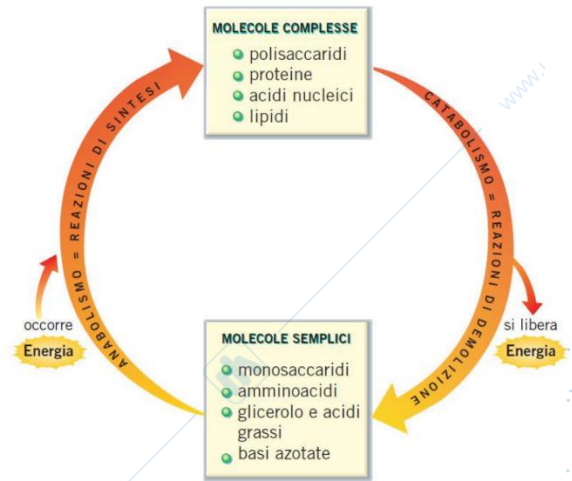


INTRODUZIONE - METABOLISMO

• Il **metabolismo** rappresenta l'insieme delle reazioni chimiche che avvengono all'interno di un organismo, correlate al funzionamento della cellula.

• Si suddivide in:

- **ANABOLISMO**: reazioni di **costruzione, sintesi** di molecole organiche **complesse** che richiedono en (riduttivo ed endoergonico)
- **CATABOLISMO**: reazioni di **demolizione** di molecole organiche **complesse, trasformate in molecole semplice**, che porta alla liberazione di en (ossidativo ed esoergonico)



• Gli organismi si dividono sulla base della **fonte di en** in:

- **FOTOTROFI** (*foto* = luce): ricavano en dalla luce del sole, per la sopravvivenza
- **CHEMIOTROFI**: ricavano l'en dalla demolizione di composti chimici

e sulla base della **fonte di C** in:

- **AUTOTROFI** (*auto* = indipendente): sono in grado di nutrirsi in modo autonomo, indipendente, di ottenere composti organici da CO₂ (C molto ossidato), si "costruiscono" da soli le molecole organiche di cui hanno bisogno
- **ETEROTROFI** (*etero* = dipendono da altri): utilizzano composti organici di altri organismi

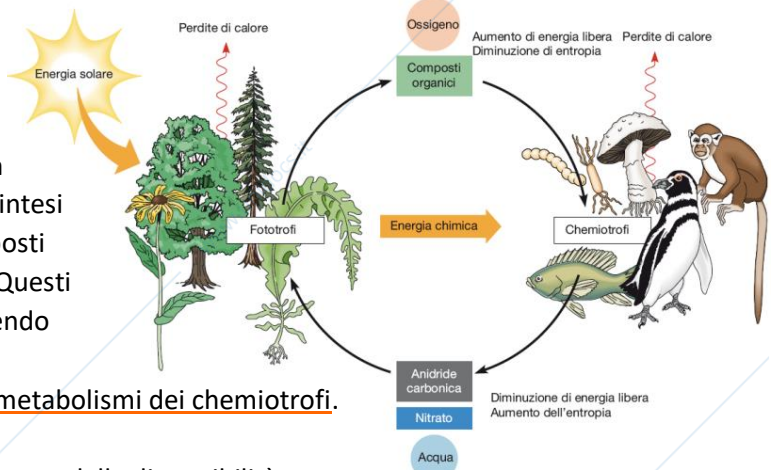
In particolare si suddividono in:

- **FOTOAUTOTROFI**: che utilizzano come fonte di C la CO₂ e come fonte di en utilizzano l'en luminosa (es. piante, cianobatteri, alghe verdi)
- **CHEMIOETEROTROFI**: ricavano C e fonte di en da molecole organiche prodotte da altri organismi (es. animali, funghi, protozoi, batteri)

I **chemioeterotrofi** ricavano en e C dalle attività dei **fotoautotrofi**.

• Nella **biosfera** si ha:

- **ciclo di en** che parte dal sole, passa dai fototrofi per arrivare ai chemiotrofi;
- **ciclo di materia**, circolare, in cui i fototrofi sono in grado di utilizzare l'en del sole attraverso la fotosintesi clorofilliana trasformandola in en chimica e composti carboniosi, per poi essere fornita ai chemiotrofi. Questi una volta deceduti, verranno decomposti restituendo composti organici che ritornano.



• Un prodotto collaterale è l'**O₂**, fondamentale per i metabolismi dei chemiotrofi.

• La **complessità delle cellule** è resa possibile unicamente dalla disponibilità e dagli scambi di energia nel e con l'ambiente esterno.

• L'**energia** è la capacità di provocare cambiamenti fisici e chimici (*lavoro di biosintesi, meccanico, di concentrazione, elettrico, calore, bioluminescenza*).

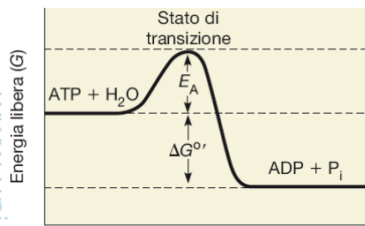
• All'interno delle cellule l'energia è fondamentale per svolgere le sue varie funzioni.

Le cellule utilizzano energia per mantenere molti reagenti e prodotti di varie reazioni a conc stazionarie, lontano dall'equilibrio termodinamico

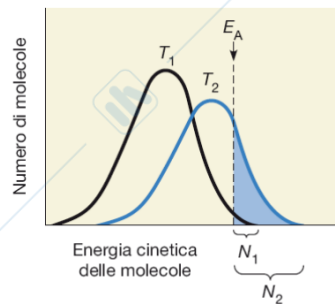
Questo permette alle reazioni di tendere *esoergonicamente* ($\Delta G > 0$, processo spontaneo che rilascia energia) verso l'equilibrio, senza mai raggiungerlo perché una cellula con tutte le reazioni all'equilibrio è una cellula morta.

1) ENERGIA DI ATTIVAZIONE E_{att}

- La maggior parte delle reazioni biologicamente importanti nella cellula ha una E_{att} **alta** (barriera energetica tra lo stato di transizione e i reagenti) pur essendo reazioni termodinamicamente favorite (stato metastabile) → **Maggiore è l' E_{att} maggiore è il tempo di reazione**



(a) Sequenza di reazione

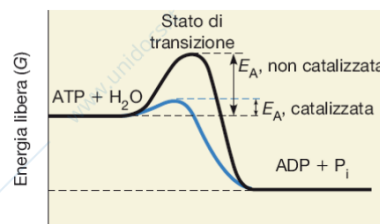


(b) Attivazione termica

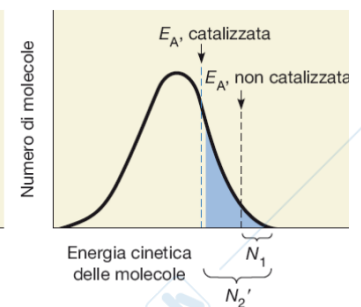
- REAZIONE ESOERGONICA:** $\Delta G > 0$, processo spontaneo che rilascia energia ($E_{reagenti} > E_{prodotti}$)
- La **porzione celeste** rappresenta le molecole che hanno energia cinetica sufficiente a passare l' E_{att} . ed è una porzione molto piccola. Aumentando la T, quindi aumentando l'en. cinetica, la gaussiana si sposta verso dx e il n° di molecole nella **porzione celeste** aumenta; non sempre è possibile aumentare la T, in quanto la maggior parte degli organismi animali sono omeotermi perciò alterazioni della T possono essere dannose questa può essere dannosa per alcuni organismi.

- Vengono quindi utilizzati dei catalizzatori, in particolare degli **enzimi** che fornendo un meccanismo diverso di reazione **abbassano E_{att} , aumenta la v di reazione, diminuiscono i tempi di reazione, stabilizzano lo stato di transizione** e l' ΔE risulta essere minore.

- Sebbene la T sia la stessa, la **porzione celeste** è maggiore, perciò maggiore è il n° di molecole che reagiscono rispetto alla reazione non catalizzata.



(c) Sequenza di reazione con catalizzatore



(d) Attivazione catalitica

2) ENZIMI

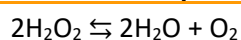
- Gli **enzimi**, strutturalmente e chimicamente, sono costituiti da **proteine** (di solito proteine globulari molto grandi, composte da molti aminoacidi) o **RNA**; il loro n° è molto elevato ma se ne conoscono pochi e non tutti sono stati caratterizzati.

Il loro ruolo principale è quello di essere **catalizzatori biologici**, ovvero **specie chimiche che aumentano la velocità di una reazione abbassando l' E_{att}** .

- Alcuni enzimi possono essere *proteine semplici* (solo aminoacidi) oppure *coniugate* (lipoproteine, glicoproteine, metalloproteine).
- Gli enzimi nel nostro organismo si trovano ovunque: citoplasma, mitocondri, pancreas, possono essere enzimi digestivi nello stomaco... e servono per tutte le reazioni che avvengono in tutti gli organismi.

• **Caratteristiche enzimi:**

- devono essere **presenti ed efficaci**, devono poter reagire anche se in piccole quantità rispetto ai substrati che reagiscono;
- formano **complessi transitori e reversibili** con le molecole di substrato facilitando la loro interazione e stabilizzando lo stato di transizione **senza risultare modificati o consumati** al procedere della reazione;
- lascia la termodinamica così com'è, **non influenzano l'equilibrio di una reazione chimica reversibile:**



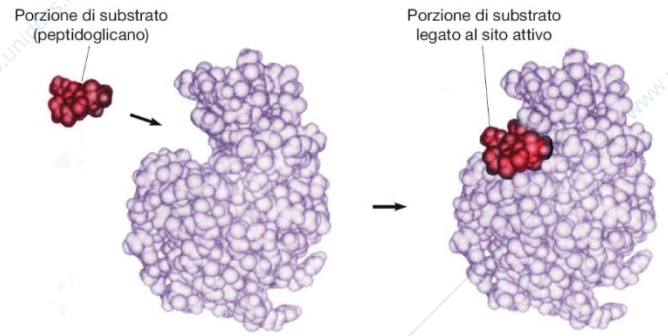
es. *catalasi*: enzima che aumenta la velocità della decomposizione di H_2O_2 di 100milioni di volte.

