

Lezione 14

I mitocondri

- Struttura e funzioni
- Il genoma mitocondriale e le modalità del flusso dell'informazione nei mitocondri

Il network mitocondriale e le sue dinamiche

- Fusione, fissione e le proteine regolatorie

Il trasporto ai mitocondri

- il segnale di indirizzamento alla matrice mitocondriale
- I traslocatori TOM, TIM, SAM e OXA
- Il ruolo dell'energia nell'importazione delle proteine alla matrice mitocondriale
- L'importazione di proteine alla membrana mitocondriale esterna, alla membrana mitocondriale interna e allo spazio intermembrana

I perossisomi

- Struttura e funzioni

Il trasporto ai perossisomi

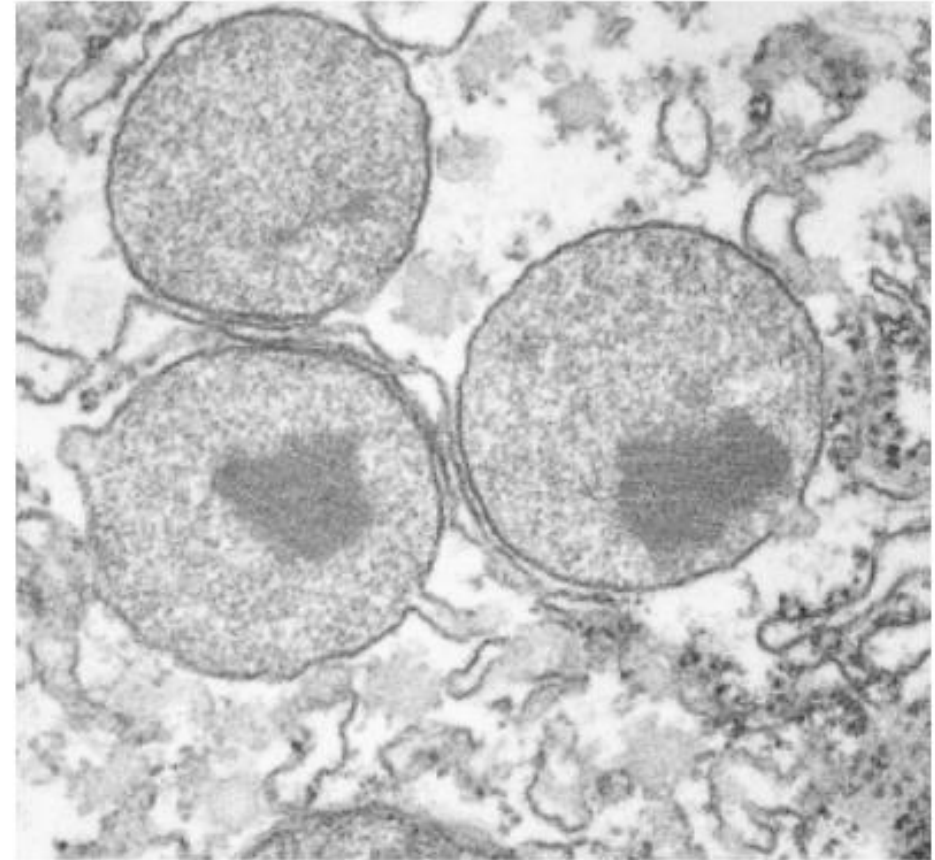
- I segnali e i loro recettori
- Le peculiarità del trasporto ai perossisomi
- Le perossine e la biogenesi dei perossisomi
- L'azione detossificante dei perossisomi
- Patologie legate ai perossisomi (la sindrome di Zellweger)

Cenni di energetica

- La respirazione cellulare (dalla glicolisi alla catena di trasporto degli elettroni fino alla sintesi di ATP), le molecole che vi partecipano, il bilancio energetico del processo

I Perossisomi

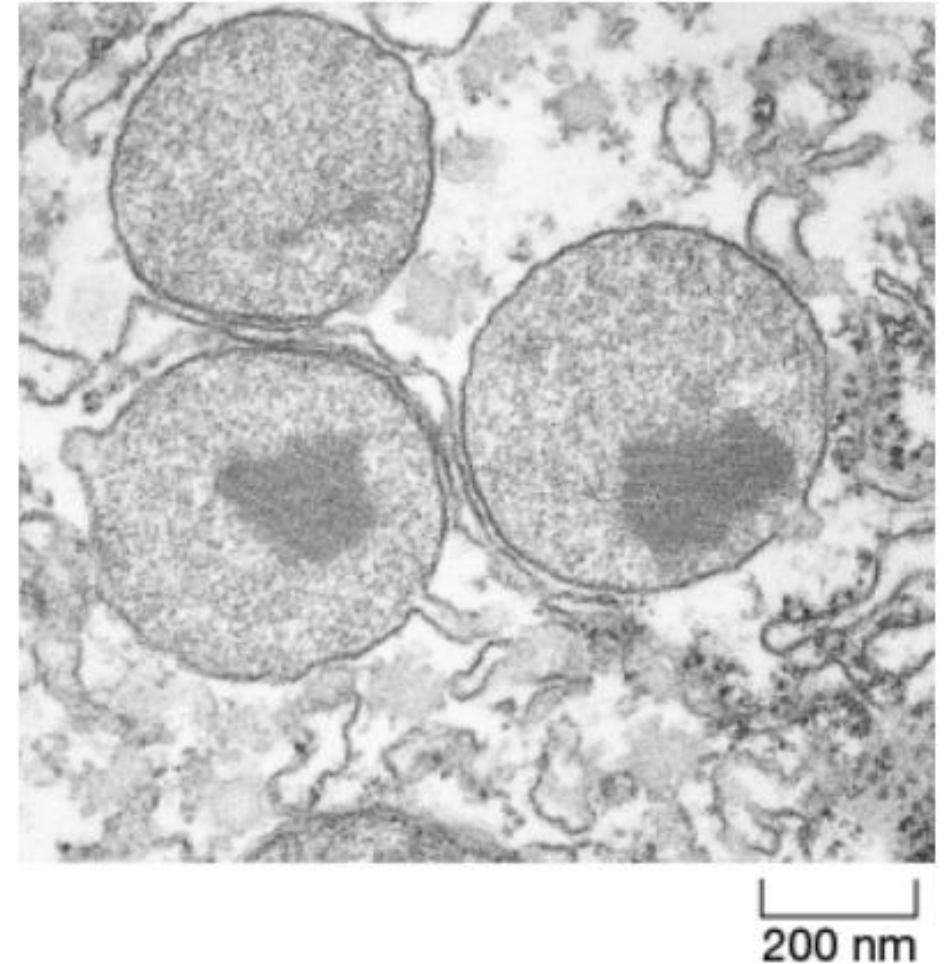
- Principali **siti di utilizzo dell'ossigeno** nelle cellule eucariote.
- Presenti in quasi tutte le cellule eucariotiche.
- Contengono **enzimi ossidativi** (es. catalasi, urato ossidasi).
- **Concentrazione enzimatica talmente elevata** che, in alcune cellule, i perossisomi mostrano un **core cristalloide** visibile nelle micrografie elettroniche



200 nm

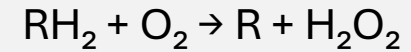
I Perossisomi: Origine ed Evoluzione

- Origine evolutiva **non completamente chiarita**.
- Ipotesi: derivati come **propaggine specializzata** del **sistema di membrane secretorie** ed endocitiche.
- Secondo un'altra ipotesi, vestigia di un **antico organulo ossidativo** negli antenati **eucariotici primitivi**.
- Funzione originaria:
 - **ridurre la tossicità dell'ossigeno atmosferico** (accumulatosi per fotosintesi batterica);
 - **sfruttare la reattività dell'ossigeno per reazioni ossidative** utili.
- **Successivo sviluppo** dei **mitocondri** → perossisomi meno centrali per il metabolismo:
 - nei **mitocondri**, molte **reazioni ossidative** sono **accoppiate** alla **produzione di ATP**;
 - nei **perossisomi** restano **funzioni ossidative non prese in carico dai mitocondri**.



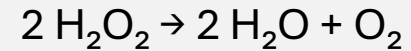
Reazioni Ossidative nei Perossisomi

Perossisomi → chiamati così per l'uso di ossigeno molecolare (O_2) e H_2O_2 nelle reazioni ossidative.

