosforilazione ossidativa è composta da due parti:

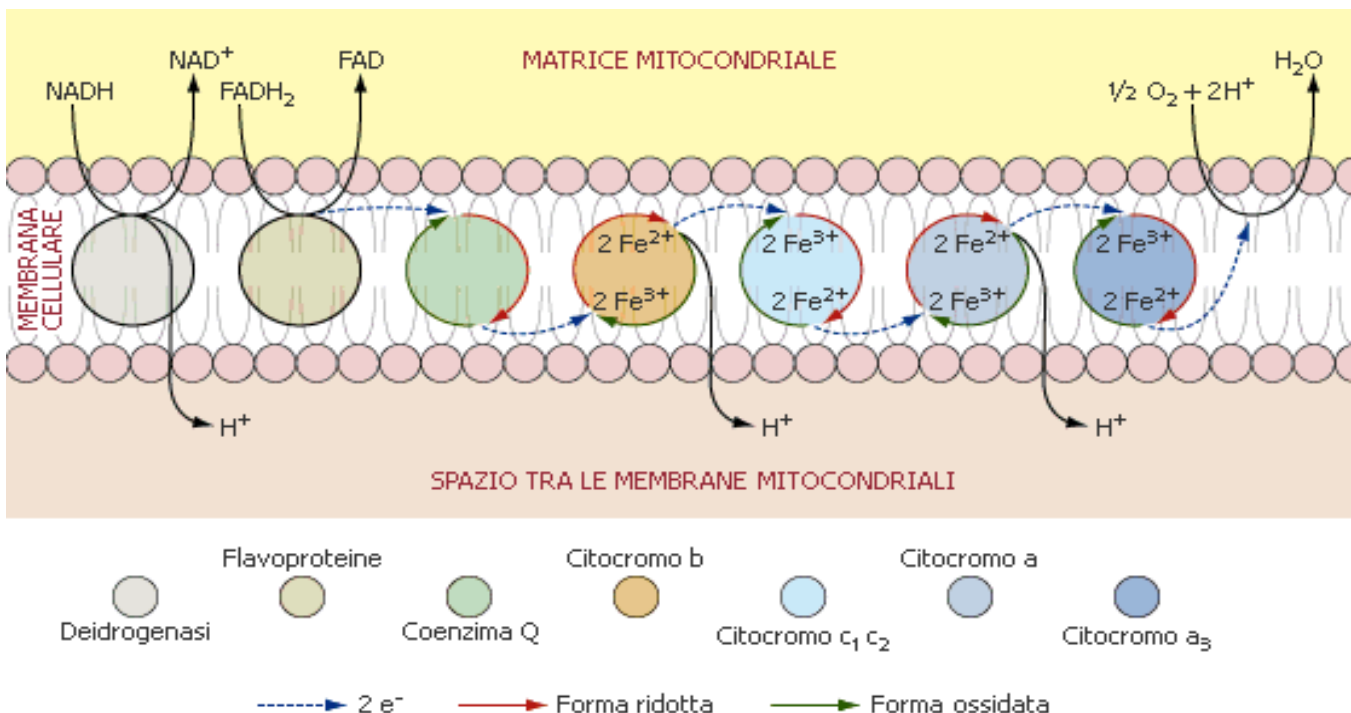
- 1 - Catena di trasporto degli elettroni. Gli elettroni trasportati da NADH e FADH<sub>2</sub> vengono scambiati da una catena enzimatica trans-membrana, che sfrutta questo passaggio di elettroni per generare un gradiente protonico.
- 2 - Sintesi di ATP tramite fosforilazione di ADP da parte dell'enzima ATP sintetasi.

La catena di trasporto degli elettroni è costituita da una serie di complessi proteici e composti lipo-solubili capaci di generare un potenziale elettrochimico attraverso la membrana mitocondriale. Questo è ottenuto mediante lo spostamento di ioni H<sup>+</sup> nello spazio compreso fra le due membrane mitocondriali.