- hanno un **elevato grado di specificità**, sanno riconoscere a volte in maniera assoluta, i substrati, con uno solo o con più simili

- Vi sono altre molecole di RNA che catalizzano le reazioni (es. formazione del legame peptidico, a livello del ribosoma, viene catalizzata da r-RNA).

2a) SITO ATTIVO E LEGAME CON IL SUBSTRATO

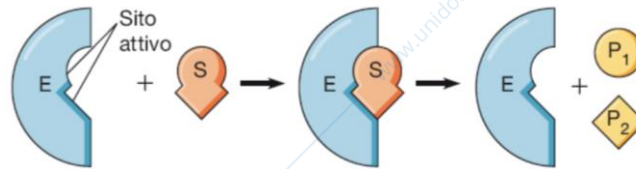
- Gli enzimi sono caratterizzati dalla presenza di un **sito attivo**, zona molto piccola (come una *taschina*) in cui avviene la reazione e dove viene legato il **substrato** (es. **peptidoglicano** che si lega al sito attivo del **lisozima**).
- Il sito attivo è costituito da aminoacidi con struttura 3°.
- Il sito attivo ha un'elevata **specificità di substrato** mentre vi sono enzimi che hanno una **specificità di gruppo** (es. proteasi tra cui la *trixina* secreta a livello intestinale e che rompe tutti i legami peptidici di tutte proteine a prescindere dal tipo).



- Per quanto riguarda il substrato sono stati formulati due modelli:

➤ MODELLO CHIAVE-SERRATURA (Fisher - 1894)

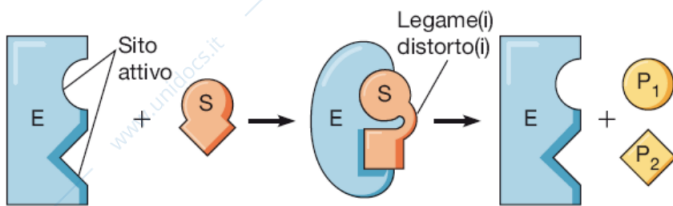
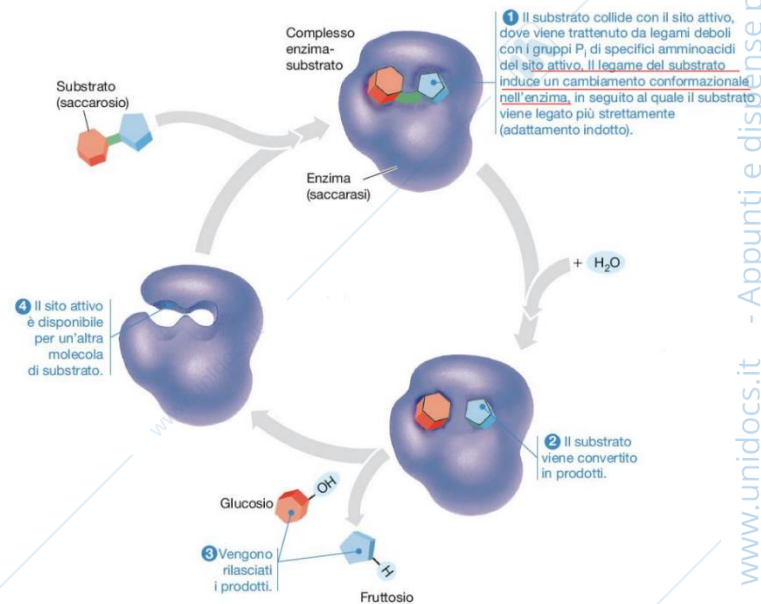
La molecola di **enzima (E)** era considerata come una struttura rigida, con un sito attivo **perfettamente complementare** alla struttura del suo **substrato (S)**, proprio come una chiave con una serratura. La reazione che avviene nel sito attivo porta alla formazione del complesso enzima-substrato per poi trasformarlo in **prodotti (P₁ e P₂)**



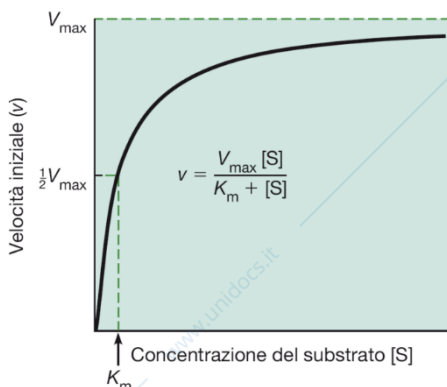
➤ MODELLO DELL'ADATTAMENTO INDOTTO (Koshland - 1958)

Il legame di una molecola di **substrato (S)** al sito attivo di un enzima, induce un **cambiamento conformazionale** nella molecola di **enzima (E)**, che posiziona i gruppi reattivi nel sito attivo in modo ottimale per le reazioni di catalisi.

Inoltre, il più stretto adattamento E-S distorce 1 o + legami del **substrato (S)**, rendendo perciò questi legami più suscettibili all'attacco catalitico. Quindi attiva il substrato con trasferimento di p⁺ e e⁻.



2b) CINETICA ENZIMATICA – EFFETTO DELLA CONC DEL SUBSTRATO (equazione di Michaelis-Menten)



- La **cinetica enzimatica** è lo **studio della velocità delle reazioni catalizzate da enzimi**.
- Nel grafico:
 - a basse [S], V aumenta **linearmente** con l'aumento di [S]
 - ad alte [S], C aumenta sempre meno con l'aumento di [S], in modo **iperbolico**, avvicinandosi ad una V_{max}

K_m: **costante di Michaelis-Menten**, esprime l'**affinità** dell'enzima per il substrato, la forza attrattiva tra E e S e dipende dal tipo di S, dal pH, dalla T e dalla forza ionica dei composti.

2c) INIBIZIONE ENZIMATICA

• L'**inibizione enzimatica** è un meccanismo regolatorio nel quale gli inibitori (specifiche molecole o ioni) si legano all'enzima e ne provocano un **rallentamento** o l'**arresto** della sua attività catalitica.

➤ INIBIZIONE IRREVERSIBILE

L'**I** si lega al sito attivo dell'**E** in un modo talmente stabile (attraverso legami covalenti, forti) che l'**E** non può più tornare alle condizioni iniziali, perdendo le sue capacità (es. l'aspirina è un I irreversibile degli enzimi ciclossigenasi 1 e 2, implicati nella formazione di molecole infiammatorie).

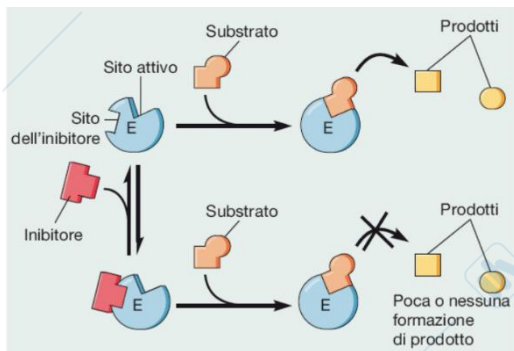
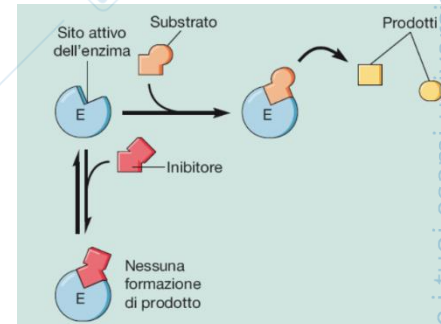
➤ INIBIZIONE REVERSIBILE

L'**I** si lega al sito attivo dell'**E** in un modo non covalente, in modo che il legame possa rompersi e l'**E** possa riprendere la propria attività catalitica.

→ INIBIZIONE COMPETITIVA

L'**I** e il **S** si possono legare entrambi al sito attivo dell'**E** perché entrambi hanno struttura molto simile, in modo da "competersi" il sito attivo. Il legame dell'**I** impedisce il legame del **S**.

Può essere vinta aumentando la conc del **S**.



→ INIBIZIONE NON COMPETITIVA

L'**I** e il **S** si legano a siti diversi, perciò possono legarsi simultaneamente, riducendo l'attività catalitica dell'**E**. Più precisamente riduce il **n° di Turnover** (n° di molecole di substrato che vengono trasformate nell'unità di tempo).

Perciò, il legame dell'**I** distorce l'**E** e diminuisce la probabilità di legame del **S**.

Non può essere vinta dall'aumento della conc del **S**, perché viene compromessa la capacità di **E**.

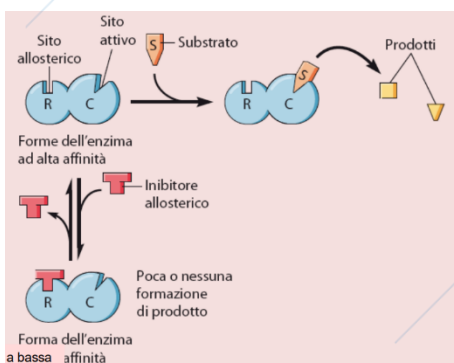
2d) REGOLAZIONE ALLOSTERICA

• Un **enzima allosterico** è una proteina con struttura 4°, multimeriche, che ha oltre al sito attivo (subunità catalitiche), altri siti detti **siti allosterici** (subunità regolatorie).

• Un **effettore allosterico** è una piccola molecola organica che regola l'attività di un **E**, modificandone il sito attivo, di cui non è né il **S** né il **P** immediato.

→ INIBIZIONE A FEED-BACK o da prodotto finale

La regolazione enzimatica a feedback avviene in presenza di reazioni concatenate, in vie metaboliche dove il **P** è un **I** (**feedback negativo**) o un **A** (**feedback positivo**) dell'**E** iniziale.