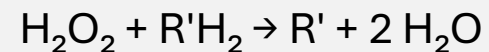


La **catalasi** può decomporre H_2O_2 in due modi diversi:

- Quando la **concentrazione di H_2O_2** è molto abbondante, la **catalasi** può **detossificare due molecole di H_2O_2** contemporaneamente, in una **reazione di dismutazione** (una viene ossidata a ossigeno e l'altra ridotta ad acqua):

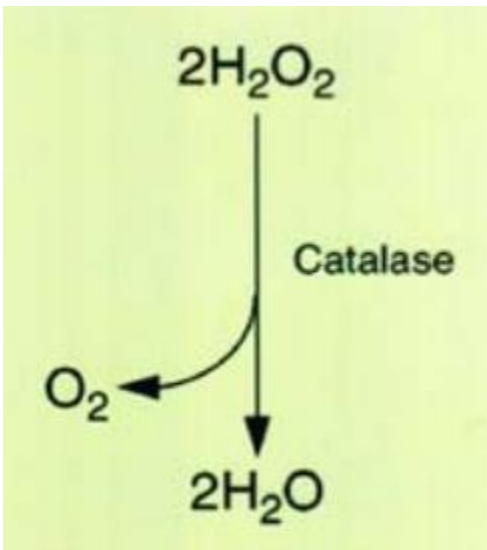
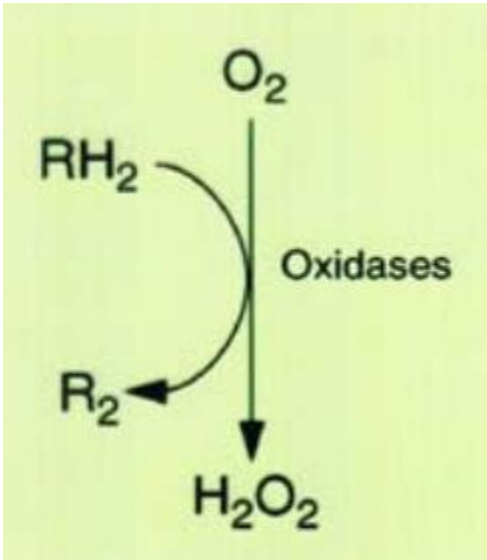


- Oppure, la **catalasi** può funzionare come una **perossidasi**, catalizzando una reazione in cui gli elettroni derivati da una sostanza organica sono usati per **ridurre il perossido di idrogeno ad acqua**:



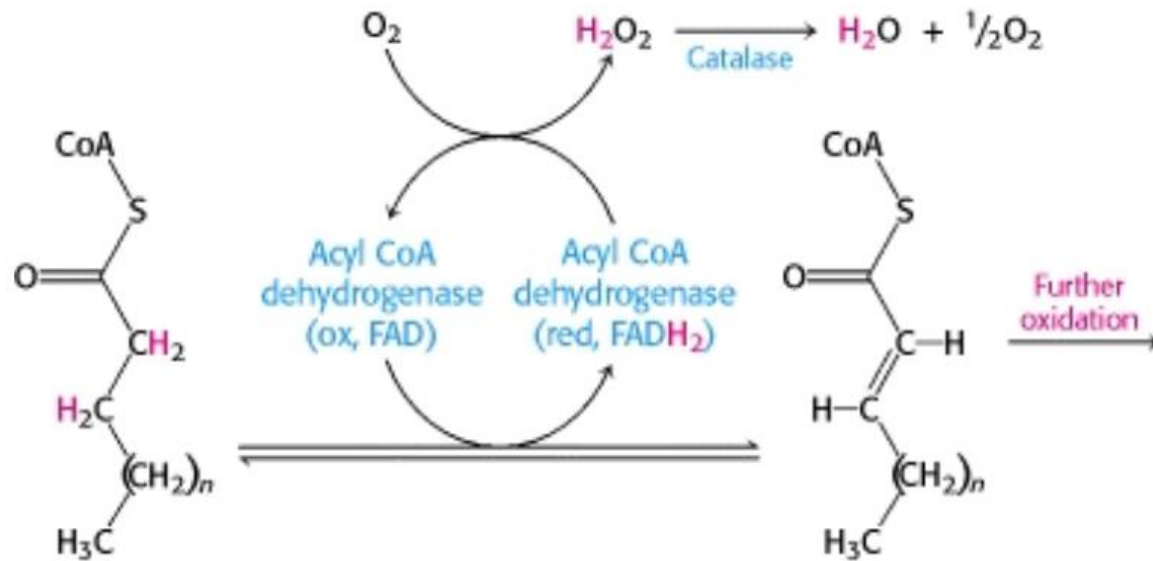
Funzione di detossificazione:

- particolarmente **rilevante in fegato e rene**.
- Circa il **25% dell'etanolo** ingerito è **ossidato ad acetaldeide** nei perossisomi.



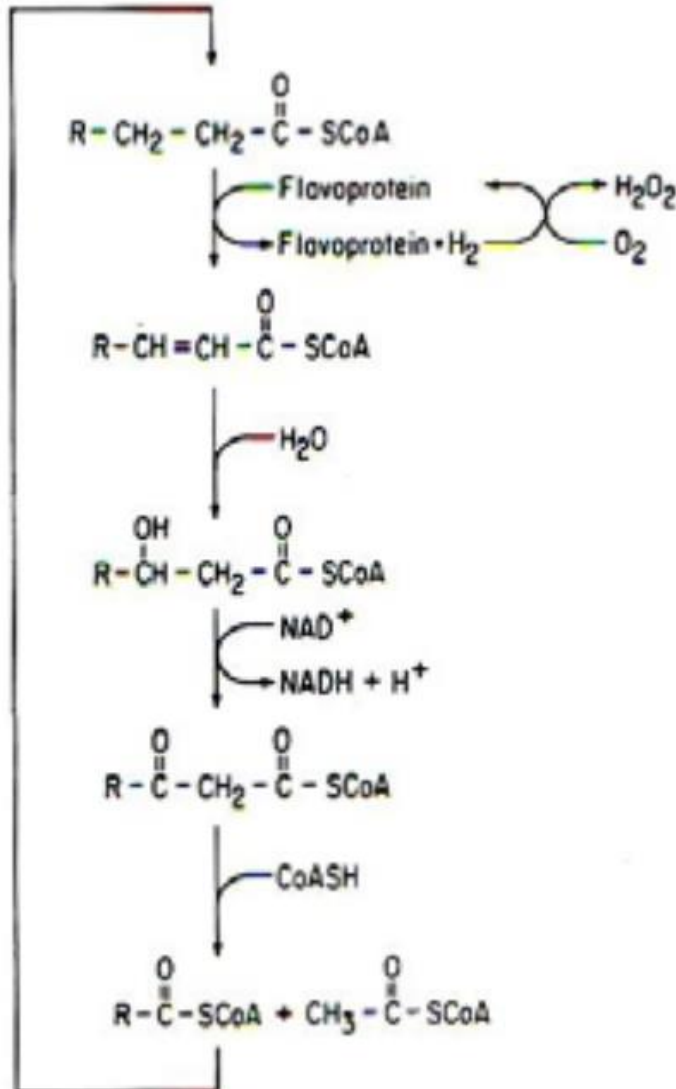
β -Ossidazione degli Acidi Grassi

50% dell'ossidazione avviene nei mitocondri mentre il restante 50% avviene nei perossisomi



- Nei mitocondri l'ossidazione degli acidi grassi produce **CO₂** ed è accoppiata alla generazione di **ATP**.
- Nei perossisomi produce gruppi acilici e non è legata alla formazione di **ATP**.
 - **L'energia rilasciata** durante l'ossidazione nei perossisomi è **convertita in calore**;
 - Mentre i **gruppi acilici** sono trasportati verso il citosol, dove **vengono utilizzati per la sintesi del colesterolo** e di altri metaboliti.

β -Ossidazione degli Acidi Grassi



Funzione chiave: demolizione di acidi grassi tramite β -ossidazione.

Accorciamento catene alchiliche $\rightarrow$ rimozione di due atomi di carbonio alla volta.

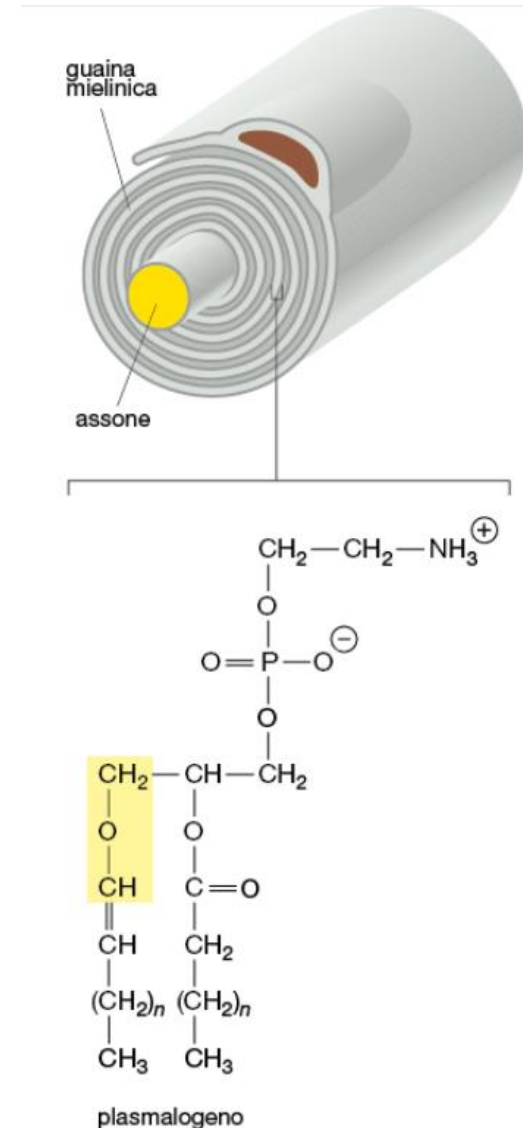
Prodotto: acetil-CoA $\rightarrow$ esportato nel citosol $\rightarrow$ usato in biosintesi.

