

# FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA

Principale processo di sintesi delle ATP x organismi non fotosintetici  
Negli eucarioti avviene nei mitocondri.

Il meccanismo della fosforilazione oss. è fatto da 3 componenti principali:

- trasportatori attraverso cui  $e^-$  fluiscono fino all' $O_2$
- Produzione di gradienti di  $H^+$  mediante un trasporto endoergico
- un complesso proteico capace di usare il gradiente protonico x formare ATP (ATP sintasi)

## LA CATENA RESPIRATORIA MITOCONDRIALE

### IL MITOCONDRI

Come i globuli hanno 2 membrane:

- membrana esterna: permeabile a molecole piccole e a ioni, che si muovono grazie a canali transmembrana formati da proteine integrati di membrana (porine)

- membrana interna: impermeabile a molecole piccole e a quasi tutti gli ioni (anche  $H^+$ ) → proteine non passano. forma creste che ↑ la superficie interna.

contiene inoltre:

- trasportatori di  $e^-$  della catena respiratoria
- le ADP-ATP translocasi
- la ATP sintasi ( $F_0F_1$ )
- Altri trasportatori di membrana

- matrice simile a gel

contiene: complesso della piruvato deidrogenasi

- ciclo di Krebs
- ossidazione acidi grassi e AA.
- DNA, ribosomi
- altri  $e^-$  e intermedi metabolici
- ATP, ADP,  $P_i$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{2+}$

Tutto ciò permette la formazione di gradiente e ≠ concentrazione da un lato all'altro della membrana + compartimentalizzazione di varie funzioni.

I mitocondri si dividono x scissione (come batteri) e sono in numero variabile (100/4000 x cellula).  
Sono lunghi 1 micron e larghi 0,5 micron.

**I TRASPORTATORI** → vedi word + PAG 240

www.unidocs.it - Appunti e dispense per superare i tuoi esami universitari

La fosforilazione ox inizia con l'entrata degli  $e^-$  nella catena respiratoria.

La 1<sup>a</sup> pt. degli  $e^-$  sono raccolti moleidrogenosi nei processi catabolici e conservati nei loro coenzimi  $NAD^+$ ,  $NADP^+$ ,  $FMN$ ,  $FAD$ .

La 2<sup>a</sup> pt. delle deidrogenasi, che agiscono nel catabolismo sono specifiche x le  $NAD^+$  e sono localizzate sia nel citosol che nei mitocondri, e hanno  $\neq$  forme isoenzimatiche.

Le deidrogenasi  $NAD$ -dipendenti rimuovono due  $H^+$  dai substrati  
 $\rightarrow 1 H^+$  va a  $NAD^+$

$\rightarrow 1 H^+$  rilasciato nell'ambiente circostante.

Le  $NADH$  e  $NADPH$  sono trasportatori di  $e^-$  solubili in  $H_2O$  e si associano reversibilmente alle deidrogenasi.

$NADPH$  di solito fornisce  $e^-$  nelle reazioni ossidative.

### TRASPORTATORI DI ELETTRONI LEGATI ALLA MEMBRANA

La sequenza degli eventi che avvengono nella catena respiratoria è stata chiarita usando inibitori ed elettrodi x misurare la variazione del potenziale redox dovuto al consumo di  $O_2$ .

- butirrato è usato x fare iniziare l'ox di  $NADH$

$\oplus$  rotenone (tossina) evita ferma reazione.

- Succinato fa riportare reazione ma poi bloccata con antimicina

- ascorbato / TMPD x farla riportare e bloccata con  $CN^-$

$\rightarrow$  possiamo dividere la  $\Delta redox$  derivata da ox  $NADH$

in 3 pacchetti energetici: da ognuno si ottiene 1 ATP

Se manca ADP  $e^-$  non sono trasportati!

Nella fosforilazione ox ci sono 3 tipi di trasferimento di  $e^-$ :

- diretto come nella riduzione da  $Fe^{3+} \rightarrow Fe^{2+}$

- trasferimento di 1 atomo di  $H^+$  ( $H^+ + e^-$ )

- trasferimento di 1 ione idruro, che porta  $2e^-$ :  $=H^-$

Equivalente riducente: usato x indicare che  $1e^-$  viene trasferito in una reazione di ossidazione.