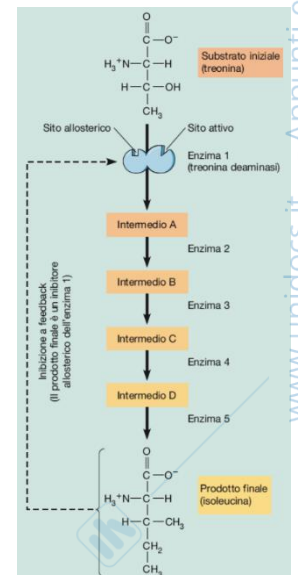
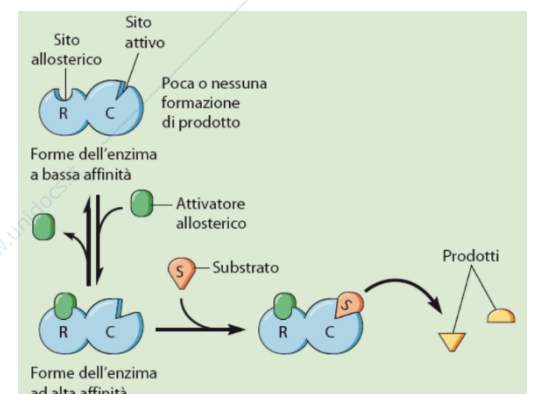


→ INIBIZIONE ALLOSTERICA

Un **E** soggetto a **inibizione allosterica** è attivo nella forma non complessata, che ha alta affinità per il suo **S**. Il legame di un **I allosterico** stabilizza l'**E** nella sua forma a bassa affinità, determinando una diminuzione o un blocco dell'attività

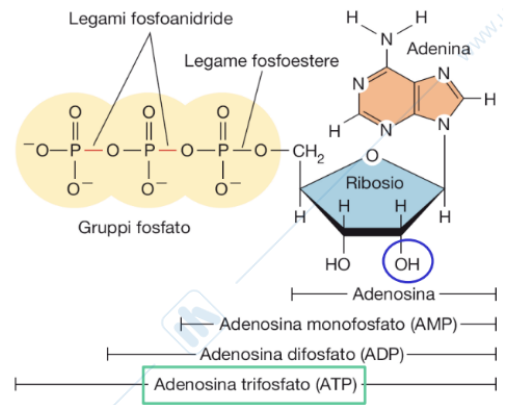
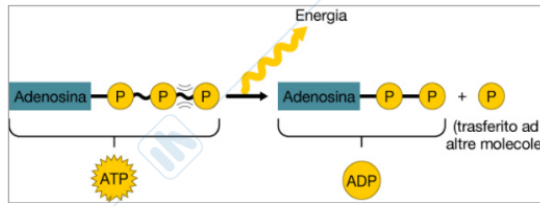
→ ATTIVAZIONE ALLOSTERICA

Un **E** soggetto ad **attivazione allosterica** è attivo nella forma non complessata, che ha bassa affinità per il suo **S**. Il legame di un **A allosterico** stabilizza l'**E** nella sua forma ad alta affinità, determinando l'attività dell'**E**.



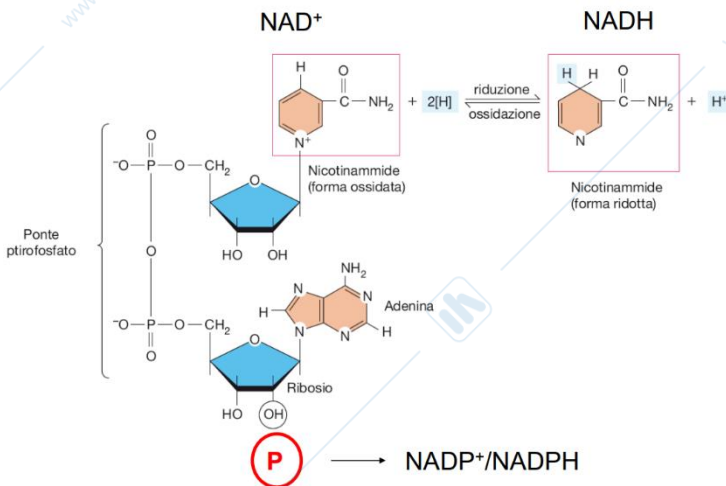
3) ATP

L'ATP (Adenosina Trifosfato) è un nucleotide ed è la più imp molecola energetica della cellula, universale, in quanto viene utilizzata da tutti gli organismi viventi. Quando questi necessitano di en vengono rotti i **legami fosfoanidridici** che legano i gruppi P tra loro e la loro rottura libera un'elevata quantità di en.



4) COENZIMI

- I **coenzimi** sono la parte non proteica, la parte organica dell'enzima che fanno avvenire la vera e propria reazione.
- Nel corso della reazione, i coenzimi si modificano, a differenza dell'enzima, in quanto reagisce con i g. funzionali.
- Quando sono legati a uno specifico enzima, i coenzimi acquistano una specificità assoluta per il substrato.
- I coenzimi partecipano alle redox cedendo/acquistando $2e^-$ e $2H^+$ per volta.



4a) NAD+ E NADP+

• Il coenzima più importante è il **NAD/NADP** (*Nicotinamide Adenin Dinucleotide Posfato*) che può esistere come:

- **NAD⁺**: forma ox
- **NADH + H⁺**: forma rid (trasporta 2 e⁻)
- **NADP⁺**: forma ox
- **NADPH + H⁺**: forma rid (trasporta 2 e⁻)

a seconda dell'ox/rid della parte di nicotinamide.

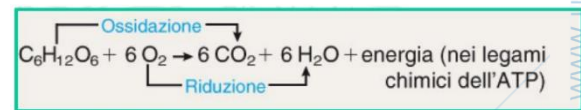


4b) FAD E FADH₂

- Il **FAD** (forma ox) e **FADH₂** (forma rid, trasporta 2⁻) partecipano alle reazioni di ossidoriduzione.

METABOLISMO CHEMIOTROFO – RESPIRAZIONE CELLULARE AEROBIA

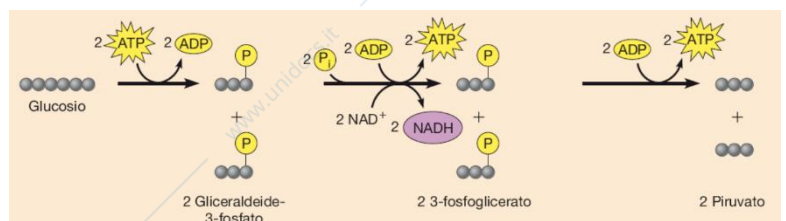
- La **respirazione cellulare** è un catabolismo in cui il glucosio viene ossidato a CO₂ (agente riducente) e l'O₂ (agente ossidante) ridotto a H₂O. Le reazioni redox forniscono en per la sintesi di ATP.

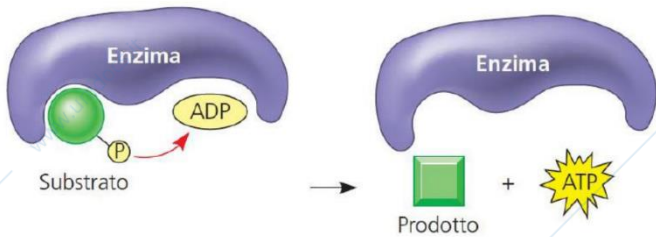


1) GLICOLISI (citoplasma)

- La **glicolisi** è il processo metabolico anaerobico, catabolico ed esoergonico, più sfruttato in natura per produrre en.
- Consiste nella scissione di 1 molecola di glucosio in 2 molecole di piruvato/a. piruvico (a seconda del pH fisiologico) al fine di generare energia: 2 molecole di ATP e 2 molecole di NADH+H⁺.
- La glicolisi è un processo formato da 10 reazioni successive divise in tre fasi:

1. **Fase di preparazione**: il glucosio viene fosforilato consumando - **2 molecole di ATP**
2. **Fase di ossidazione e produzione di ATP**: si ha la formazione di + **2 molecole di ATP** e + **2 molecole di NADH**
3. **Fase di formazione del piruvato e produzione di ATP**: si ha la formazione di + **2 molecole di ATP**



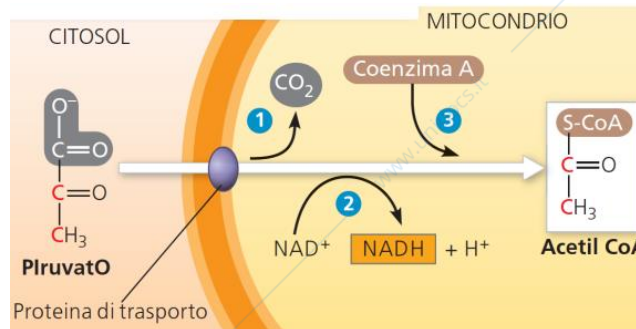
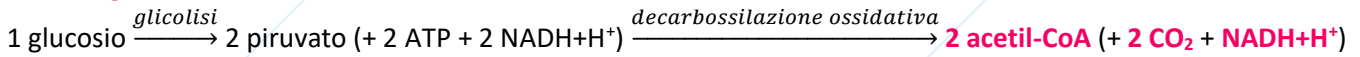


- Nella glicolisi, la formazione di ATP avviene secondo un meccanismo chiamato **fosforilazione a livello del substrato**.

2) FORMAZIONE Acetil-CoA (matrice mitocondriale)

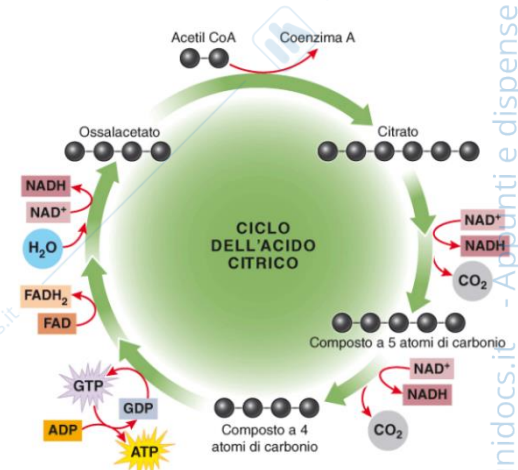
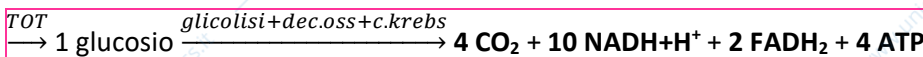
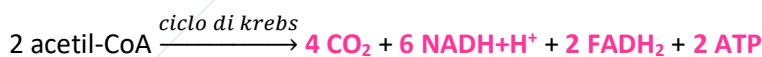
L'acido piruvico proviene dalla glicolisi ed entra nel mitocondrio mediante trasporto attivo (ha dimensioni considerevoli, è una molecola che a pH citoplasmatico è ionizzato).