Nei mammiferi: β -ossidazione in perossisomi + mitocondri.

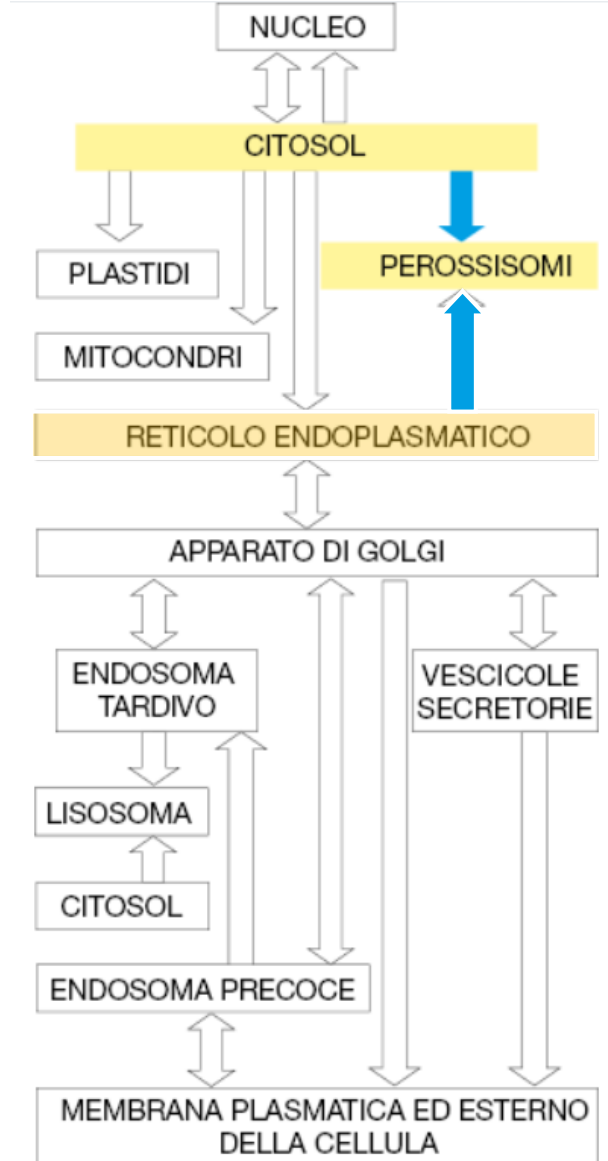
Funzione Biosintetica: Plasmalogeni

Nei perossisomi → **prime reazioni della sintesi dei plasmalogeni.**

- **Fosfolipidi abbondanti**, soprattutto nel cervello:
 - **costituenti principali della mielina** (80–90% dei fosfolipidi della guaina mielinica).
- Struttura: glicerolo-fosfato + gruppo testa etanolammina + acido grasso + alcol grasso legato con legame etere.
- **Assenza di plasmalogeni → difetti neurologici gravi** (anomalie nella mielinizzazione degli assoni).



Vie di Trasporto delle Proteine nei Perossisomi



Due vie principali:

Via indiretta (RE → perossisoma)

- Alcune **proteine integrali di membrana del perossisoma** entrano **nel RE** tramite **Sec61**.
- **Impacchettate** in **vescicole precursori specializzate**.
- **Queste vescicole si fondono tra loro** → formano **un nuovo perossisoma**;
- **Oppure si fondono con un perossisoma esistente** → **crescita dell'organulo**.

Via diretta (dal citosol)

- **Le proteine vengono importate direttamente nei perossisomi** preesistenti.

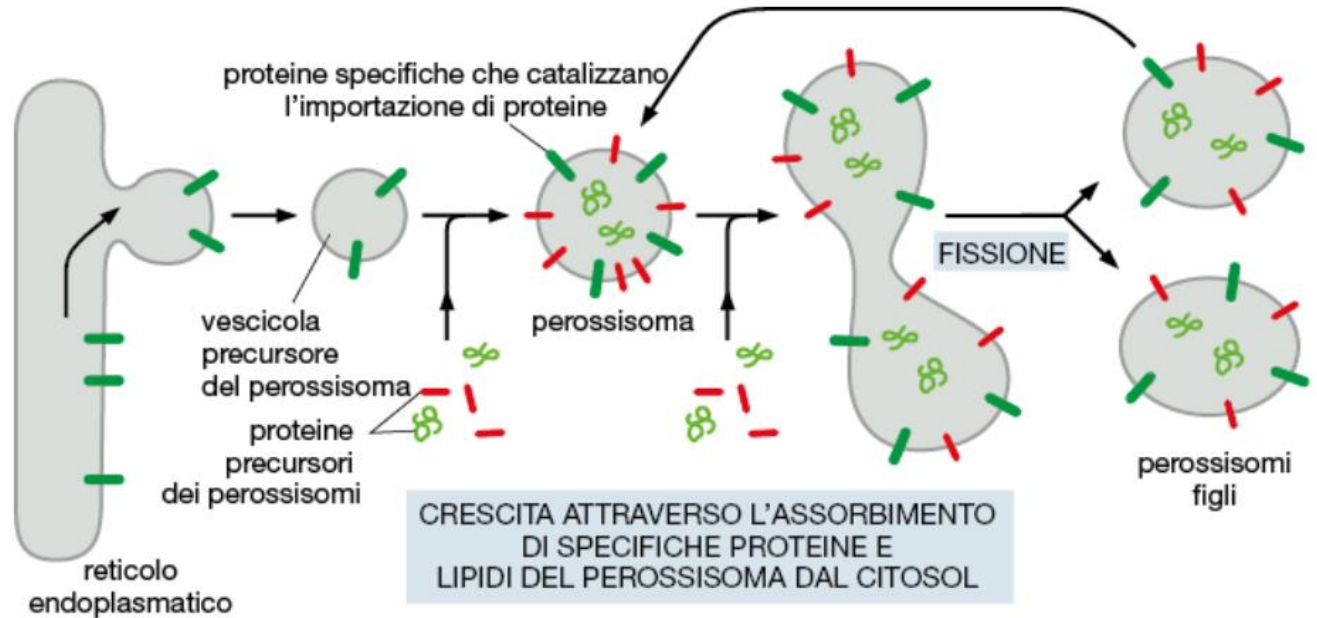
Vie di Trasporto delle Proteine nei Perossisomi

Sequenze segnale perossisomiali

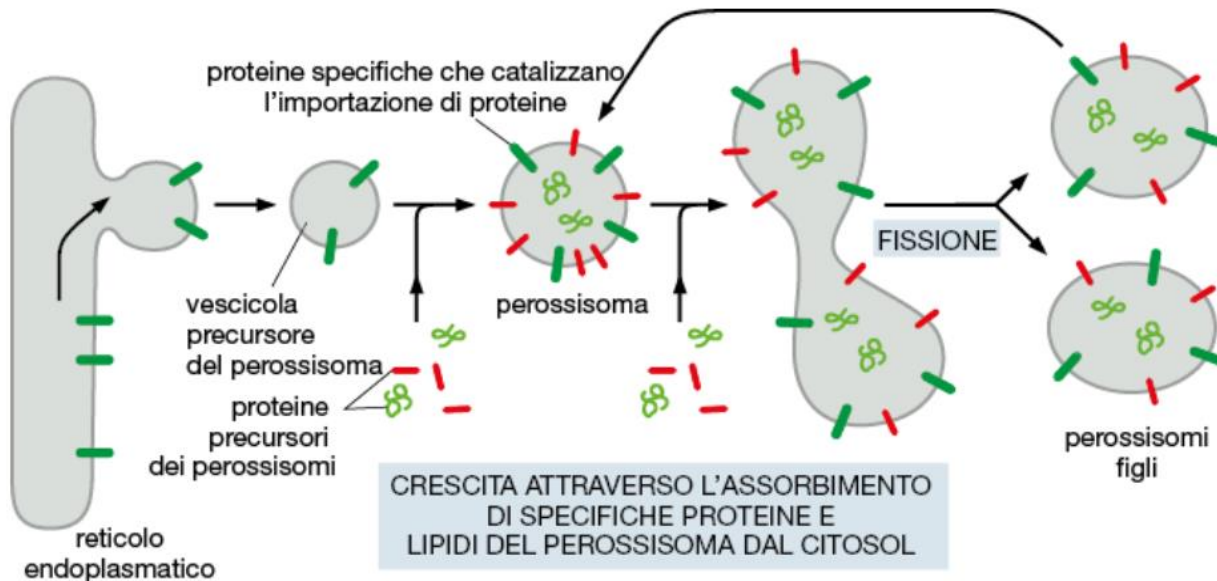
- **C-terminale (PTS1):** tripeptide **Ser-Lys-Leu (SKL)**.
- **N-terminale (PTS2):** sequenza più lunga, parzialmente idrofoba.