La catena di trasporto fa passare gli elettroni dalle molecole donatrici (NADH, FADH<sub>2</sub>/succinati) attraverso molecole trasportatrici (coenzima Q e citocromo c) e vari complessi fino all'accettore finale e cioè l'ossigeno.

I vari trasportatori sono disposti in maniera tale da avere potenziali di riduzione crescenti e per questo motivo gli elettroni, venendo trasportati, passano da uno stato energetico più alto ad uno stato energetico più basso con conseguente liberazione di energia, la quale verrà utilizzata in parte per la sintesi di ATP, ed in parte verrà dispersa come calore (necessario al mantenimento della temperatura corporea).

Ogni complesso enzimatico rappresenta una pompa protonica localizzata nella membrana interna del mitocondrio.



Questi complessi sono costituiti da queste molecole "scambiatrici" di elettroni e particolari enzimi **deidrogenasi**. Sono localizzati nella membrana interna mitocondriale.

I complessi della membrana mitocondriale, tramite rotazioni conformazionali, sono in grado di *pompate* ioni H<sup>+</sup> all'esterno della membrana, generando un **gradiente protonico** tra lo spazio inter-membrana e la matrice mitocondriale.

Quindi, l'energia che si è liberata nel trasporto elettronico della respirazione consente di attivare la pompa protonica e quindi di pompare protoni dall'interno verso l'esterno contro gradiente (Meccanismo Chemio Osmotico proposto da Peter Mitchell nel 1961 – premio Nobel della chimica nel 1978).

Le molecole che nella catena di trasporto subiscono le ossido riduzioni sono chiamate citocromi.

Sono emoproteine che contengono lo ione ferro. Il legame con questo ione è diverso nei vari citocromi, per cui i potenziali di riduzione di questi ultimi sono leggermente diversi (il potenziale dipende dalla concentrazione delle specie ossidate e ridotte – legge di Nerst), per cui passaggio di elettroni può avvenire.

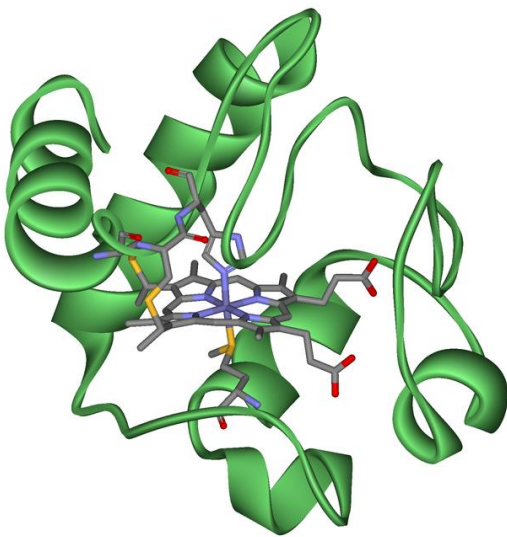
Oltre allo ione ferro alla catena di trasporto degli elettroni partecipano la coppia Cu(+1/Cu+2) [nel complesso IV] e il coenzima Q [un chinone terpenico]

Potenziale del ferro nei vari citocromi

Semi-reazione	$E^{\circ}$ (V)
Cit a <sub>3</sub> (Fe <sup>3+</sup> ) + e <sup>-</sup> → Cit a <sub>3</sub> (Fe <sup>2+</sup> )	0.385
Cit a (Fe <sup>3+</sup> ) + e <sup>-</sup> → Cit a (Fe <sup>2+</sup> )	0.29
Cit c (Fe <sup>3+</sup> ) + e <sup>-</sup> → Cit c (Fe <sup>2+</sup> )	0.235
Cit c <sub>1</sub> (Fe <sup>3+</sup> ) + e <sup>-</sup> → Cit c <sub>1</sub> (Fe <sup>2+</sup> )	0.22
Cit b (Fe <sup>3+</sup> ) + e <sup>-</sup> → Cit b (Fe <sup>2+</sup> )	0.077

## Citocromi

(Rappresentazione della molecola di citocromo c).