Il piruvato viene ossidato mediante reazione di **decarbossilazione ossidativa** da parte della **piruvato deidrogenasi**.



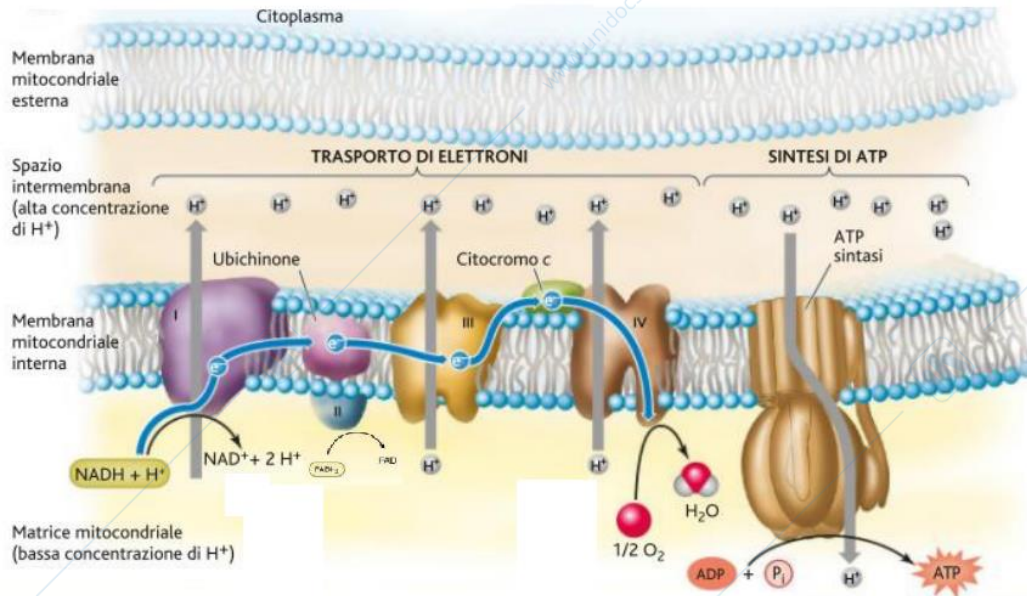
3) CICLO DI KREBS o CICLO DELL'ACIDO CITRICO (matrice mitocondriale)

- Il **ciclo di Krebs** è una **via metabolica anfibolica**: comprende sia processi catabolici (ossidativi, esoergonici) sia anabolici (riduttivi, endoergonici).
- In particolare, l'acetil-CoA entra nel ciclo legandosi all'acceptore ossalacetato (4 C) formando il citrato (6 C) che a sua volta subisce una serie di reazioni fino a riformare l'ossalacetato.



4) FOSFORILAZIONE OSSIDATIVA/CATENA DI TRASPORTO DEGLI e- (creste mitocondriali)

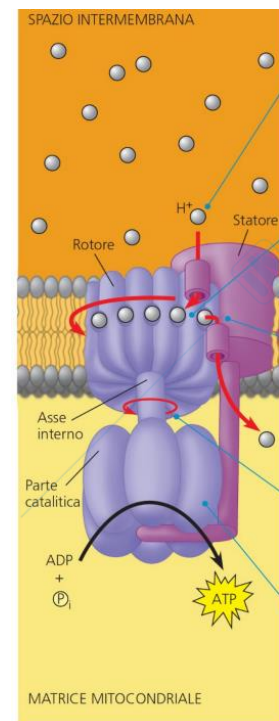
- L'en immagazzinata nei coenzimi ridotti (e gli e-) viene liberata a livello della catena respiratoria dove i coenzimi vengono riossidati (i **NADH** a **NAD** e i **FADH₂** a **FAD**) e viene trasformata in un **gradiente protonico/elettronico**, al fine di produrre ATP.
- La sintesi di ATP avviene mediante **fosforilazione ossidativa**, **vero produttore energetico della cellula**.
- Il trasferimento degli e- sulle creste mitocondriali dai coenzimi ridotti attraverso **4 complessi respiratori**, di natura proteica e inseriti nella membrana mitocondriale interna. Si ha una successione di **reazioni redox** e il trasporto è **esoergonico** in cui gli e- si muovono spontaneamente pompando ioni H+ nello spazio intermembrana, liberando in sottoforma di ATP.
- Gli e- che provengono dal **FADH₂** vengono accettati dal **complesso II**, di conseguenza l'en che rilasciano sarà minore.
- Gli e- giungono al **complesso IV** dove vi è **O₂** (forte ossidante, veleno per le cellule) che viene ridotto ad **H₂O**. Infatti questo processo è possibile se e solo se l'**O₂** è disponibile!!!



4a) ATP SINTASI

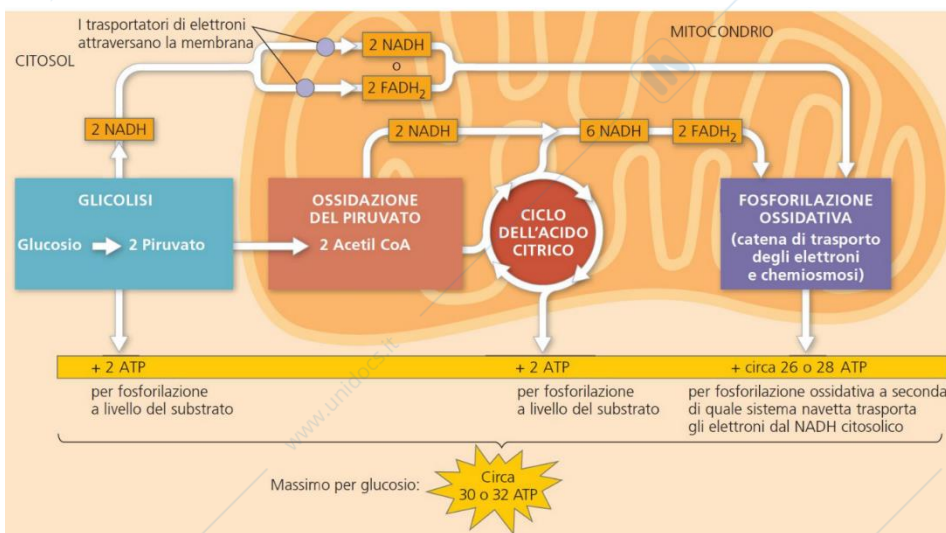
- Spostando gli H^+ dalla matrice mitocondriale allo spazio intermembrana si instaura un **gradiente elettrochimico** (diff di potenziale elettrico + diff di conc di diversi ioni H^+ presenti tra le due parti di una membrana). Data la presenza del gradiente, gli H^+ tenderanno a voler tornare indietro verso la matrice mitocondriale dove vi è minor conc di H^+ .
- Per far ciò viene utilizzato il **complesso V** o **ATP sintasi**, un'ATP-asi di tipo f che sfrutta il **gradiente protonico** (forza protomotrice, difficile è stata la sua scoperta) generato dalla catena di trasporto degli e^- per produrre ATP da $ADP+P_i$.
- L'**ATP sintasi** è costituita da due subunità:
 - **F₀**: proteina multimerica a **forma cilindrica** che costituisce il canale protonico
 - **F₁**: proteina multimerica a **forma di spicchi d'arancia**, connessa con F_0 , è il luogo di sintesi dell'ATP

Per formare l'ATP, l'**ATP sintasi** ("mulino molecolare") effettua la **catalisi rotazionale**: il cilindro ruota di **120°** al passaggio di tot H^+ e induce un **cambiamento conformazionale in F_1** . Quest'ultima poi accoglie nel suo sito $ADP+P_i$ che con la rotazione e il cambiamento conformazionale si avvicinano rendendone possibile la **condensazione ad ATP**.



- 1 Gli ioni H^+ che fluiscono secondo il loro gradiente di concentrazione penetrano nel canale di uno statore ancorato alla membrana.
- 2 Gli ioni H^+ raggiungono i siti di legame presenti in un rotore, cambiando la forma di ognuna delle subunità così da far girare il rotore all'interno della membrana.
- 3 Ogni ione H^+ fa un giro completo prima di abbandonare il rotore e passare nella matrice mitocondriale attraverso un secondo canale nello statore.
- 4 La rotazione del rotore causa la rotazione anche di un asse interno. Questo asse si estende come un peduncolo entro il sottostante rigonfiamento che viene mantenuto fermo da una parte dello statore.
- 5 La rotazione dell'asse attiva i siti catalitici presenti nel rigonfiamento che producono ATP da ADP e P_i .

5) RESA ENERGETICA RESPIRAZIONE CELLULARE



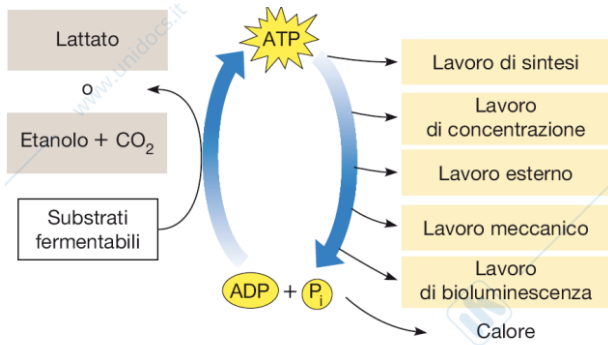
Perché 26 o 28?

I coenzimi della glicolisi possono avere una resa diversa a seconda di come vengono trasportati all'interno del mitocondrio. In particolare, vengono utilizzate delle **navette**.

Nelle cellule del *fegato* e del *rene* il sistema **navetta malato-aspartato** trasporta gli e^- dei NADH dal citosol al mitocondrio.