Oltre al  $NAD$  e alle flavoproteine, nella catena respiratoria agiscono altri 3 gruppi trasportatori di  $e^-$ :

- UBICHINONE (coenzima Q): benzodina liposolubile con una catena laterale isoprenica molto lunga

L'ubichinone può accettare  $1e^-$  trasformandosi in un radicale semidrinamico ( $QH$ ), oppure può prendere  $2e^-$  diventando completamente ridotto ( $QH_2$ ).

Visto che è idrofobico può liberamente diffondere nel doppio strato lipidico della membrana mitocondriale, in cui si muove  $\rightarrow$  trasporta  $e^-$

- CITOCROMI: proteine che hanno nella loro molecola un gruppo prostetico heme (Ferro). Nei mitocondri ci sono 3 classi di citocromi (A, B, C)  $\rightarrow \neq$  x le interazioni tra le proteine e il gruppo heme.

Nei citocromi ci sono orbitali ibridati  $sp^3$  che sono accettori  $\text{O}_2$  di fotoni, e assorbono luce.

Hanno 3 picchi di assorbimento  $\neq$  che li caratterizzano. Nei citocromi a e b il gruppo eme è legato saldamente, ma senza legami covalenti (legati da His).

Il gruppo eme nei citocromi c è legato con residui di cys, sono proteine integrali di membrana mitocondriale interna.

→ eccezione citocromo c dei mitocondri: proteina solubile che si lega con interazioni elettrostatiche alla superficie esterna della membrana mitocondriale.

### PROTEINE FERRO-ZOLFO

Fe va sta nel gruppo eme ma è associato a  $\text{O}_2$  inorganico o di residui di cys della proteina, solitamente sono  $2S=2Fe$  o  $4S=4Fe$ .

### TRASPORTATORI E COMPLESSI MULTIENZIMATICI

I trasportatori di  $e^-$  nella catena respiratoria sono organizzati in complessi sopramolecolari intramembrana, che possono essere separati e isolati con trattamenti (es: centrifugazione, elettroforesi, ..).

sono 4 complessi:

I e II catalizzano trasferimento  $e^-$  da NADH e succinato alle ubiquinone.

III trasferisce  $e^-$  da ubiquinone a citocromo c

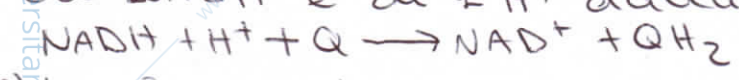
IV trasferisce  $e^-$  da citocromo c ridotto a  $\text{O}_2$

### Complesso I

guidato dalle NADH-ubichinone ossidoreduttasi o NADH deidrogenasi, il complesso più grande, è fatto da 45 catene peptidiche e può contenere una globoproteina contenente FMN e alcuni centri ferro-zolfo.

Il complesso I ha una forma a L, con 1 braccio nella membrana mitocondriale interna e l'altra verso la matrice. Catalizza 2 processi accoppiati e simultanei:

1) trasferimento esoergonico alle ubiquinone di uno ione idruro da NADH e di 1  $H^+$  dalla matrice



2) trasferimento endoergonico di  $H^+$  (4) dalla matrice allo spazio intermembrana → spostato contro un gradiente di  $H^+$  transmembrana.

→ pompa proteica guidata dalle  $e^-$  che deriva dal trasferimento di  $e^-$ .

Tra le 2 subunità proteiche integrali del braccio immerso nella membrana sono correlate ad antiporto  $Na^+ - H^+$  e si pensa siano responsabili del pompaggio di 3 protoni.

La 4<sup>a</sup> subunità del braccio immerso nella membrana, quella più vicina al sito di legame a ubiquinone probabilmente è responsabile del 4<sup>a</sup> protone pompato.

## • COMPLESSO II

dicinato succinato deidrogenasi.

È l'unico enzima del ciclo di Krebs legato alla membrana mitocondriale interna.

Accoppia ox succinato a riduce ubiquinone.

Questo complesso contiene 5 gruppi prostetici (di zinco) e 4 subunità proteiche.

→ subunità C e D contengono 1 gruppo eme b e un sito di legame x ubiquinone (protezione da radicali liberi)

→ subunità A e B si estendono nella matrice e contengono 3 centri 2Fe-2S, 1 FAD legato covalentemente a un sito di legame x il substrato (succinato)

In questo trasferimento di  $e^-$  non è prodotto ATP né pompato  $H^+$ .