Cytochromes are heme proteins containing heme groups and are primarily responsible for the generation of ATP via electron transport.

They are found either as monomeric proteins (e.g., cytochrome c) or as subunits of bigger enzymatic complexes that catalyze redox reactions.

Cytochromes were initially described, in 1884, as respiratory pigments. In the 1920s, Keilin rediscovered these respiratory pigments and named them the cytochromes, or “cellular pigments”, and classified these heme proteins on the basis of the position of their lowest energy absorption band in the reduced state.

So we now have cytochromes a (605 nm), b (~565 nm), and c (550 nm). Within each class, cytochrome a, b, or c, early cytochromes are numbered consecutively, e.g. cyt c, cyt c1, and cyt c2, with more recent examples designated by their reduced state R-band maximum, e.g. cyt c559.

The heme group, as we already know, is a highly conjugated ring system (which allows its electrons to be very mobile) surrounding a metal ion, which readily interconverts between the oxidation states.

For many cytochromes, the metal ion present is iron, which interconverts between Fe<sup>2+</sup> (reduced) and Fe<sup>3+</sup> (oxidized) states and vice versa in electron-transfer processes.

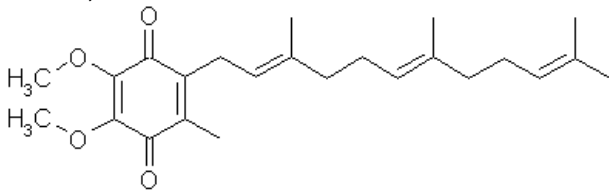
Cytochromes are, thus, capable of performing oxidation and reduction. Because the cytochromes (as well as other complexes) are held within membranes in an organized way, the redox reactions are carried out in the proper sequence for maximum efficiency.

In the process of oxidative phosphorylation, which is the principal energy-generating process undertaken by organisms, other membrane-bound and -soluble complexes and cofactors are involved in the chain of redox

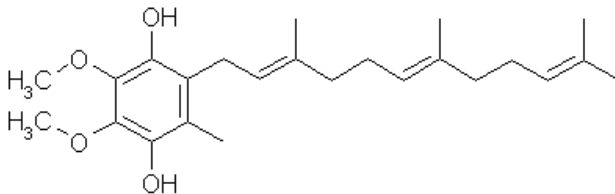
reactions, with the additional net effect that protons (H<sup>+</sup>) are transported across the mitochondrial inner membrane. The resulting transmembrane proton gradient is used to generate ATP.

## Coenzima Q

Il coenzima Q, chiamato anche ubiquinone (o vitamina Q) è un benzochinone con una catena laterale isoprenica che lo rende molto lipofilo. E' simile come struttura alla Vitamina K ed alla Vitamina E. E' ubiquitario nei sistemi biologici. Negli organismi partecipa alle reazioni redox, ed a seconda dello stato di ossidazione può essere presente in tre forme: una ossidata, un intermedio semi-chinonico, ed una forma ridotta;



Forma ossidata



Forma ridotta

Si possono distinguere vari tipi di coenzima Q a seconda del numero di unità isopreniche nella catena laterale. Nei mitocondri umani il tipo di CoQ più frequente è il Q10, mentre quello nelle formule sopra ha tre unità isopreniche, ed è quindi il Q3.

Se il coenzima Q viene ridotto acquistando un elettrone ed un protone (H<sup>+</sup>), forma un radicale chiamato ubisemichinone (QH<sup>•</sup>). Per ulteriore riduzione con un altro elettrone ed un altro protone il composto diventa un ubiquinolo (QH<sub>2</sub>).

L'ubichinone si trova nelle membrane del reticolo endoplasmatico, di perossisomi e lisosomi nelle vescicole ed all'interno della membrana dei mitocondri, dove svolge un ruolo fondamentale nella Catena di trasporto degli elettroni.