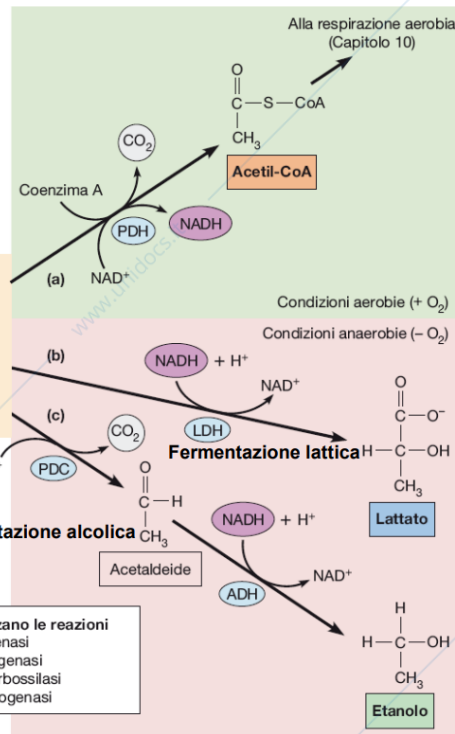
Nelle cellule del *muscolo scheletrico* e del *cervello* il sistema **navetta del glicerolo-fosfato** utilizza FAD e non NAD^+ come accettore mitocondriale di e^-

FERMENTAZIONE



- La glicolisi rappresenta una possibilità per ottenere energia, attraverso l'ossidazione del glucosio a piruvato e avviene sia in assenza sia in presenza di O₂.
- In condizione anaerobiche (assenza di O₂) o ipossiche (scarsità di O₂), una *piccola* quantità di ATP viene prodotta mediante fermentazione. I più comuni prodotti finali sono il lattato in alcuni organismi e l'etanolo.

- In particolare, viene ossidato il glucosio al piruvato, ottenendo solo **2 ATP**: la cellula necessita di coenzimi ossidati, es. NAD⁺ (che durante la glicolisi si trasforma in NADH per ossidare le molecole organiche che derivano dal glucosio), ma, non potendo utilizzare come accettore finale di e⁻ l'O₂, utilizza delle molecole organiche.



(a) Condizioni aerobiche. In presenza di ossigeno molti organismi trasformano il piruvato in una forma attivata dell'acetato nota come acetil-CoA. In questa reazione il piruvato è sia ossidato (con il NAD⁺ che viene ridotto a NADH) sia decarbossilato (liberazione di un atomo di carbonio sotto forma di CO₂). L'acetil-CoA costituisce poi il substrato della respirazione aerobica, dove NADH è riossidato a NAD⁺ dall'ossigeno molecolare (si veda il Capitolo 10).

(b) e (c) Condizioni anaerobiche. Quando l'ossigeno è assente il piruvato è ridotto cosicché NADH può essere ossidato a NAD⁺, la forma di tale coenzima richiesta nella reazione Gly-6 della glicolisi. I più comuni prodotti della riduzione del piruvato sono (b) il lattato (nella maggior parte delle cellule animali e in molti batteri) oppure (c) etanolo e CO₂ (in molte cellule vegetali, nei lieviti e in altri microrganismi).

Enzimi che catalizzano le reazioni
 ADH: Alcol deidrogenasi
 LDH: Lattato deidrogenasi
 PDC: Piruvato decarbossilasi
 PDH: Piruvato deidrogenasi

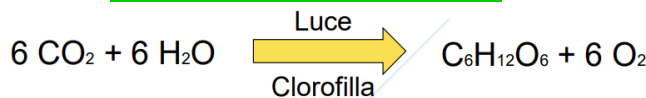
➤ FERMENTAZIONE LATTICA

- La cellula, nel citoplasma, riossida il NADH a NAD⁺ utilizzando come accettore finale il piruvato (ridotto dall'e⁻ ceduto dal NADH) che viene trasformato in acido lattico/lattato (es. muscoli sotto sforzo, ci provocano dolore per formazione di acido lattico).

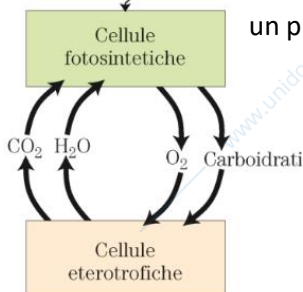
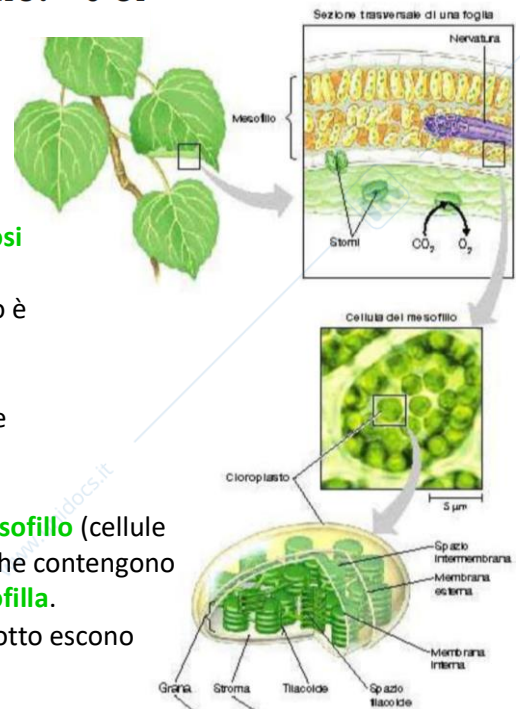
➤ FERMENTAZIONE ALCOLICA

- L'accettore finale è l'acetaldeide che deriva da una decarbossilazione del piruvato catalizzata dalla piruvatodecarbossilasi, si forma CO₂ e etanolo (es. viene effettuata dai lieviti per la produzione della birra o la lievitazione del pane).

FOTOSINTESI CLOROFILLIANA



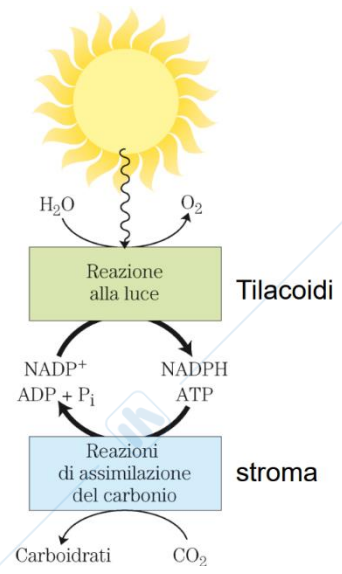
- La reazione globale è un processo di ossidoriduzione. Tale reazione è ingannevole perché dimostra cosa accade non come accade, infatti non vi è alcun trasferimento diretto né di atomi di H⁺, né di e⁻, si ha una serie di processi.



- In realtà, però, non viene prodotto glucosio ma dei **triossi** (cioè dei carboidrati a 3 atomi di C, usati come mattoncini per creare molecole più complesse, il primo è la gliceraldeide trifosfato).
- **Processo**: il sole fornisce l'energia per fissare la CO₂ in molecole organiche, in carboidrati, in cui il C è ridotto e un prodotto è l'O₂.

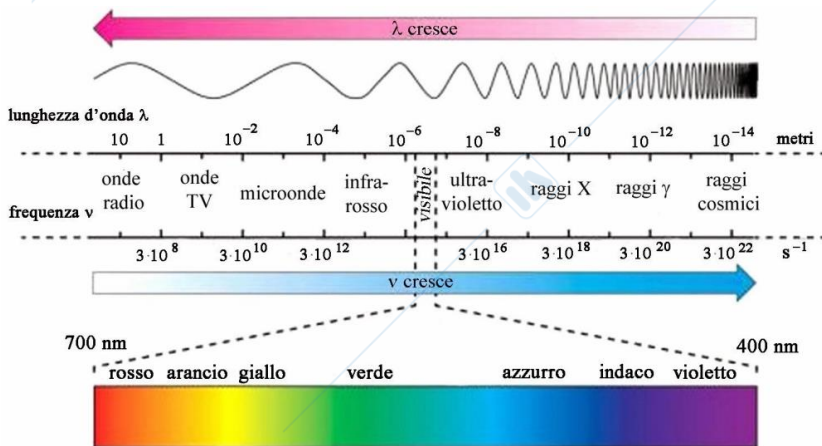
- La sede della fotosintesi sono le **cellule del mesofillo** (cellule presenti sotto lo strato epiteliale della foglia) che contengono i **cloroplasti**, verdi per l'abbondanza della **clorofilla**.
- La CO₂ necessaria per la fotosintesi e l'O₂ prodotto escono dalla foglia attraverso gli **stomi** (aperture).