## • COMPLESSO III

dicinato complesso del citocromo bc<sub>1</sub> o ubiquinol-citocromo ossidasi riduttasi.

Accoppia trasferimento  $e^-$  da ubiquinol → citocromo c, con il trasporto di  $H^+$  da matrice a spazio intermembrana.

L'unità funzionale del complesso è un dimerico.

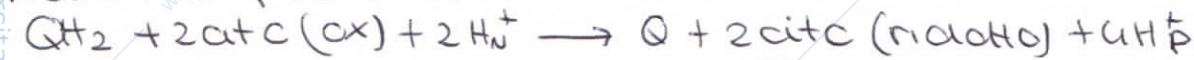
Ogni monomero è formato da 3 proteine:

- citocromo b
- citocromo c<sub>1</sub>
- proteina Fe-S di Rieske

**cielo Q** spiega il ruolo dell'ubiquinol (Q) nella conservazione dell'energia.

mentre  $e^-$  si sposta da QH<sub>2</sub> a complesso III, QH<sub>2</sub> si ossida rilasciando  $H^+$  su un lato della membrana (sito Q<sub>p</sub>), mentre sull'altro lato (Q<sub>n</sub>) viene ridotto e sono accettati  $H^+$ .

Redox complessiva del cielo Q:



→ media il trasferimento di  $e^-$  da un trasportatore a 2  $e^-$  trasportatori di 1 solo  $e^-$  (gruppi eme b<sub>L</sub> e b<sub>H</sub>)

Sul lato N della matrice sono acquisiti due  $H^+$ , sul lato P (spazio intermembrana) sono rilasciati 4  $H^+$  per ogni coppia di  $e^-$  che passa per il complesso III ed è trasferita al citocromo c. 2  $H^+$  sul lato P sono elettrogenici e 2 sono neutri, così sono bilanciate le due cariche del coenzima Q.

Quando il gruppo eme accetta 1  $e^-$  da complesso III, citocromo c si sposta nello spazio intermembrana verso il complesso IV.

## • COMPLESSO IV

dicinato ossidasi citocromo, trasporta  $e^-$  da citocromo c a O<sub>2</sub> molecolare, riducendolo a H<sub>2</sub>O.

Questo complesso è un enzima dimerico e ogni monomero ha 13 subunità.

La subunità II contiene 2 Cu che formano complessi con SH- di 2 Cys in un centro binucleare simile ai centri

2 Fe-2 S delle proteine Fe-S  
 la subunità I contiene 2 gruppi eue,  $\underline{a}_1$  e  $\underline{a}_3$ , e uno ioe rameico (CuB)  
 l'eue  $\underline{a}_3$  e il CuB formano un secondo centro binucleare, che accetta  $e^-$  dal gruppo eue  $\underline{a}_1$  e li trasferisce all' $O_2$  e che si lega al gruppo eue  $\underline{a}_3$

Il trasferimento degli  $e^-$  attraverso il complesso IV procede dal citocromo c al centro CuA, al gruppo eue  $\underline{a}_1$ , al centro  $\underline{a}_3$ -CuB e infine all' $O_2$ .

Ogni volta  $2e^-$  attraverso questo complesso, l'enzima preleva  $2H^+$  dalla matrice (lato N) e converte  $\frac{1}{2} O_2$  in  $H_2O$ .  
 Il complesso usa  $e^-$  di questa redox e produce  $2H^+$  nello spazio intermembrana (lato P) e ogni coppia di  $e^-$  che lo attraversa.

La reazione intera è:  
 $2atc (ridotti) + 4H^+ + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow 2atc (ox) + 2H^+ + H_2O$   
 e richiede l'ox di  $QH_2$  che a sua volta necessita l'ox di NADH o succinato.

Nei mitocondri i complessi respiratori si associano tra di loro nella membrana interna, formando combinazioni funzionali di 2 o + trasportatori di  $e^-$  → **RESPIROSOMI**

La cinetica del flusso di  $e^-$  attraverso la serie di complessi respiratori potrebbe essere molto diversa nei 2 casi di un supercomplesso e di complessi non associati.  
 Le cinetiche osservate suggeriscono che il trasferimento avvenga allo stato solido, prevedendo l'esistenza di respirasomi.