Traslocatore proteico perossisomiale

- Composto da ≥ 6 diverse **perossine**.
- Può trasportare **proteine già ripiegate e oligomeriche**.
- **Si adatta dinamicamente alle dimensioni del cargo.**



Vie di Trasporto delle Proteine nei Perossisomi



Perossine e meccanismo di importazione

L'importazione è **ATP-dipendente**. Mediata da un gruppo di proteine chiamate **perossine**:

- 1. Pex5** → riconosce sequenze **C-terminale (PTS1)**.
 - Accompagna il carico al **traslocatore proteico** nella membrana.
 - Dopo rilascio → Pex5 viene **ubiquitinata** → riconosciuta da complesso **Pex1-Pex6**.
 - Pex1-Pex6 (ATPasi) usa energia dell'ATP per riciclare Pex5 nel citosol.
- 2. Pex7** → riconosce sequenze **N-terminale (PTS2)**.
 - Forma complesso con proteina cargo + altre perossine accessorie.
 - Ciclo di importazione simile a Pex5.

Disfunzioni nel Sistema di Importazione: Sindrome di Zellweger

Dinamica di formazione dei perossisomi

- Vescicole precursori gemmano dal RE.
- Proteine come **Pex3** e **Pex15** seguono questa via.
- **Processo di gemmazione dipende da Pex19** e altre proteine citosoliche.
- **Fusione delle vescicole:**
 - tra loro → nuovo perossisoma;
 - con perossisomi esistenti → crescita.
- **Membrana dei perossisomi contiene:**
 - **Recettori di importazione.**
 - **Traslocatori proteici.**
- Anche i lipidi necessari alla crescita vengono presumibilmente importati (alcuni direttamente dal RE).

Importanza biologica e clinica

Difetti nel sistema di importazione → **sindrome di Zellweger**:

- Malattia ereditaria umana.
- **Mutazioni nelle perossine** → più comune in **Pex1**.
- **Risultato: perossisomi “vuoti”.**

Conseguenze metaboliche:

- Accumulo di **acidi grassi a catena molto lunga e ramificata**.
- Deficit di **plasmalogeni**.

Manifestazioni cliniche:

- **Gravi anomalie in cervello, fegato e reni.**
- Esito: morte poco dopo la nascita.

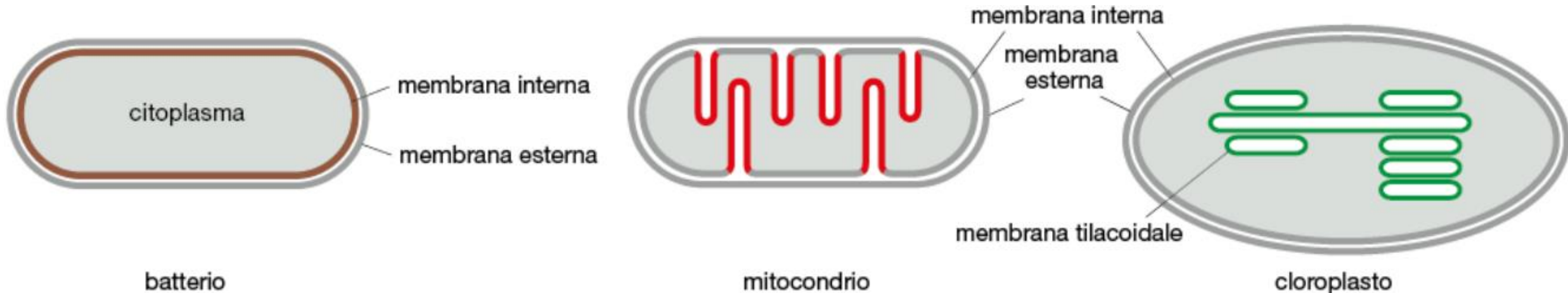
Conversione dell'energia: Mitocondri e Cloroplasti

Introduzione

- Le cellule necessitano di una **continua riserva di ATP** per mantenere l'elevata organizzazione in un universo entropico.
- Nelle cellule eucariote la maggior parte dell'ATP è prodotta da organuli specializzati:
 - Mitocondri** → ossidano molecole di cibo → ATP tramite **fosforilazione ossidativa**.
 - Cloroplasti** → catturano energia solare → ATP tramite **fotosintesi**.
- Caratteristica più evidente al microscopio elettronico:**
 - ampio **sistema di membrane interne**, sede dei complessi proteici per la conversione energetica.

Origine evolutiva

- Evidenze da confronto di sequenze di DNA:**
 - Mitocondri e cloroplasti derivano da **procarioti simbiotici** inglobati negli antenati eucarioti (**endosimbiosi**).
- Conseguenze:
 - Presenza di DNA proprio** negli organuli (codifica ancora alcune proteine).
 - La maggior parte dei geni trasferita al nucleo**.
 - Dipendenza da proteine nucleari** → sintetizzate nel citosol e importate.
- Ruoli: **non solo produzione di ATP, ma anche molte reazioni biosintetiche** fondamentali.

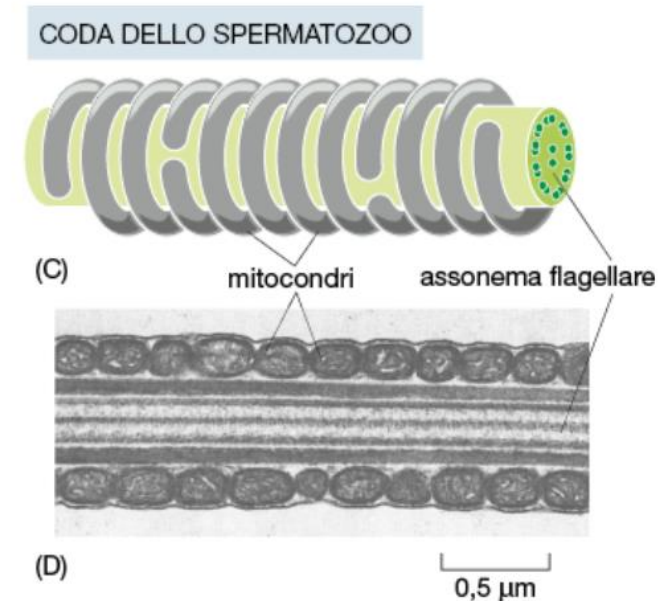
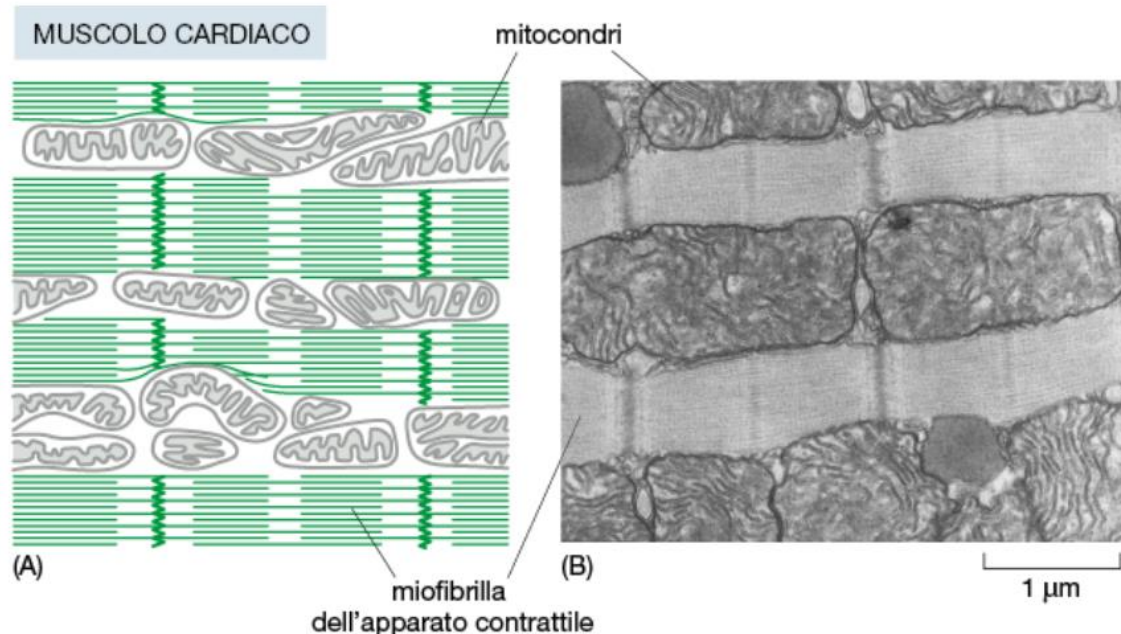


Mitocondri: Struttura e Dinamica

- Possono occupare fino al **20% del volume citoplasmatico**.
- **Dimensioni: 0,5–1 μm** , simili a batteri.
- **Organuli dinamici e plastici:**
 - Cambiano forma, si muovono, si fondono, si dividono.