- La fotosintesi può essere divisa in due processi biochimici principali:
 - **FASE LUMINOSA**: necessita della luce solare, avviene a livello del **cloroplasto**, nelle **membrane tilacoidali** dove sono presenti i **pigmenti** (es. clorofilla), in grado di assorbire la luce solare trasformata poi in ATP e in molecole di NADPH (coenzimi ridotti).
 - **FASE OSCURA/AL BUIO**: avviene nello **stroma** del cloroplasto ed è formata da una serie di reazioni che portano ad assimilare/organizzare il C, in particolare la CO₂ viene fissata (attraverso l'utilizzo dell'ATP e del NADPH prodotti in precedenza) in **molecole organiche**, nei carboidrati (gliceraldeide trifosfato)



1) FASE LUMINOSA

- A livello dei tilacoidi i pigmenti sono organizzati in strutture chiamate **fotosistemi**, attraverso i quali i pigmenti sono in grado di assorbire l'energia del sole al fine di portare all'eccitazione un e⁻ di una molecola di clorofilla, chiamata **clorofilla del centro di reazione**. Questa è in grado di **trasferire l'e⁻ eccitato**, dall'acquisizione di energia, a un'altra molecola organica, un accettore di e⁻, con lo scopo di trasformare l'energia solare in energia chimica. Tale e⁻ fluisce in un sistema di trasporto di e⁻, dove il NADP⁺ viene ridotto a **NADPH** e dove si ha produzione di energia (processo esoergonico), a sua volta immagazzinata in un **gradiente unidirezionale protonico**, che guida una ATP sintasi (**FOTOFOSFORILAZIONE**)



1a) PIGMENTI E FOTOSISTEMI

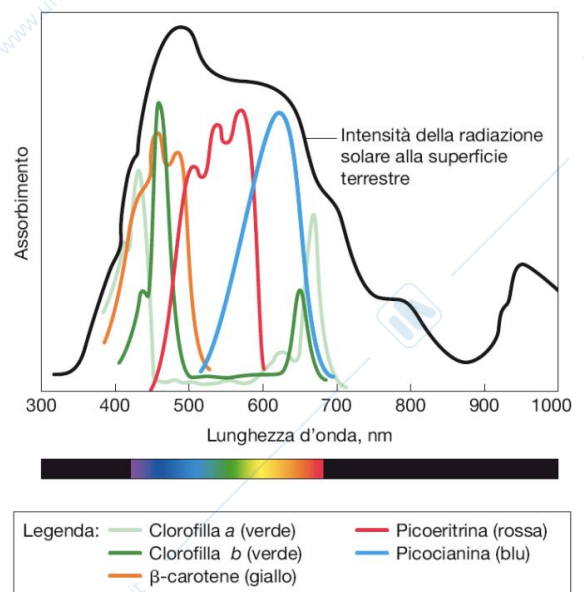
- La **luce** ha una natura corpuscolare e una **ondulatoria**.
- La natura ondulatoria si esplica nella lunghezza d'onda λ della radiazione luminosa che osserviamo. In particolare, nella fotosintesi è importante la radiazione luminosa nel visibile, compresa tra $\lambda=400$ nm e 700 nm.

- La natura corpuscolare ci dice che la luce appare costituita da particelle o pacchetti di energia chiamati **fotoni** che possiedono un quantum indivisibile di energia

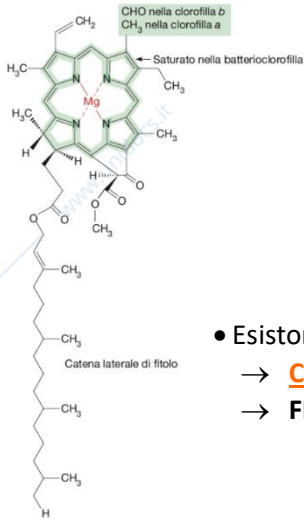
$$E = h\nu \quad \lambda = \frac{c}{\nu} \rightarrow E = h \frac{c}{\lambda}$$

Minore è la λ maggiore è la sua E : es. le radiazioni UV (400nm) hanno un'energia maggiore rispetto alle radiazioni nel rosso (700nm).

- I **pigmenti** (clorofille e pigmenti accessori) hanno picchi di assorbimento, sono in grado di assorbire/acquisire tutta l'energia del sole nello spettro del visibile, tali da comprenderlo tutto.
- L'energia acquisita da un pigmento viene utilizzata per eccitare un e⁻ del pigmento stesso (**FOTOECCITAZIONE**): ogni pigmento ha un picco specifico di assorbimento in una certa λ dello spettro del visibile, si fotoeccita.



- La **clorofilla** è formata da:
 - **anello porfirinico**, formato da legami doppi alternati a singoli, a livello del quale viene assorbita la luce e si ha la fotoeccitazione
 - **catena laterale di fitolo**, parte apolare, si inserisce nella membrana tilacoidale interagendo con i lipidi della membrana stessa.



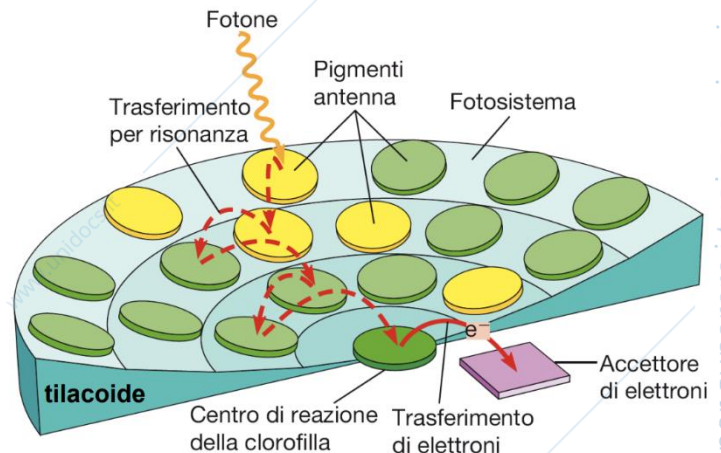
• La clorofilla può essere:

- **CLOROFILLA A**: se nell'anello porfirinico è presente un gruppo metile -CH₃, il cui spettro di assorbimento presenta un picco a 420nm nel blu e uno a 660nm nel rosso → appare **verde**
- **CLOROFILLA B**: se si ha attaccato all'anello un gruppo -CHO, ha due picchi più verso il centro del visibile.

• Esistono altri pigmenti accessori:

- **CAROTENOIDI**: assorbono nel blu (420-480nm) → appaiono **gialli** (es. β-carotene)
- **FICOBILINE**: si trovano nelle alghe rosse e nei cianobatteri)
 - **FICOERITRINA**: assorbe nel blu, verde e giallo → appare **rossa** (alghe rosse)
 - **FICOCIANINA**: assorbe fotoni nella regione arancio dello spettro → appare **blu**

• I fotosistemi sono costituiti da una serie di pigmenti detti **pigmenti antenna** (clorofille o elementi accessori), in grado di assorbire fotoni (ovviamente della λ specifica di quel pigmento).
L'energia acquisita attraverso il fotone viene 'trasferita' attraverso i vari pigmenti secondo un processo chiamato **trasferimento per risonanza**, fino a raggiungere il **centro di reazione della clorofilla**: l'unico pigmento che trasforma l'en luminosa in en chimica, che si ossida e che riesce a trasferire l'e⁻ eccitato a un'altra molecola (si riduce, per formare il NADPH).



• Nei sistemi tilacoidali sono presenti anche **sistemi LHC** (*light harvesting complex*), costituiti da molecole proteiche e da pigmenti, che però **non** hanno la clorofilla del centro di reazione quindi acquisiscono attraverso i pigmenti un grande quantitativo di en solare e la trasferiscono al fotosistema.

MECCANISMO



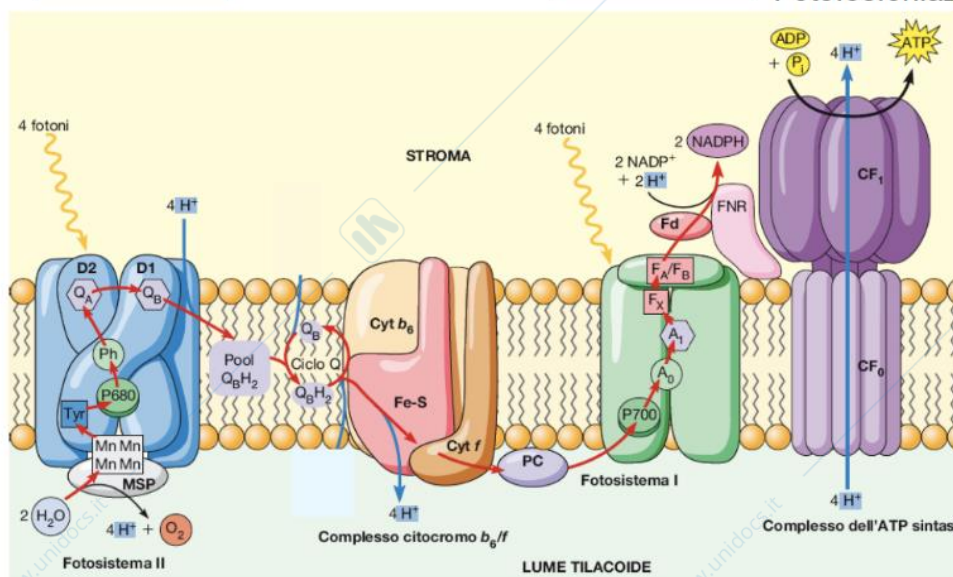
(a) PSII include 25 polipeptidi, due dei quali (D1 e D2) legano la clorofilla P680 e i componenti del sistema di trasporto degli elettroni. Il gruppo di quattro atomi di manganese favorisce l'ossidazione dell'acqua.

(b) Il complesso del citocromo *b₆/f* contiene sette polipeptidi e include due citocromi (*b₆* e *f*) e una proteina ferro-zolfo (Fe-S).

(c) PSI contiene oltre dieci polipeptidi e lega la clorofilla P700 e molti trasportatori di elettroni aggiuntivi. Gli elettroni sono trasferiti al NADPH per mezzo della ferredossina solubile (Fd) usando la ferredossina-NADP⁺ reduttasi (FNR).

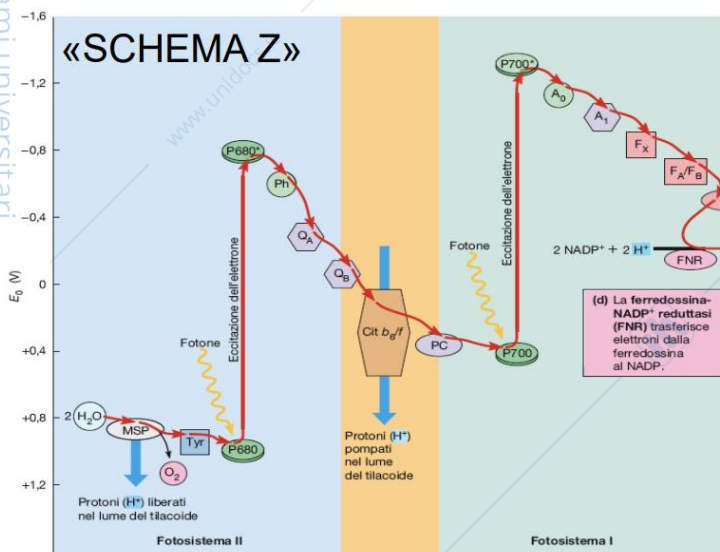
(d) Il complesso ATP sintasi usa il gradiente fotonico generato dal trasporto degli elettroni per sintetizzare ATP.