**Altre vie cedano  $e^-$  alla catena respiratoria con ubiquinone**

- La tappa della  $\beta$ -ox degli Acil-CoA, catalizzata da Acil-CoA deidrogenasi, gli  $e^-$  sono trasferiti dal substrato al FAD della deidrogenasi, poi a ETF.

Questa poss  $e^-$  alla ETF-ubichinone ossidoreduttasi, che riduce  $Q \rightarrow QH_2$ , nella membrana mitocondriale interna.

- Il glicerolo 3P che si forma dal glicerolo rilasciato dalle idrolisi dei trigliceridi o dalla riduzione del diacromacetato nella glicolisi, viene ox dalla glicerolo-3P deidrogenasi, che sta sulla faccia esterna della membrana mitoc. interna. l'acceptore di  $e^-$  è  $Q$  e il  $QH_2$  entra nel pool di  $QH_2$  che sta nella membrana.

- Nella sintesi delle piramidine, la diidrossotato deidrogenasi (sulla membrana mitoc. interna, sulla parte esterna), dona  $e^-$  a  $Q$  nella catena respiratoria

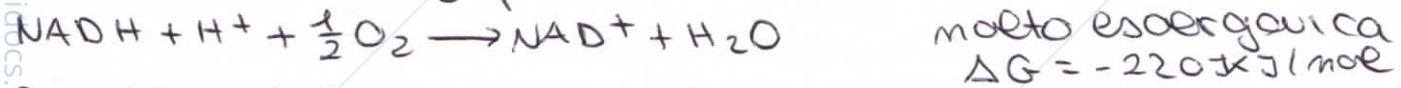
L'ENERGIA ASSOCIATA AL TRASPORTO di  $e^-$  È CONSERVATA... (6)

L'energia libera generata dal trasferimento di  $e^-$  da  $FADH_2$  e  $NADH$  a  $O_2$ , attraverso proteine associate a centri redox, è accoppiata alla produzione di ATP.

$$\Delta E = E^\circ (e^- \text{ accettore}) - E^\circ (e^- \text{ donatore})$$

Da ox  $NADH$   $\Delta G = -218 \text{ kJ/mole}$ , per atp serve  $30,5 \text{ kJ/mole}$   
 → otteniamo molta ATP

Il trasferimento di  $2e^-$  che attraverso la catena respiratoria da  $NADH$  all' $O_2$  può essere riassunta così:

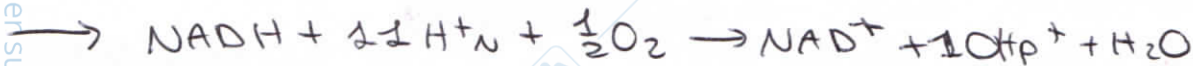


Per l'ox del succinato  $\Delta G = -150 \text{ kJ/mole}$

2) pt. energia prodotta è usata x pompare  $H^+$  fuori dalla matrice mitocondriale.

X ogni coppia di  $e^-$  trasferiti a  $O_2$  vengono trasferiti dalla matrice allo spazio intermembrana:

- $4H^+$  da complesso I
- $4H^+$  da complesso III
- $2H^+$  da complesso IV



Costi e conservata molta  $e^-$  libera.

L' $e^-$  conservata in questo gradiente è detta **forza motrice protonica**, ed è formata da 2 componenti:

1)  $e^-$  potenziale chimica dovuta a differenza di concentrazione di una specie chimica ( $H^+$ ) nelle due regioni separate da una membrana

2)  $e^-$  del potenziale elettrico che si genera nella separazione delle cariche.

Quando i protoni fluiscono spontaneamente secondo il gradiente elettrochimico, questa energia è resa disponibile x produrre lavoro.

Nei mitocondri./cloroplasti/ M.O. aerobici, l'energia elettrochimica del gradiente protonico porta a sintesi di ATP da  $ADP + P_i$ .