Distribuzione cellulare:

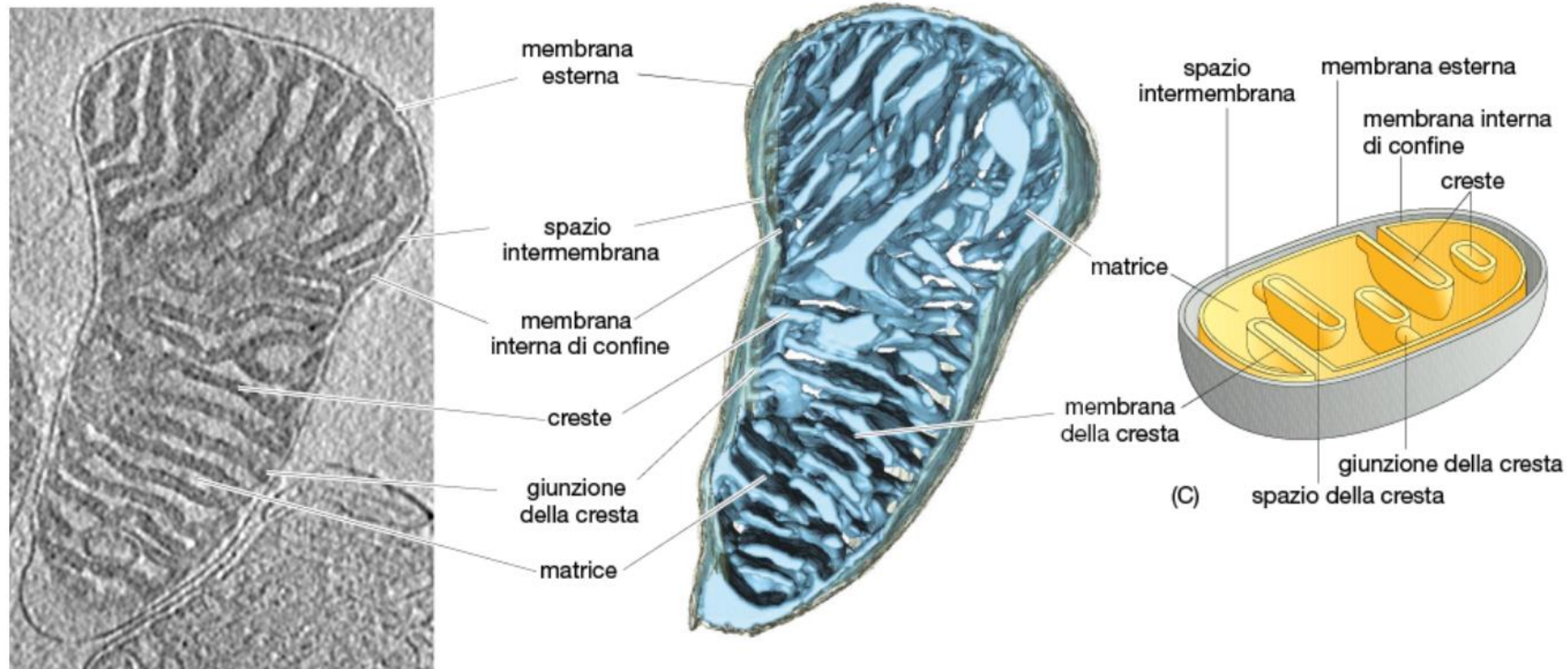
- Nei neuroni: trasporto lungo microtubuli fino alle sinapsi (anche oltre 1 m).
- In cellule muscolari: impilati tra miofibrille.
- Negli spermatozoi: avvolti intorno al flagello.
- **Spesso associati al citoscheletro e in contatto con il RE:**
 - Scambio di lipidi, calcio, altre molecole.
 - RE = sede di divisione mitocondriale.



Architettura Generale: Doppia Membrana

1) Architettura generale: doppia membrana

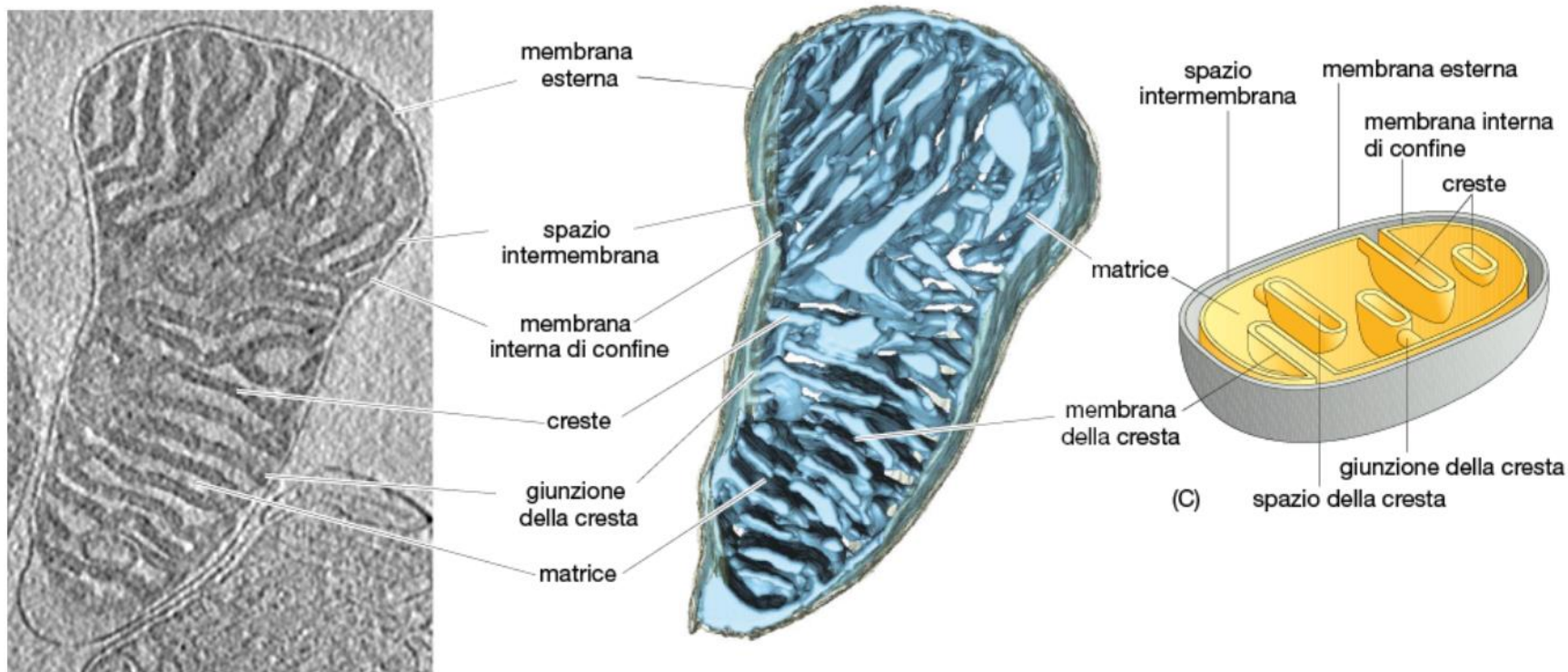
- I mitocondri (come i batteri da cui derivano) hanno **due membrane**: esterna e interna.
- Le due membrane hanno **funzioni/proprietà distinte** e delimitano compartimenti separati.
- La **membrana interna** circonda la **matrice mitocondriale** ed è **altamente convoluta**.
- Le pieghe della membrana interna sono le **creste**: ospitano le **proteine della catena di trasporto degli elettroni**.