CHEMIOSMOSI Fotosintesi

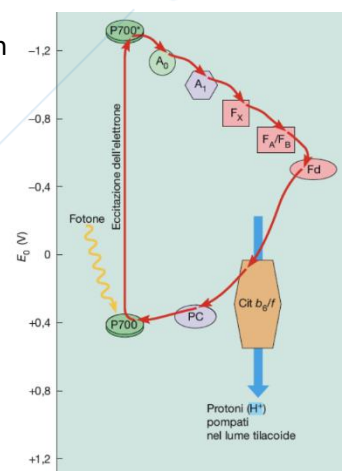


• La catena di trasporto di e⁻ coinvolge due fotosistemi che lavorano in serie: il **fotosistema II** e **fotosistema I** (nomi in base all'ordine di scoperta). In entrambi abbiamo la **clorofilla del centro di reazione** che ha un max di assorbimento a 680 nm (**P680**) nel **fotosistema II** e 700 nm (**P700**) nel **fotosistema I**.

- Associato al **fotosistema II** si ha un complesso che catalizza l'ossidazione dell' H_2O (**fotolisi**) generando uno dei prodotti della fotosintesi: O_2 .
La **clorofilla P680** del **fotosistema II** viene eccitata dall'acquisizione di un fotone che viene trasformata in energia chimica ed è in grado di cedere un e^- a un accettore (di cui ci interessa solo sapere l'esistenza) che, successivamente, viene acquisito da altri componenti della catena di trasporto degli e^- creando un flusso unidirezionale esoergonico di e^- .
- Il flusso passa a un complesso chiamato **citocromo b_6/f** , arriva alla proteina **plastocianina (PC)** e poi passa nel **fotosistema I** in cui si ha nuovamente il fotone che viene acquisito dai pigmenti, trasferito alla clorofilla del centro di reazione **P700**, la quale si eccita, si ossida, cede un e^- e si unisce al flusso di e^- . Quest'ultimo arriva fino alla **ferredossina (Fd)**, proteina solubile nello **stroma** che cede l' e^- , tramite la **ferredossina-NADP⁺ reduttasi (FNR)** che trasferisce l' e^- all'accettore finale che è $NADP^+$ ridotto a **NADPH**.
- Entrambe le clorofille del centro di reazione devono essere ridotte e in modo da poter ricominciare il trasporto di e^- : alla **P700** del **fotosistema I** viene ceduto un e^- dalla **PC**, che a sua volta proveniva dalla **P680** del **fotosistema II**, anche lei ridotta con un e^- proveniente dall'ossidazione dell' H_2O a O_2 (rilasciato nell'ambiente dagli stomi della foglia)
- L' e^- nel passare nel flusso dall' H_2O al $NADP^+$ viene **fotoeccitato due volte**: una dal **P680** a livello del **fotosistema II** e una dal **P700** a livello del **fotosistema I**.
- Il passaggio degli e^- attraverso la catena respiratoria è un processo spontaneo, esoergonico perché gli e^- fluiscono spontaneamente verso il prodotto che ha più alto potenziale di riduzione. L'energia liberata da questo trasporto viene accumulata sotto forma di un gradiente elettrochimico dovuto al pompaggio di H^+ dallo **stroma** al **lume tilacoideale**. Questo pompaggio fa sì che tra **stroma** e **lume tilacoideale** vi è una **differenza di pH di 2-3 unità** (grossa differenza di conc)
- Dentro il **lume** si accumulano protoni generando una **forza protomotrice** che viene utilizzata dall'**ATP sintasi** per creare ATP. Il complesso dell'**ATP sintasi** è costituito da due subunità:
 - **CF_0** : inserita nella membrana a **forma cilindrica** che costituisce il canale protonico, fa passare i H^+ dal **lume tilacoideale** allo stroma
 - **CF_1** : sporge nello stroma proteina multimerica a **forma di spicchi d'arancia**, connessa con F_0 , è il luogo di sintesi dell'ATP a seguito delle sue variazioni conformazionali dovute al flusso di H^+



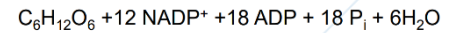
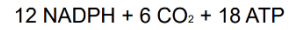
- I prodotti della fase luminosa, ovvero **NADPH** (potere riducente) e **ATP** (energia) sono rilasciati nello **stroma** per la fase oscura.
- Il trasporto **non ciclico** degli e^- dal **P680** al **P700** e al $NADP^+$ ridotto a **NADPH** rappresenta una lettera Z, infatti prende il nome di **schema Z**. Esso porta alla formazione di un uguale n° di **NADPH** e **ATP** (rapporto 1:1).
- Siccome nella cellula l'ATP serve in quantità maggiori si ha un trasporto **ciclico** di elettroni che produce ATP ma **non NADPH**: **fotofosforilazione ciclica**.



Questo ciclo coinvolge solo nel **fotosistema I**: fotoni fotoeccitano la **P700** che rilascia un e^- alla catena di trasporto fino alla **ferredossina** la quale però riporta gli e^- al **citocromo b_6/f** fino alla **P700**.
Lo scopo di questo trasporto ciclico è pompare gli H^+ nel **lume** dallo **stroma** in modo da alimentare la sintesi di ATP. Inoltre, non si ha produzione di O_2 in quanto non viene coinvolto il **fotosistema II**.

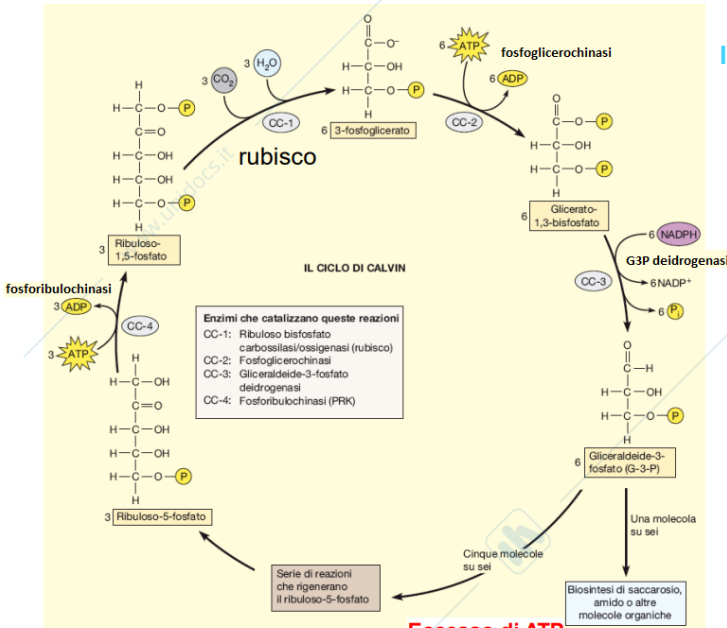
2) FASE OSCURA/AL BUIO

- Durante la **fase oscura** avvengono delle **reazioni di assimilazione del carbonio** che utilizzano il potere riducente dell'ATP per organizzare la CO₂ in carboidrati.
- Il primo a scoprire le reazioni di fissazione del carbonio fu **Malvin Calvin**, premio Nobel per la Chimica.



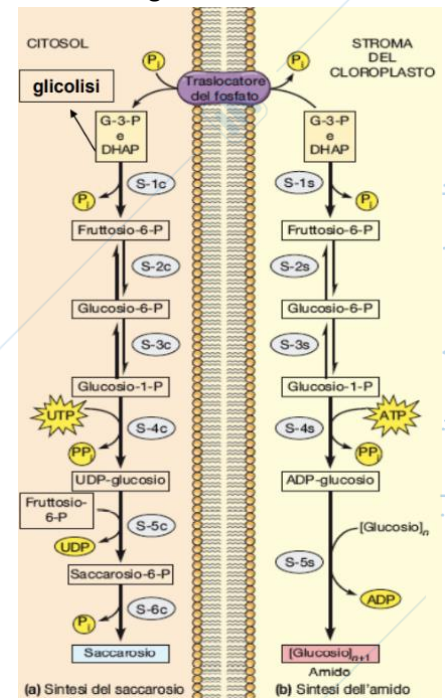
2a) CICLO DI CALVIN

- All'inizio la CO₂ viene organizzata carbossilando un accettore, il **ribuloso-1,5-bisfosfato**; l'enzima che catalizza questa reazione si chiama **rubisco** (**ribuloso-1,5-bisfosfato carbossilasi/ossigenasi**), è il più abbondante sulla Terra ed è fondamentale in quanto consente di aggiungere la CO₂ inorganica a una molecola organica.
- Il prodotto dovrebbe presentare 6 atomi di C ma ne presenta 3: questo perché la molecola a 6 non è mai stata isolata in quanto pensano sia molto instabile, perciò si ottiene 2 molecole di **3-fosfoglicerato** (prima molecola organica dopo la carbossilazione → ecco perché il *ciclo di Calvin* viene chiamato anche **VIA C3**).



IMP! → per **3 molecole di CO₂** che vengono carbossilate a **3 ribuloso-1,5-bisfosfato**, si ottengono **6 molecole di gliceraldeide-3-fosfato** ma solo **1 molecola esce dal ciclo** che rappresenta una fonte di energia, mentre **le altre 5 servono per rigenerare il ribuloso 1,5 bisfosfato**.

Quindi l'**ATP** e il **NADPH** vengono utilizzati al fine di ridurre il C della CO₂ e inserirlo in una molecola di gliceraldeide-3-fosfato.