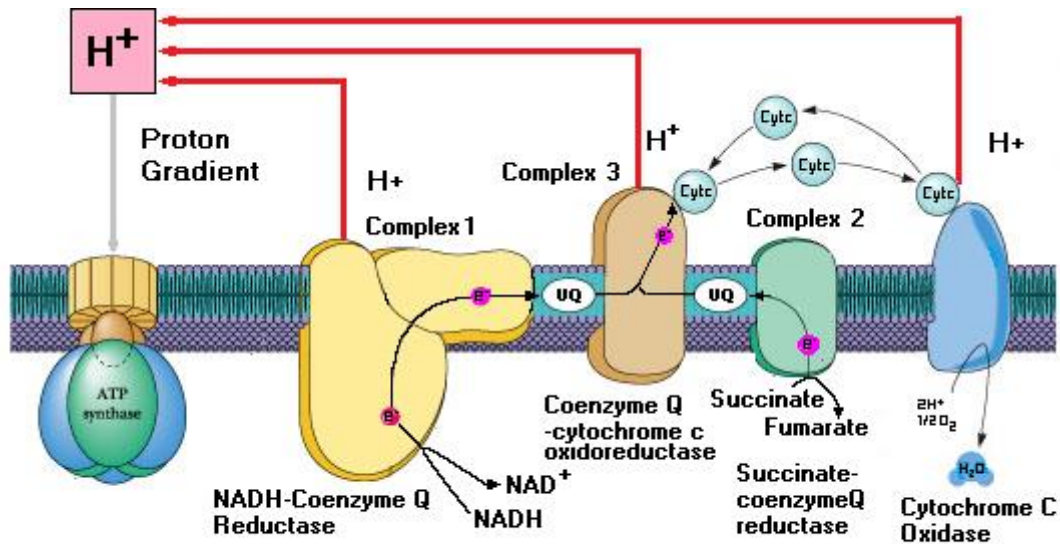
Trasporta elettroni dal donatore all'accettore citocromo c:  
 $\text{CoQH}_2 + 2 \text{Fe(III)-citocromo c} \rightarrow \text{CoQ} + 2 \text{Fe(II)-citocromo c}$

Grazie alla sua capacità di trasferire elettroni svolge anche funzioni di antiossidante nella cellula.

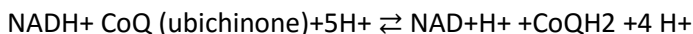
La catena laterale isoprenica nel coenzima Q10 è sintetizzata a partire da Acetil-coenzima A da una serie di reazioni enzimatiche che hanno come intermedio l'acido mevalonico.

La porzione di benzochinone è sintetizzata a partire dal para-idrossibenzoato, un catabolita della tirosina.

## Complessi della Catena di Trasporto Mitochondriale



• **Complesso I – NADH deidrogenasi**, detto anche Coenzima Q reductasi. Riceve due atomi di idrogeno dal coenzima NADH e li trasferisce interamente al secondo trasportatore della catena di trasporto degli elettroni, cioè il Coenzima Q. L'energia ricavata dal passaggio degli elettroni è utilizzata dal complesso per trasportare 4 H<sup>+</sup> nello spazio inter-membrana. Questo complesso contiene FMN (flavin mononucleotide), un cofattore molto simile al FAD che accetta due elettroni ed un protone provenienti dal NADH e un altro protone proveniente dalla matrice. Inoltre nel complesso I sono presenti anche ferro-zolfo proteine che sono in grado di accettare i protoni dall'FMNH<sub>2</sub> e cambiando lo stato di ossidazione del ferro, attuano il trasferimento degli elettroni dall'FMNH<sub>2</sub> all'ubichinone, che in questo modo si riduce. I due protoni sono pompati nello spazio tra le due membrane.



Il processo di trasferimento è irreversibile. Ogni elettrone va incontro ad una caduta di potenziale (DE) di circa 360mV che equivale ad un  $\Delta G = -16,6 \text{ Kcal/mol}$ .

• **Complesso II – Succinato- Coenzima Q reductasi**. Il complesso II è chiamato così perché gli elettroni che giungono al CoQ dal FADH<sub>2</sub> provengono dalla ossidazione del succinato. Il complesso è un punto di contatto tra ciclo di Krebs e catena respiratoria; infatti contiene l'enzima della tappa n° 6 del ciclo di Krebs (succinato deidrogenasi).