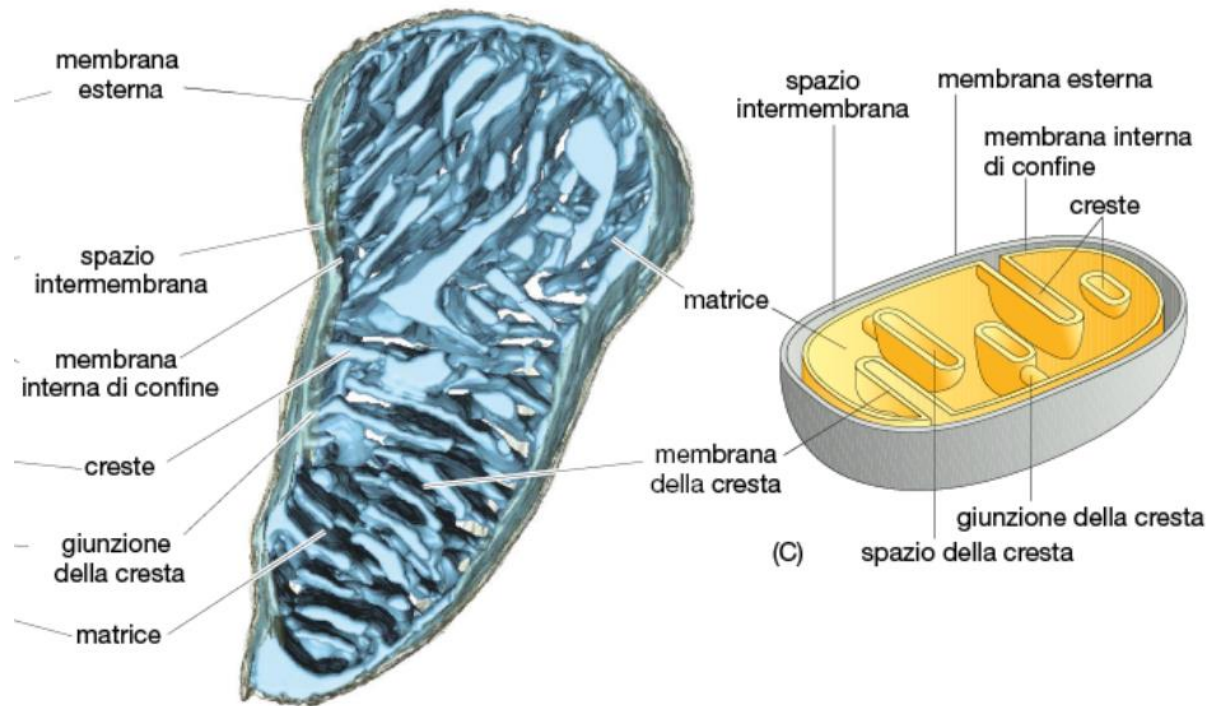
Compartimentazione Fine

2) Compartimentazione fine

- **Membrana interna di confine**: tratto in cui la membrana interna corre **parallela** a quella esterna (tra le creste).
- **Spazio intermembrana**: **20–30 nm** tra membrana esterna e **membrana interna di confine**.
- **Cresta**: disco/tubulo membranoso (**~20 nm** di spessore) che si **approfondisce** nella matrice e racchiude lo **spazio della cresta**.
- **Giunzioni della cresta**: stretti **tubi/fessure** che collegano membrana di confine e membrana della cresta (continuità topologica).



Membrana Mitochondriale Esterna: Permeabilità e Porine



3) Membrana mitocondriale esterna: permeabilità e porine

- **Permeabile** a ioni e piccole molecole ≤ 5000 Da grazie alle **porine** (β -barile)
- **Conseguenza: pH e composizione ionica nello spazio intermembrana $\approx$ citoplasma.**
- **Nessun gradiente elettrochimico** attraverso la membrana esterna.

4) DNA mitocondriale e visibilità nelle cellule viventi

- Nelle cellule di mammiferi, il **DNA mitocondriale** $< 1\%$ del DNA totale (ma può essere maggiore in altri organismi);
- In alcuni casi, in mitocondri/cloroplasti avviene gran parte della **sintesi totale di RNA e proteine.**

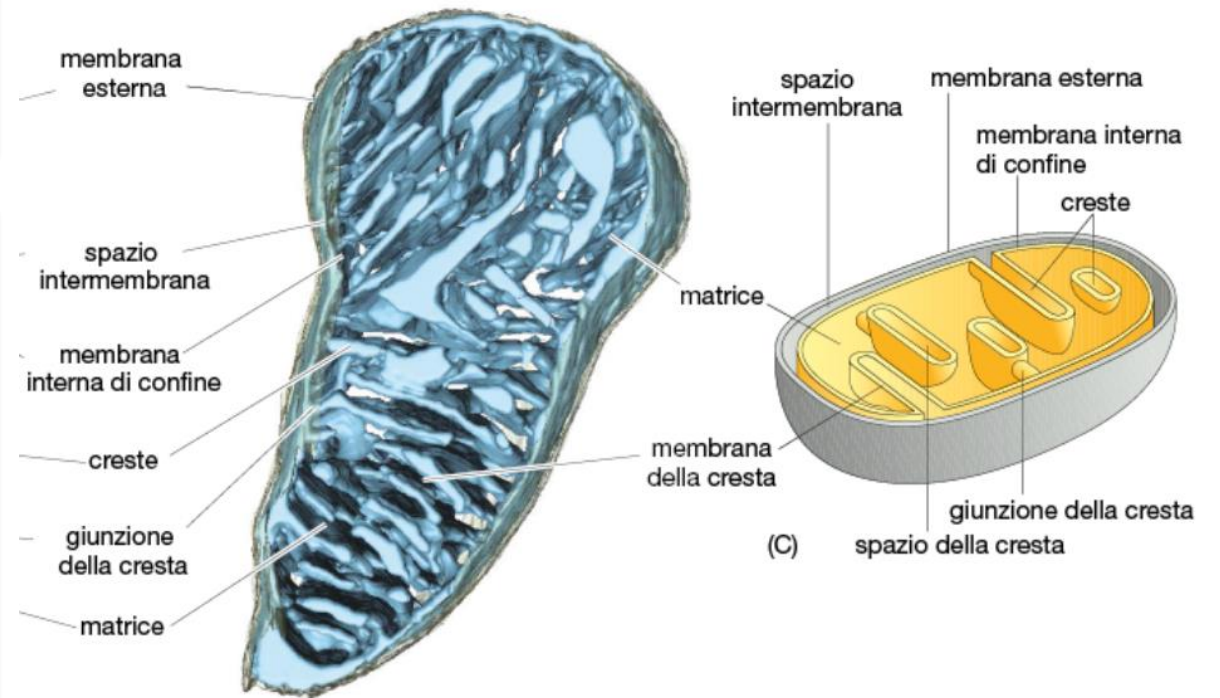
Membrana Mitocondriale Interna: Barriera Selettiva e Trasporto

Membrana interna: barriera selettiva e trasporto

- A differenza della membrana esterna, la **membrana interna è una barriera** a ioni e piccole molecole (come nei batteri).
- **Attraversamento consentito** a **protoni, fosfato, ATP, ADP, piruvato**, ecc. **tramite trasportatori specifici**.

Domini funzionali della membrana interna

- **Segregazione laterale** di proteine/lipidi → regioni con funzioni distinte:
 - **Membrana interna di confine:**
 - **ingresso proteine**, inserzione nuove proteine di membrana, **assemblaggio complessi respiratori**.
 - **Membrana delle creste:**
 - **ATP sintasi** (principale produttore di ATP cellulare);
 - grandi **complessi della catena respiratoria (ETC)**.
- **ATP sintasi** contribuisce anche al **sostegno strutturale** della curvatura delle creste.



Membrana Mitocondriale Interna: Barriera Selettiva e Trasporto

Densità proteica e composizione

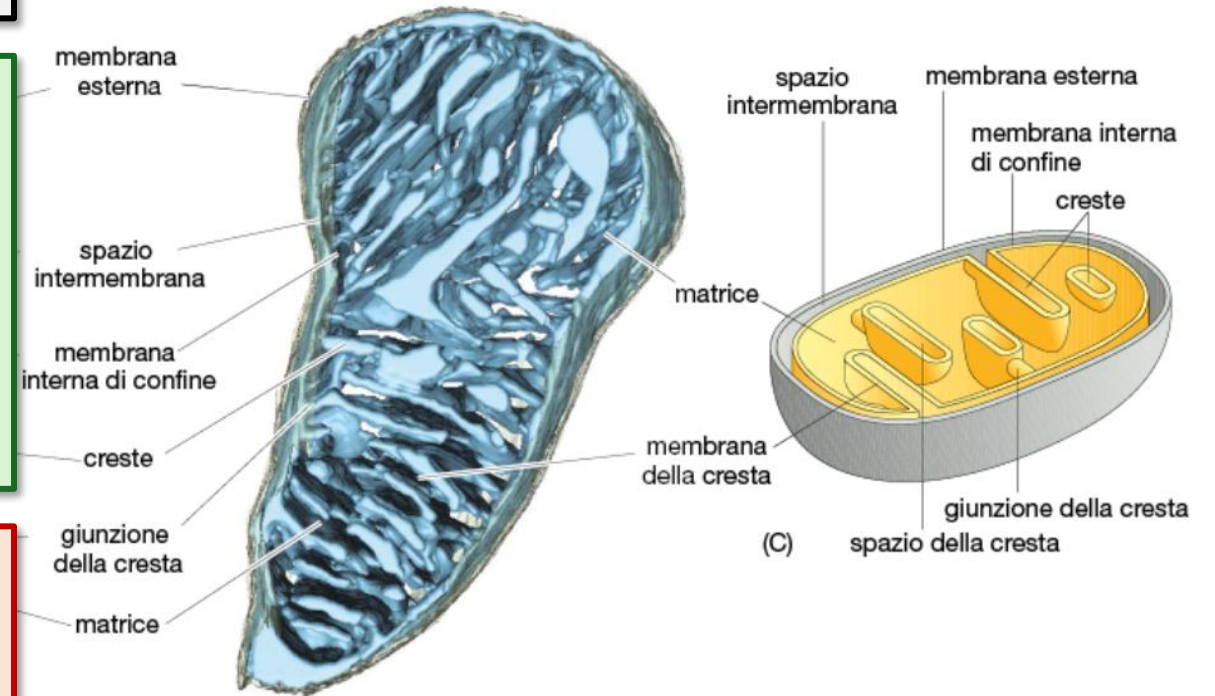
- Membrane delle creste = **tra le più ricche di proteine** tra tutte le membrane biologiche.
- Composizione media: **~75% proteine / ~25% lipidi (in peso)**.