**DURANTE LA FOSFORILAZIONE OX SI GENERANO ROS** (7)  
Durante il trasferimento di  $e^-$  dal  $QH_2$  al complesso III ed al complesso I al  $QH_2$  si forma come intermedio il radicale  $\cdot Q^-$ . Il  $\cdot Q^-$  può passare un  $e^-$  all' $O_2$ , dove se la probabilità che ciò avvenga è bassa, in base alla reazione:  
 $O_2 + e^- \rightarrow \cdot O_2^-$  ← estremamente reattivo

La sua formazione porta alla produzione di  $\cdot OH$ , ancora + reattivo.

Le specie reattive dell'ossigeno (ROS) sono molto distruttive poiché reagiscono e danneggiano enzimi, lipidi di membrana e Acidi nucleici.

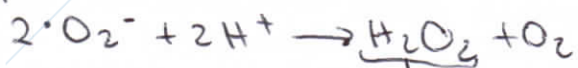
La concentrazione dei ROS è solitamente circa 0,2%

La sua formazione è favorita quando:

- i mitocondri non stanno producendo ATP (x mancanza di ADP) e quindi hanno una grande forza motrice protonica e un alto rapporto  $QH_2/Q$

- Nella matrice il rapporto  $NADH/NAD^+$  è elevato.

Per impedire gli effetti dannosi dei ROS le cellule hanno **superossido dismutasi**, che fa la reazione:



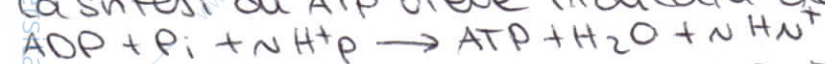
Detox da **glutatie perossidasi**, che riduce il glutatie ossidato e lo trasforma nella forma ridotta, usando  $e^-$  e NADH.

## LA SINTESI DELL'ATP

Il trasferimento degli  $e^-$  lungo la catena respiratoria rilascia  $e^-$  libera sufficiente a produrre ATP.

Secondo il modello **chemiosmotico**, l'energia elettrodinamica contenuta nella diff. di concentrazione protonica e nella separazione delle cariche attraverso la membrana mitocondriale interna, cioè la forza motrice protonica, porta alla sintesi di ATP quando il flusso di  $H^+$  inverte direzione e  $H^+$  tornano nella matrice grazie a **ATP sintasi** (canale protonico).

La sintesi di ATP viene indicata dalla reazione:



Il processo di sintesi dell'ATP è accoppiata al flusso di  $e^-$ , e viceversa.

Quando è bloccato il ritorno dei protoni nella matrice grazie a canale ATP-sintetasi, ed loro continua estrusione genera  $\uparrow$  del gradiente protonico che blocca il pompaggio protonico contro gradiente  $\rightarrow$  flusso elettronico si deve arrestare e si raggiunge equilibrio.

In alcune condizioni l'Ox e la fosforilazione sono disaccoppiate.  
 $\rightarrow$  Es: con Acidi deboli / I drogabili.

## L'ATP SINTASI

È un ATPasi di tipo F ed è un grande complesso enzimatico della membrana mitocondriale interna.

Catalizza la formazione di ATP da  $ADP + P_i$ , tramite il flusso

Prototonico del lato P al lato N della membrana.  
L'ATP sintasi, o complesso V, è fatto da 2 componenti:

-  $F_1$ : proteina periferica di membrana

-  $F_0$ : proteina integrale di membrana

↳ indica la sua sensibilità a oligomicina.

$F_0$  ha un canale per i protoni attraverso cui questi ioni possono passare a v. pari a quella del pompaggio mediato dal trasferimento degli  $e^-$ .

La  $F_1$  catalizza l'idrolisi di ATP se in vitro e isolata (inizialmente chiamata  $F_1ATPasi$ ).

Se  $F_1$  si riasocia a  $F_0$  riacquista capacità di accoppiare il trasferimento di  $e^-$  di sintesi ATP.

Sulla superficie dell'enzima la reazione  $ADP + P_i \rightarrow ATP + H_2O$

ha  $\Delta G$  vicino a 0, quindi è facilmente reversibile.

La  $K_{eq}$  è 2,4, e ciò contrasta con la  $K_{eq}$  di circa  $10^5$ , per l'idrolisi di ATP libero in soluzione.

↳ ATP sintasi rende l'ATP stabile rispetto ad ADP e  $P_i$ , legandolo saldamente e ATP e fornendo così l'energia necessaria a controllare quella richiesta x la sintesi di ATP.