Il FADH<sub>2</sub> viene subito riossidato a FAD senza lasciare il complesso, e trasferisce i suoi elettroni a centri Fe-S che a loro volta riducono il CoQ. Questo è il punto d'ingresso nella catena respiratoria di tutte le molecole di FADH<sub>2</sub>, anche di quelle provenienti da altre fonti.

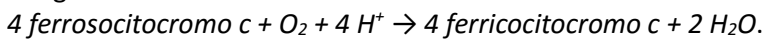
Il complesso 2 non è una pompa protonica, cioè non è in grado di trasferire protoni dalla matrice allo spazio



intermembrana a causa della troppo piccola variazione di energia libera generata dal trasferimento di elettroni dal FADH<sub>2</sub> al CoQ. Per questo gli elettroni immessi dal FADH<sub>2</sub> nella catena respiratoria portano alla formazione di 2 sole molecole di ATP contro le 3 generate dall'ossidazione del NADH.

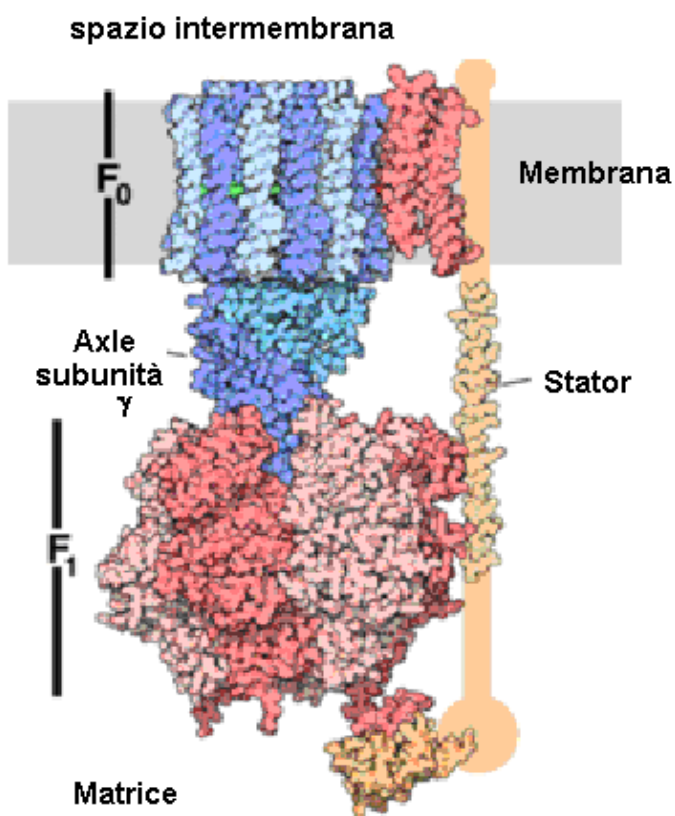
• **Complesso III – Complesso del citocromo bc<sub>1</sub>**, anche detto Citocromo reduttasi. È la pompa protonica centrale in questo processo. Si lega all'ubichinolo (QH<sub>2</sub>) proveniente dal complesso I e prende da questo due elettroni e due protoni. I due protoni vengono rilasciati sul lato esterno della membrana. Gli elettroni, con percorsi diversi, riducono il centro ferro-zolfo e il ferro dei gruppi eme b e c<sub>1</sub>.

• **Complesso IV – Citocromo c ossidasi**: è l'ultimo complesso della catena. Nelle cellule la citocromo-c-ossidasi (detta anche citocromo a<sub>3</sub>) è unita a un altro citocromo, il cit a, in un complesso macromolecolare metallo-organico che contiene un atomo di rame oltre al ferro porfirinico. La citocromo-c-ossidasi è una proteina integrale della membrana mitocondriale interna e catalizza la reazione



trasferendo gli elettroni ricevuti dal citocromo c all'ossigeno (proveniente dai polmoni) trasformandolo, insieme agli ioni H<sup>+</sup>, in acqua. Trasporta 2 H<sup>+</sup> nello spazio intermembrana.