Giunzioni delle creste: barriere di diffusione

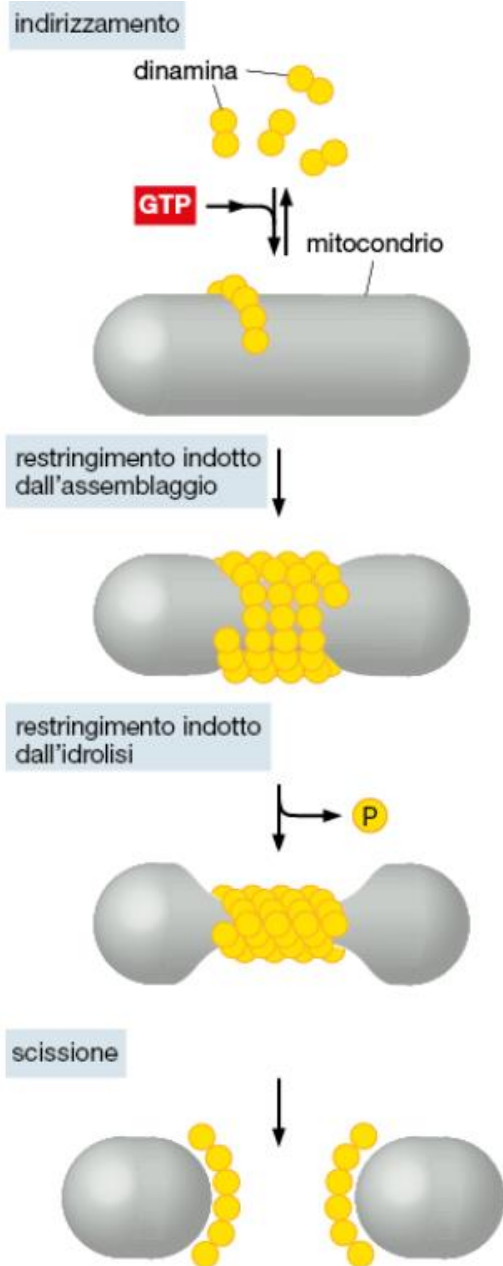
- Alle giunzioni (connessione creste ↔ membrana di confine) **complessi specializzati** creano **barriere di diffusione**.
- Funzioni:
 - **segregare** popolazioni proteiche tra i due domini;
 - **ancorare** le creste alla **membrana esterna**;
 - preservare la **topologia altamente convoluta** della IMM.

Vantaggio funzionale della cresta: area di membrana

- Il ripiegamento in creste **aumenta enormemente** l'area disponibile per la **fosforilazione ossidativa**.
- Esempio: in cellule **miocardiche attive**, l'**area totale** delle membrane delle creste può essere **fino a 20×** l'area della membrana plasmatica.
- Stima macroscopica: **la superficie totale delle creste in un essere umano ≈ area di un campo da calcio**



La Scissione (Fissione)



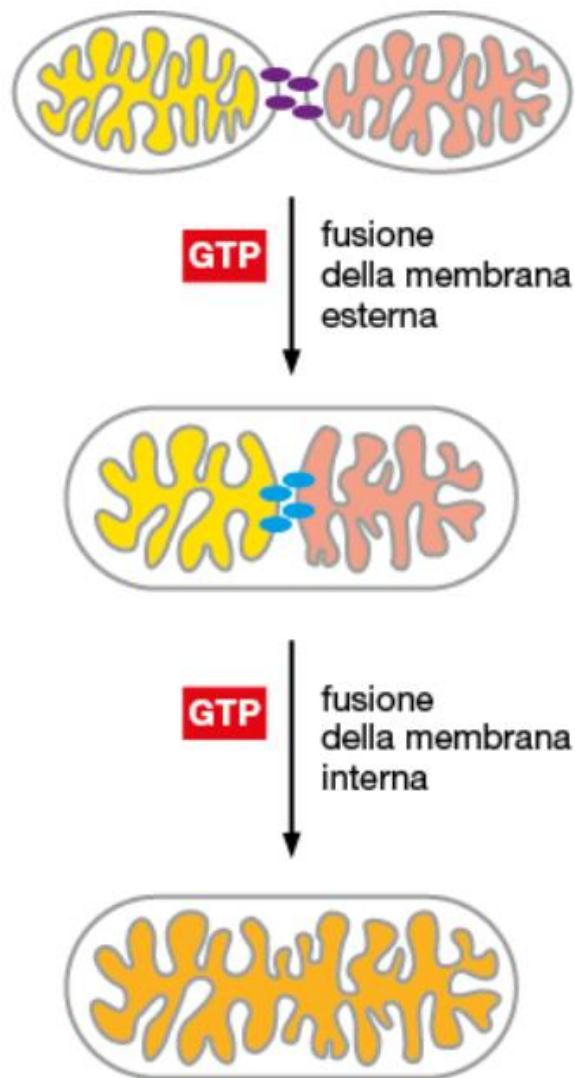
Perché la scissione?

- Permette di:
 - **inviare frammenti verso regioni distanti** (es. **assoni/dendriti**);
 - **distribuire organuli** nelle **cellule figlie**;
 - **innescare** degradazione selettiva (**mitofagia**).
- Le forme dei mitocondri variano:
 - **multipli** sferici/vermiformi
 - **unica rete ramificata** (reticulum).
- Ogni morfologia dipende da **specifici insiemi proteici**.

Macchinario della scissione

- **GTPasi correlate alla dinamina** si **assemblano** in **oligomeri elicoidali** su punti specifici del mitocondrio.
- Spesso in **siti di contatto con il RE** (coordinazione topologica).
- **Idrolisi di GTP** → forza meccanica → **restringimento** e **separazione simultanea** di **membrana esterna** e **interna**.

La Fusione



Macchinario della fusione

Eventi sequenziali e coordinati, con **due apparati** distinti:

- **Fusione membrana esterna:**
 - **GTPasi OMM** (esterna) forma **complessi trans-membrana** (subunità ancorate in entrambe le OMM).
 - **Richiede GTP** e un **gradiente di H⁺** attraverso la membrana interna.
- **Fusione membrana interna:**
 - **Proteina correlata alla dinamina** (IMM) forma **complessi di adesione** tra le due IMM.
 - **Richiede GTP** e un **potenziale elettrico** attraverso la IMM.

Mitofagia: qualità e turnover

- Mitochondri **non funzionali** (perdita della **forza proton-motrice**) → tendono a **frammentarsi** (scissione >> fusione).
- **Pink1/Parkin pathway:**
 - Perdita $\Delta\psi$ → **import inefficiente** → **Pink1 si accumula sulla membrana esterna**.
 - **Pink1 fosforila ubiquitina** e **ParKina (Parkin)** → avvio **mitofagia** (autofagosoma selettivo).
- **Rilevanza clinica:** mutazioni **Pink1/Parkin** associate a **Parkinson** (accumulo di mitocondri disfunzionali).