L'ATP non sintetizzato lascia però la superficie dell'enzima solo se c'è gradiente protonico.

Per la continua sintesi di ATP l'enzima deve fare un ciclo tra una forma che lega saldamente l'ATP e una che lo rilascia.

Ogni complesso  $F_1$  è fatto da 3 subunità di 5 tipi diversi:

$\alpha_3 \beta_3 \gamma \delta \epsilon$

Ogni subunità  $\beta$  ha un sito catalitico x la sintesi di ATP.  $F_1$  è a forma di parallelepipedo e subunità  $\alpha$  e  $\beta$  si alternano a spirali di oracidi.

Il  $\gamma$  gira da asse lungo tutto  $F_1$  e un altro  $\gamma$  è associato a una delle 3 subunità  $\beta$  (subunità  $\beta$  morta).

↳ sequenze  $\beta$  hanno la stessa sequenza ma configurazione  $\neq$  x il legame di 1 alla  $\gamma$ .

↳ ciò si riflette nei loro siti di legame con ATP e ADP

- 1  $\beta$  è legato a ATP

- 1  $\beta$  è legato a ADP

- 1  $\beta$  è morto

$F_0$  è un canale protonico fatto da 3 subunità:  $a, b_2, c_n$

dove  $n$  varia da 8 a 15.

La subunità  $c$  è un polipeptide di piccole dimensioni e molto idrofobico, fatto da 2 eliche transmembrana + piccola coda che fuoriesce dal lato della membrana rivolto vs la matrice.

Le subunità  $c$  dell'anello  $c$  ruotano insieme come un'unica unità intorno a un asse  $\perp$  alla membrana.

Le subunità  $\epsilon$  e  $\gamma$  di  $F_1$  costruiscono una struttura "globale e rigida" che si proietta da basso all'alto.

La subunità  $a$  è fatta da eliche idrofobiche che attraversano la membrana in associazione a 1 subunità  $c$  dell'anello  $c$

la membrana in associazione a 1 subunità  $c$  dell'anello  $c$

# LA CATAUSI ROTAZIONALE

Modello proposto da Boyer

Studiando la cinetica delle reazioni catalizzate da  $F_1F_0$  hanno mostrato un meccanismo di catalisi rotazionale dove i 3 siti attivi di  $F_1$  catalizzano a turno la sintesi di ATP.

- una subunità  $\beta$  inizia catalisi in conformazione  $\beta$ -ADP e recuperando  $P_i$  dall'ambiente.
- subunità cambia conformazione diventando  $\beta$ -ATP legata in modo stabile e' ATP.
- subunità modifica la sua conformazione diventando  $\beta$ -motà: borsa agginta x ATP costringe le molecole a lasciare e' evulsa.

Queste modifiche conformazionali sono dovute al passaggio di  $H^+$  attraverso  $F_0$  dell'ATP sintasi.

$\rightarrow H^+$  attraversando il poro di  $F_0$  provocando la rotazione del cilindro costituito da subunità  $c$  e  $y$  associate intorno all'asse  $d$  alla pila della membrana, fatto da  $y$ .

La subunità  $y$  attraversa il centro della struttura sferoidale  $\alpha_3\beta_3$ , fissata da subunità  $b_2$  e  $s$ .

Ogni rotazione di  $120^\circ$  pone  $y$  in contatto con una  $\beta$  subunità  $\beta$ , e ciò costringe la subunità  $\beta$  a diventare  $\beta$ -motà.

Così ogni rotazione comporta di  $y$  ogni subunità  $\beta$  coppia  $\beta$  a passare le 3 possibili conformazioni, e x ogni rotazione sono sintetizzate e rilasciate 3 ATP.

Questo modello di alterazione del legame fa pensare che la subunità  $y$  possa ruotare in una direzione opposta quando  $F_1F_0$  sta sintetizzando ATP e nella direzione opposta quando sta idrolizzando ATP.

Come produce il movimento rotatorio il flusso protonico?

Le singole subunità presenti in  $F_0$  sono disposte a cerchio intorno a un nucleo centrale riempito di lipidi di membrana.

Ciascuna subunità  $c$  ha un residuo di ASP (o glut) essenziale, situato circa al centro della membrana.