## ATP – sintasi



Sulla membrana mitocondriale interna è presente un altro complesso proteico, l'**ATP-sintasi**, che è in grado di sfruttare il flusso di protoni in favore di gradiente per sintetizzare le molecole di ATP partendo da ADP e Pi.

L'ATP-sintasi è una proteina costituita da due strutture dette F<sub>0</sub> e F<sub>1</sub>, esse sono collegate tra loro da una subunità più piccola detta γ. La subunità polipeptidica F<sub>0</sub> attraversa la membrana mitocondriale interna. Essa costituisce il canale per il passaggio degli ioni H<sup>+</sup> dallo spazio intermembrana alla matrice. Il processo, in favore di gradiente, è detto diffusione facilitata e fornisce l'energia necessaria alla sintesi di ATP.

Il passaggio dei protoni attraverso il canale presente nella F<sub>0</sub> determina la rotazione della subunità γ che a sua volta provoca il cambiamento conformazionale nella struttura F<sub>1</sub>. Sulla porzione F<sub>1</sub> vi sono 3 siti attivi che, a causa del cambiamento di conformazione, entrano in azione e catalizzano a turno la sintesi di ATP. Questo meccanismo va sotto il nome di **catalisi rotazionale**.

The crystal structure of the F<sub>1</sub> showed alternating alpha and beta subunits (3 of each), arranged like segments of an orange around an asymmetrical gamma subunit. According to the current model of ATP synthesis the proton-motive force across the inner mitochondrial membrane, generated by the electron transport chain, drives the passage of protons through the membrane via the F<sub>0</sub> region of ATP synthase. A portion of the F<sub>0</sub> (the ring of c-subunits) rotates as the protons pass through the membrane. The c-ring is tightly attached to the asymmetrical central stalk (consisting primarily of the gamma subunit), which rotates within the alpha<sub>3</sub>-beta<sub>3</sub> of F<sub>1</sub> causing the three catalytic nucleotide binding sites to go

through a series of conformational changes that leads to ATP synthesis.