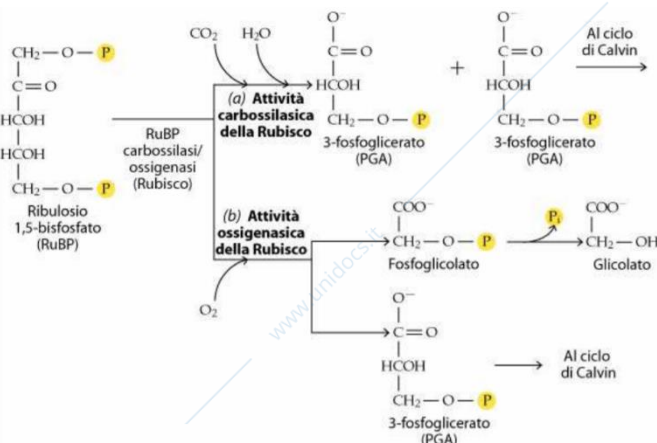


- Tra le funzioni dell'**unica molecola di gliceraldeide-3-fosfato** che esce dal ciclo di Calvin si ha:
 - **biosintesi di amido primario**, che avviene all'interno dello **stroma**;
 - **biosintesi di saccarosio**, che avviene all'interno del **citosol**, a seguito del suo trasporto.

2b) RUBISCO

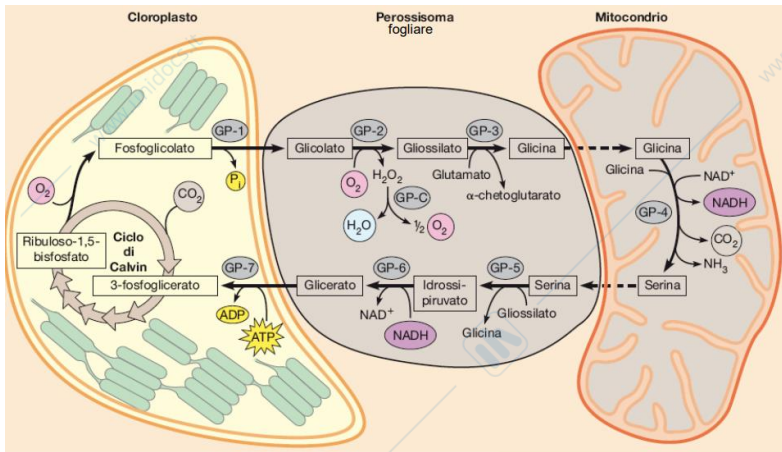
La **rubisco** (**ribuloso-1,5-bisfosfato carbossilasi/ossigenasi**) ha doppia attività:

- **carbossilasi**: come nel ciclo di Calvin
- **ossigenasi**: se il ribuloso-1,5-bisfosfato viene ossigenato si forma una molecola di 3-fosfoglicerato, che va diretta al ciclo di Calvin, e una di **fosfoglicolato/glicolato** (senza P), che non può entrare nel ciclo, in quanto tossica per la pianta.



Non si sa perché la rubisco abbia l'attività ossigenasica ma **se viene inibita non funziona la rubisco stessa!** È un'attività che rappresenta un relitto evolutivo quando la conc di O₂ nell'atmosfera non rappresentava un problema.

A oggi, l'azione carbossilatica della rubisco può essere compromessa quando si ha **ambienti aridi e caldi sottoposti a intensa illuminazione** in quanto gli stomi si chiudono per ridurre la perdita di H₂O e la CO₂ non entra ma la fase luminosa è intensa perciò si ha produzione di O₂ che però non ha modo di uscire; in questo caso viene favorita l'attività ossigenasica che porta alla formazione della molecola tossica **glicolato** che non può seguire il ciclo di Calvin (spreco di C).



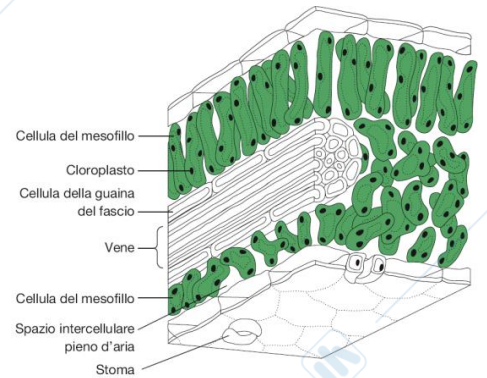
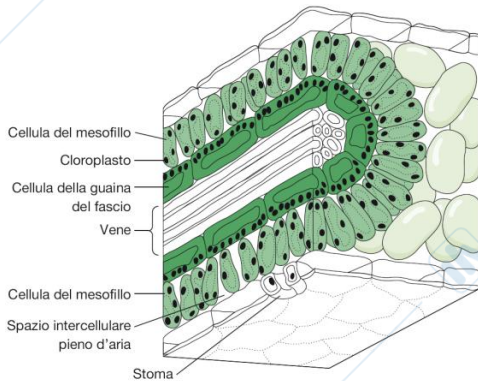
VIA DEL GLICOLATO/FOTORESPIRAZIONE

- Quando la rubisco “spreca il C” attraverso l’attività ossigenasica, la pianta effettua la **via del glicolato o fotorespirazione** per recuperare parte di questo C
- La via del glicolato coinvolge tre organuli associati tra loro:
 - **cloroplasto**, dove si forma il fosfoglicolato per azione ossigenasica del rubisco;
 - **perossisoma fogliare**
 - **mitocondrio**

- In particolare, 2 molecole di glicolato entrano nel ciclo dove vengono trasformate in 1 molecola di 3-fosfoglicerato che può rientrare nel ciclo di Calvin. Quindi da 2 molecole a 2 atomi di C si passa a 1 con 3 atomi di C, quindi, oltre a essere molto costosa in termini energetici, essa non restituisce tutto il C viene trasformato **solo il 75% del C**.

3a) PIANTE C3

Le **piante C3**: descritte finora, il primo prodotto della fissazione della CO₂ è il **3-fosfoglicerato**

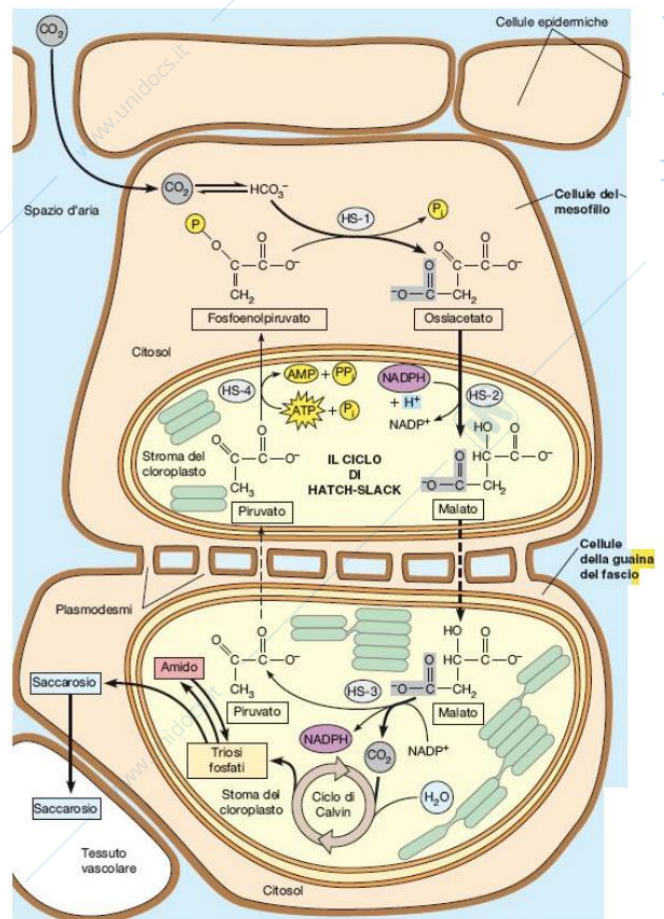


3b) PIANTE C4

Le **piante C4** (es. mais e canna da zucchero): per inibire l’attività ossigenasica della rubisco separano fisicamente la fase luminosa nelle cellule del **mesofillo** dalla fase oscura nelle cellule della **guaina del fascio**, dove è presente la rubisco e dove viene con la CO₂ attraverso il **ciclo di Hatch-Slack**.

CICLO DI HATCH-SLACK

- Il **ciclo di Hatch-Slack** prevede che la prima molecola in cui viene organizzata la CO₂ sia l’**ossalacetato** (formata da 4 atomi di C → piante C4). Il ciclo non è un sostituto del ciclo di Calvin ma una sequenza preliminare di reazioni che concentra la CO₂ nelle cellule della **guaina del fascio** dove la rubisco può lavorare efficientemente come carbossilasi, non da ossigenasi.
- Nella cellula del **mesofillo**, la CO₂ viene fissata dalla **fosfoenolpiruvato-carbossilasi** sul **fosfoenolpiruvato** che viene trasformato a **ossalacetato**; questo viene trasportato nel cloroplasto della cellula del **mesofillo** dove viene trasformato a sua volta in **malato**. Il malato poi viene trasportato nel cloroplasto delle cellule della **guaina del fascio** dove viene trasformato in **piruvato**, rilasciando CO₂ e NADPH (utile al ciclo di Calvin). La CO₂ viene, così, rilasciata in queste cellule del **fascio** dove viene organizzata grazie al ciclo di Calvin. Il piruvato formatosi viene riportato nelle cellule del **mesofillo** e grazie a una serie di reazioni rigenera il fosfoenolpiruvato.
- In ambienti aridi, sopra i 30°C, una pianta C4 ha una efficienza fotosintetica doppia rispetto ad una C3.



3c) PIANTE CAM

- Le **piante CAM** (es. cactus, orchidee, ananas... metabolismo acido delle crassulacee) sono piante che hanno un adattamento allo scopo di eliminare l'attività ossigenasica della rubisco e che vivono in ambienti con lunghi periodi di siccità, con clima arido.
- In queste piante, la fase luminosa e la fase oscura avvengono nelle stesse cellule ma in tempi diversi:
 - **notte:** stomi aperti, la CO₂ entra e viene accumulata, come nel *ciclo di Hatch-Slack*, sotto forma di malato, accumulato a sua volta nel vacuolo;
 - **giorno:** stomi chiusi, la CO₂ viene rilasciata nel citosol, si diffonde nel cloroplasto dove viene effettuato il ciclo di Calvin.
- La velocità della fotosintesi è minore rispetto alle piante C4 ma riescono a sopravvivere nei desert.

4) SCHEMA GENERALE FOTOSINTESI PIANTE C3