Gli  $H^+$  attraversano la membrana lungo una via fatta dalle subunità  $a$  e  $c$ .

$\rightarrow$  subunità  $a$  parte dal lato P (citosol) al centro della membrana e termina vicino al residuo di ASP della subunità  $c$  adiacente (è un semicanale).

In  $H^+$  attraversa il semicanale diffondendo dal lato P e lega e' ASP, annullando la carica  $\ominus$  del gruppo carbonilico: così si sposta un Arg carico  $\oplus$  che era dissociato all'ASP.

Il residuo di Arg fa interazione ionica con ASP della subunità  $c$  adiacente dell'altro, e rimuove e'  $H^+$  da esso.

$H^+$  esce attraverso il 2° canale raggiungendo il lato N, dove la sua concentrazione è abbastanza bassa.

→ completa così il movimento di un equivalente di  $H^+$  da esterno a interno della matrice.

Nel frattempo un  $H^+$  entra nel semicanale sul lato P, rigateando lo stesso procedimento del precedente. Il movimento rotatorio dell'anello  $c$  è il risultato dei moti termici, resi unidirezionali dalla grande differenza di  $[H^+]$  tra le due facce della membrana. n° di  $H^+$  che deve essere trasferito x produrre la rotazione completa dell'anello  $c$  è  $\leq$  al n° di subunità  $c$  presenti nell'anello.

Il rapporto P/O o P/2e prima si pensava fosse un n° intero, dopo teoria chemiosmotica si può ipotizzare che non sia per forza un n° intero.

Il n° di protoni pompati fuori x coppia di  $e^-$  è 4 per il NADH e 6 x  $e^-$   $FADH_2$  (succinato). Inoltre il numero di  $H^+$  necessario per fare un ATP è 4: 1 x trasporto  $P_i$ , ATP e ADP attraverso la membrana mitocondriale se sono pompati fuori 10  $H^+$  / 1 NADH e ne fluiscono dentro 4 x fare 1 ATP, il rapporto P/O è 2,5 x  $e^-$  NADH e 1,5 (6/4) se il donatore è  $FADH_2$ .

L'energia del gradiente protonico favorisce i processi di trasporto essenziali x fosforilazione ox.

## REGOLAZIONE della FOSFORILAZIONE

La fosforilazione ox produce la  $\text{ATP}$  generato nelle cellule aerobiche. Ox di 1 glucosio a  $CO_2$  rende circa 30/32 ATP in condizioni aerobiche. In anaerobiosi rende 2 ATP (glicolisi + fermentazione).

La concentrazione intracellulare di ADP è una misura dello stato energetico della cellula.

Un altro modo x valutare lo stato energetico della cellula è il rapporto di azione di massa del sistema ATP/ADP:  $\frac{[ATP]}{[ADP][P_i]}$  → di solito è molto elevato e quindi il sistema ATP/ADP è quasi tot fosforilato.

Quando  $\uparrow$  la demolizione dell'ATP a  $ADP + P_i$ , e aumento di ADP x la fosforilazione ox  $\uparrow$  la velocità della respirazione facendo rigenerare ATP → sintesi di ATP continua fino a quando il rapporto non raggiunge il valore max e respirazione rallenta.

In condizioni di ipossia (tipo durante attacco di B), si interrompe la catena di trasporto degli elettroni, e l'ATP sintasi interrompe la sintesi di ATP, e può addirittura (ipotetica) mente idrolizzare (facendo reazione opposta).

→ effetto impedito da una proteina INIBITRICE:  $IF_1$   
 $IF_1$  agisce come dimerico, attivo solo a  $pH < 6,5$   
→  $pH$  si abbassa se manca  $O_2$  x ke' c'è fermentazione lattica.

11  
F1 si lega ad ATP sintasi cost. non riesce a scattare in senso opposto xke' ea bloccata.

Quando O<sub>2</sub> ritorna il dimero si destabilizza e l'ATP sintasi può riprendere la sua funzione.

una prolungata assenza di O<sub>2</sub>, e quindi un prolungato stato di acidità provoca molti problemi.