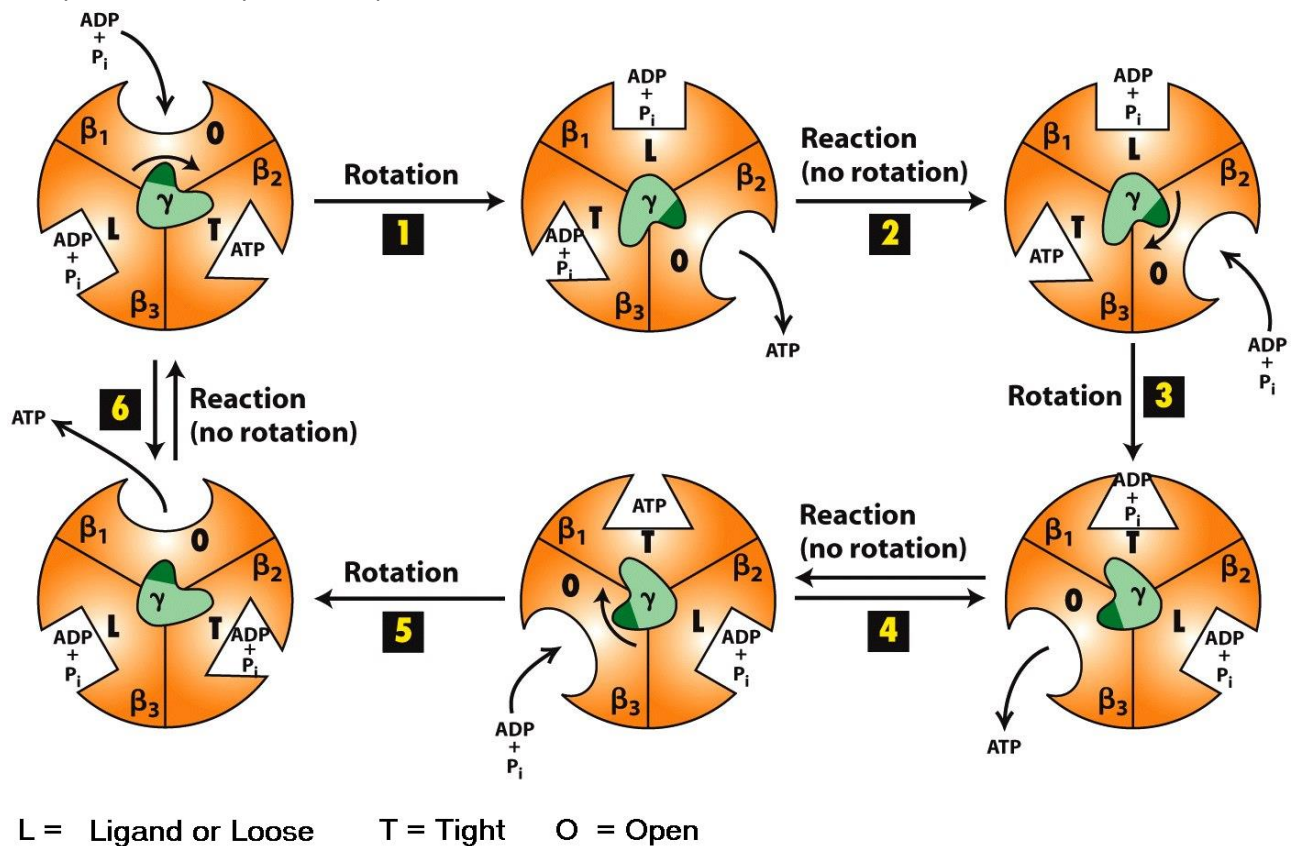
The major F<sub>1</sub> subunits are prevented from rotating in sympathy with the central stalk rotor by a peripheral stalk (stator) that joins the alpha3-beta3 to the non-rotating portion of F<sub>0</sub>. The structure of the intact ATP synthase is currently known at low-resolution from electron cryo-microscopy (cryo-EM) studies of the complex. The cryo-EM model of ATP synthase suggests that the peripheral stalk is a flexible structure that wraps around the complex as it joins F<sub>1</sub> to F<sub>0</sub>.

The binding change mechanism involves the active site of a β subunit's cycling between three states. In the "open" state, ADP and phosphate enter the active site.

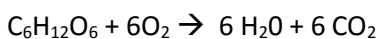
The protein then closes up around the molecules and binds them loosely — the "loose" or "ligand" state.

The enzyme then undergoes another change in shape and forces these molecules together, with the active site in the resulting "tight" state binding the newly produced ATP molecule with very high affinity.

Finally, the active site cycles back to the open state, releasing ATP and binding more ADP and phosphate, ready for the next cycle of ATP production.



## Bilancio energetico del metabolismo del glucosio



$$\Delta G^\circ = 2870 \text{ kJ/mol}$$

Nel catabolismo cellulare la stessa reazione viene "spezzettata" in più reazioni parziali (quelle della glicolisi e quelle del ciclo di Krebs) che complessivamente producono 38 molecole di ATP.

Ciascuna molecola di ATP, per idrolisi, può liberare 30,5 kJ/mol. Per cui, complessivamente,

$$\Delta G^\circ_{\text{cell}} = 38 \text{ mol} \times 30,5 \text{ kJ/mol} = 1159 \text{ kJ/mol}$$

Questa è l'energia recuperata dalla cellula ed utilizzabile per le reazioni metaboliche endoergoniche, in altre parole il Lavoro Utile. Il resto dell'energia di combustione del glucosio sarà disperso nella cellula sotto forma di calore.

Il rendimento del catabolismo del glucosio sarà quindi piuttosto elevato

$$\eta = L / Q = \Delta G^{\circ}_{\text{cell}} / \Delta G^{\circ} = 1159 / 2870 = 0,40$$