Lo squilibrio tra gli elettroni che vengono dalle ox del NADH e la carenza di O<sub>2</sub>, che è l'accettore finale degli elettroni, provoca un ↑ dei ROS.

sono contrastati da:

- sistemi glutattionici perossidasi
  - inibizione mediata fosforilata della piruvato deidrogenasi
  - sostituzione di una subunità del complesso IV (COX-1) con la COX-2, più adatta a 1 possid.
- questi enzimi/proteine sono prodotti in @ quantità perché l'ipoxia ↑ la trascrizione di HIF1 che stimola la trascrizione di quei geni.

Le vie di produzione di ATP sono regolate in modo coordinato...

Le principali vie cataboliche hanno meccanismi di regolazione sovrapposti e coordinati così è autoregolata la produzione di ATP e precursori biosintetici.

La concentrazione di ATP e ADP non modula soltanto la velocità di trasferimento degli e<sup>-</sup> e della fosforilaz. Ox, ma anche quella delle:

- acido citrico
- Ox piruvato
- glicolisi.

Se ↑ il consumo di ATP ↑ la fosforilaz. Ox e la catena di trasporto. → ↑ glicolisi e piruvato.

La conversione di ADP in ATP abbassa molto la concentrazione di ADP, e diminuisce il trasporto di e<sup>-</sup> e la fosforilaz. Ox.

Anche la glicolisi e il ciclo di Krebs rallentano, xke' l'ATP è inibitore allosterico di PFK1 e piruvato deidrogenasi.

La PFK1 viene anche inibita dal citrato.

## MITOCONDRI NEED TERMOGENESI

Anche se la produzione di ATP è il ruolo principale dei mitoc. essi possono svolgere anche altri ruoli.

Es: le piante li usano x produrre odori x attirare insetti che impollinano.

## MITOCONDRI NEL TESSUTO ADIPOSO BRUNO

Nei neonati c'è un particolare tipo di tessuto adiposo bruno (BAT) dove l'ox dei nutrienti è usata x generare calore, e non ATP, x mantenere T° corporea costante.

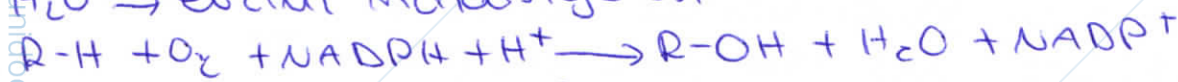
Questo tessuto ha un colore bruno, perché ci sono molti mitoc. e quindi atocromi (gruppi eme sono scuri).

I mitocondri del grasso bruno hanno una proteina particolare (12) nella loro membrana interna → proteina di accoppiate 1 (UCP1) che fa tornare i protoni nella matrice senza produrre per  $F_1F_0$ , così l'energia delle ox è dissipata come calore.

## OSSIDRILAZIONE degli STEROIDI

Nei mitocondri avvengono le reazioni di biosintesi degli ormoni steroidei → sintetizzati da reazioni di ossidrilazione catalizzate da enzimi della famiglia del **CITOCROMO P-450** (emoproteine).

Un  $O_2$  è incorporato nel substrato e il 2° è ridotto ad  $H_2O$  → enzimi monossigenasi



sono ox NADPH e R-H

Le cellule steroideogene che sono ricche di questi mitocondri.

## RUOLO DEI MITOCONDRI NELL' APOPTOSI

Apoptosi = morte cellulare programmata

→ cellule muoiono x il bene dell'organismo, il quale conserva i componenti cellulari essenziali delle cellule morte.

I mitocondri sono i upo x l'inizio delle apoptosi x che innescano un ↑ della permeabilità mitocondriale esterna, così il citocromo c esce da spazio intermembrana di atosol.

ciò è dovuto all'apertura del complesso del poro di transizione della permeabilità (PTPC) che sta su membrana esterna.

Nell'atosol il citocromo c interagisce con i monomeri della proteina **APAF-1** causando la formazione dell'**APOPTOSOMA** composto da 7 APAF-1 e 7 citocromo c.

L'apoptosoma fa da supporto su cui il proenzima procaspasi-9 è attivato a **casposi-9** (fa parte di proteasi con moleta specificata coinvolte in apoptosi → **cdspdi**).

La casposi-9 inizia una cascata di attivazione proteolitica in cui una prima cdspdi attiva una seconda, che attiva una terza e così via...

Vedi pag 345 "I geni mitocondriali: origine e mutazioni"

⊕ su word la MITOFAZIA