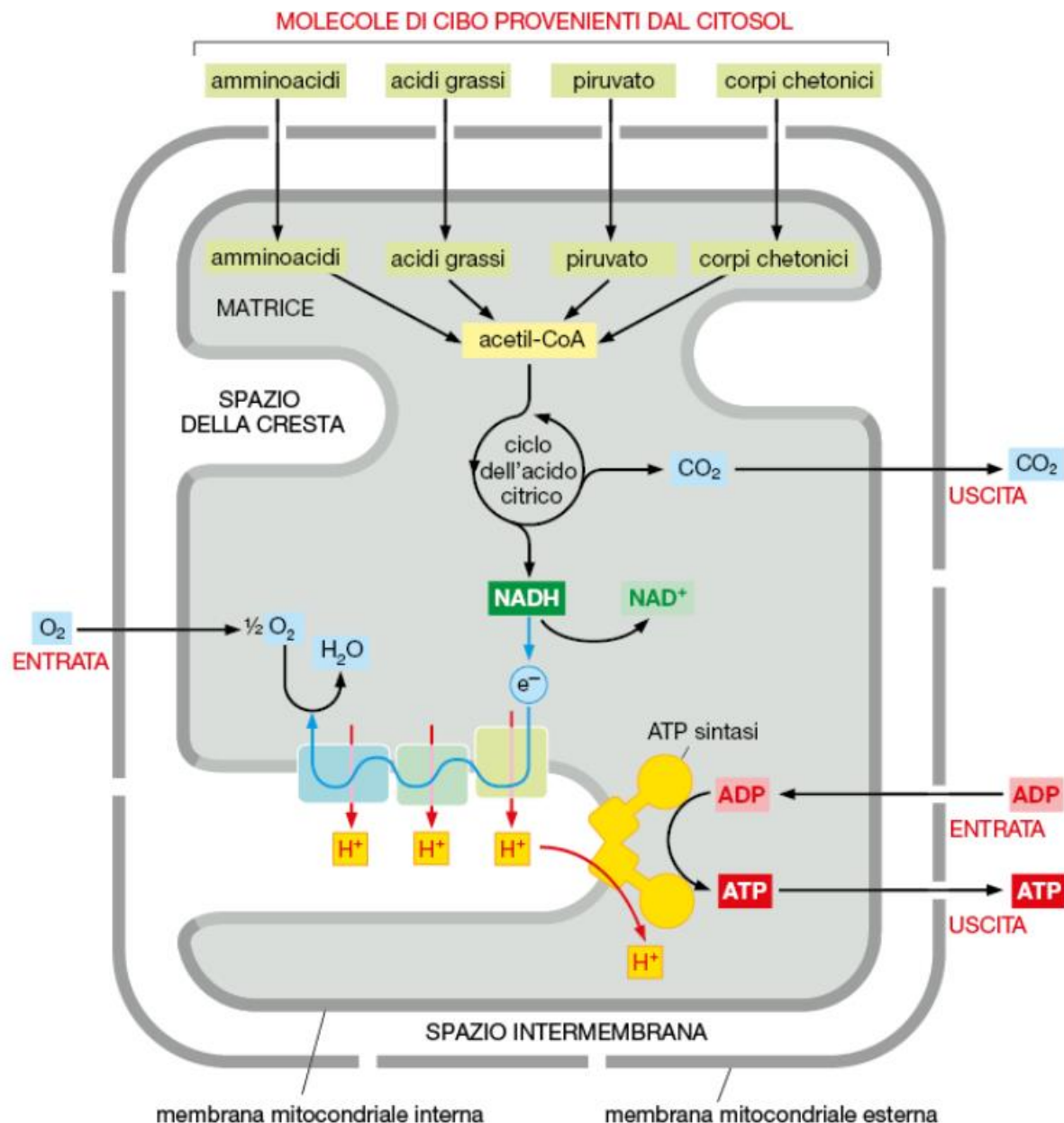
Tabella 14.2 Funzioni mitocondriali

Funzione	Descrizione
Produzione di ATP	La fosforilazione ossidativa nei mitocondri produce la maggior parte dell'ATP usato dalle cellule eucariote
Rigenerazione del NAD^+	Il NAD^+ è necessario per la glicolisi e altre reazioni; in condizioni aerobiche, questo NAD viene rigenerato quando il NADH dona elettroni all'ossigeno attraverso la catena respiratoria (Capitolo 2)
Apporto di precursori per la biosintesi di amminoacidi, nucleotidi, acidi grassi	Gli intermedi prodotti dal ciclo dell'acido citrico, che ha luogo nella matrice mitocondriale, fungono da precursori per la sintesi di molte macromolecole (Figura 2.60)
Partecipazione alla sintesi dei gruppi eme e ferro-zolfo	Questi componenti che contengono metalli sono sintetizzati nei mitocondri e rivestono un ruolo centrale nella respirazione e in altri processi cellulari
Segnalazione cellulare	I mitocondri tamponano la concentrazione di Ca^{2+} , uno ione che partecipa a molti processi di segnalazione, compresa la contrazione muscolare (Capitoli 15 e 16)
Generazione di specie reattive dell'ossigeno	Le specie reattive dell'ossigeno, pur potendo danneggiare le macromolecole, sono coinvolte anche nel processo di segnalazione
Regolazione dell'apoptosi	Le molecole rilasciate dai mitocondri innescano una cascata proteolitica che porta alla morte cellulare (Capitolo 18)

Funzioni Mitocondri Centrali

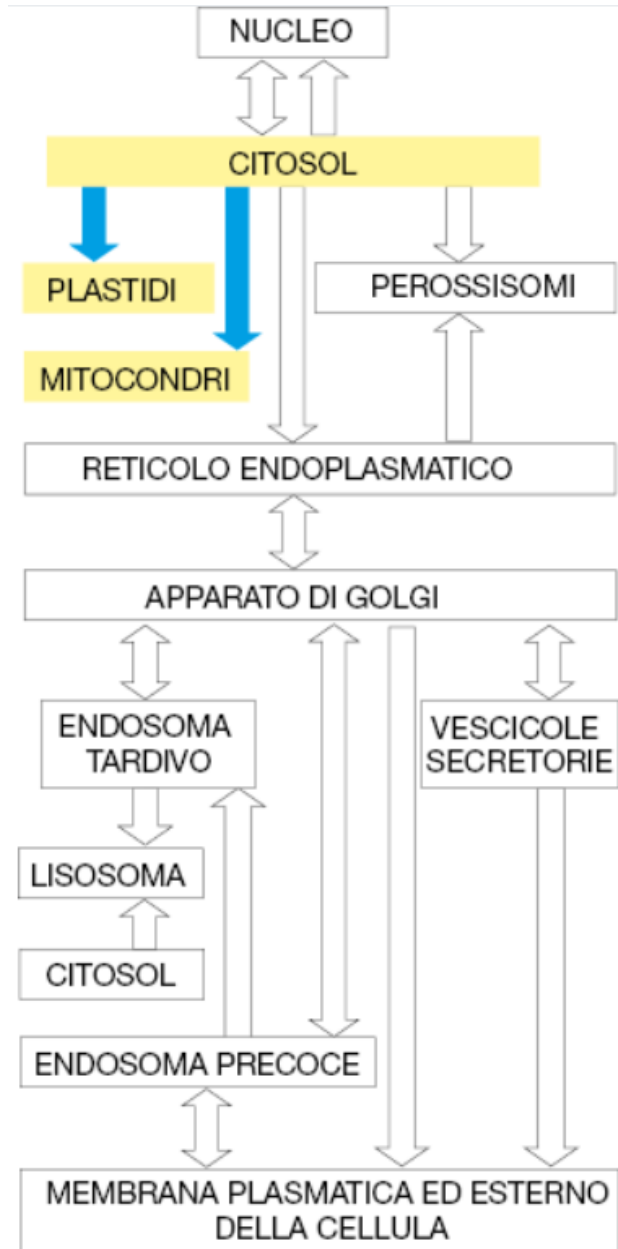
- Non solo **produzione della maggior parte dell'ATP**: i mitocondri forniscono **risorse essenziali per biosintesi** e crescita.
- Prima della catena respiratoria, panoramica dei **ruoli metabolici chiave**:
 - **Tamponamento redox citosolico** (rigenerazione NAD^+).
 - **Fornitura di equivalenti riducenti e scheletri carboniosi** per biosintesi.
 - Contributi a **nucleotidi, amminoacidi, lipidi**.
 - Passaggi mitocondriali nel **ciclo dell'urea**.
 - Sintesi di **eme** e **cluster Fe-S** (stabilità genomica).
 - **Segnalazione**: Ca^{2+} , ROS, **apoptosi**.
 - **Hub lipidico**: cardiolipina e scambio lipidi con RE.

Dal Combustibile ad ATP: Sequenza di Reazioni



- **Acetil-CoA** → ossidazione nella **matrice** tramite **ciclo dell'acido citrico (ciclo di Krebs)**.
- **Prodotti** della completa ossidazione dei carboni dell'acetile:
 - **CO_2** , che **diffonde** fuori dal mitocondrio ed è eliminata come **scarto**.
- **Conservazione dell'energia:**
 - sotto forma di **elettroni** trasportati dal **NADH** (grande quota dell'energia di legame liberata).
- **Trasferimento degli elettroni:**
 - da **NADH** (matrice) alla **catena di trasporto degli elettroni** nella **IMM**.
- **Accoppiamento chemiosmotico:**
 - energia degli elettroni del NADH → **gradiente protonico** → **ATP sintasi** → **ATP** (legame fosfato ad alta energia).

Il Trasporto di Proteine nei Mitochondri e nei Cloroplasti



- **Mitocondri e cloroplasti** (plastidi di piante/alghe verdi) sono organuli **a doppia membrana** specializzati nella **sintesi di ATP**:
 - Mitocondri: **trasporto di elettroni + fosforilazione ossidativa**.
 - Cloroplasti: **fotosintesi**.
- Pur contenendo **DNA** e **ribosomi**, **quasi tutte** le loro proteine sono **codificate nel nucleo** e **importate dal citosol**.
- Ogni proteina importata deve raggiungere il **sottocompartimento specifico** in cui agisce.

Sottocompartimenti: Architettura Interna

(A) MITOCONDRIO



Sottocompartimenti: architettura interna

- **Mitocondrio:**
 - **Membrana interna (IMM):** racchiude **matrice**; forma invaginazioni (**creste**).
 - **Membrana esterna (OMM):** a contatto con **citosol**.
 - Spazio tra OMM e IMM suddiviso in **spazio delle creste** e **spazio intermembrana**; **complessi** alle **giunzioni delle creste**.
- **Ogni sottocompartimento contiene serie proteiche distinte.**
- **Crescita** di mitocondri/cloroplasti: **accrescimento** di organuli preesistenti + **fissione**; dipendenza marcata da **import proteico** dal citosol.
- **Principi generali simili al RE**, ma la **multimembrana aumenta la complessità** del corretto smistamento.

Segnali di Indirizzamento (Mitocondri)

(A) MITOCONDRIO



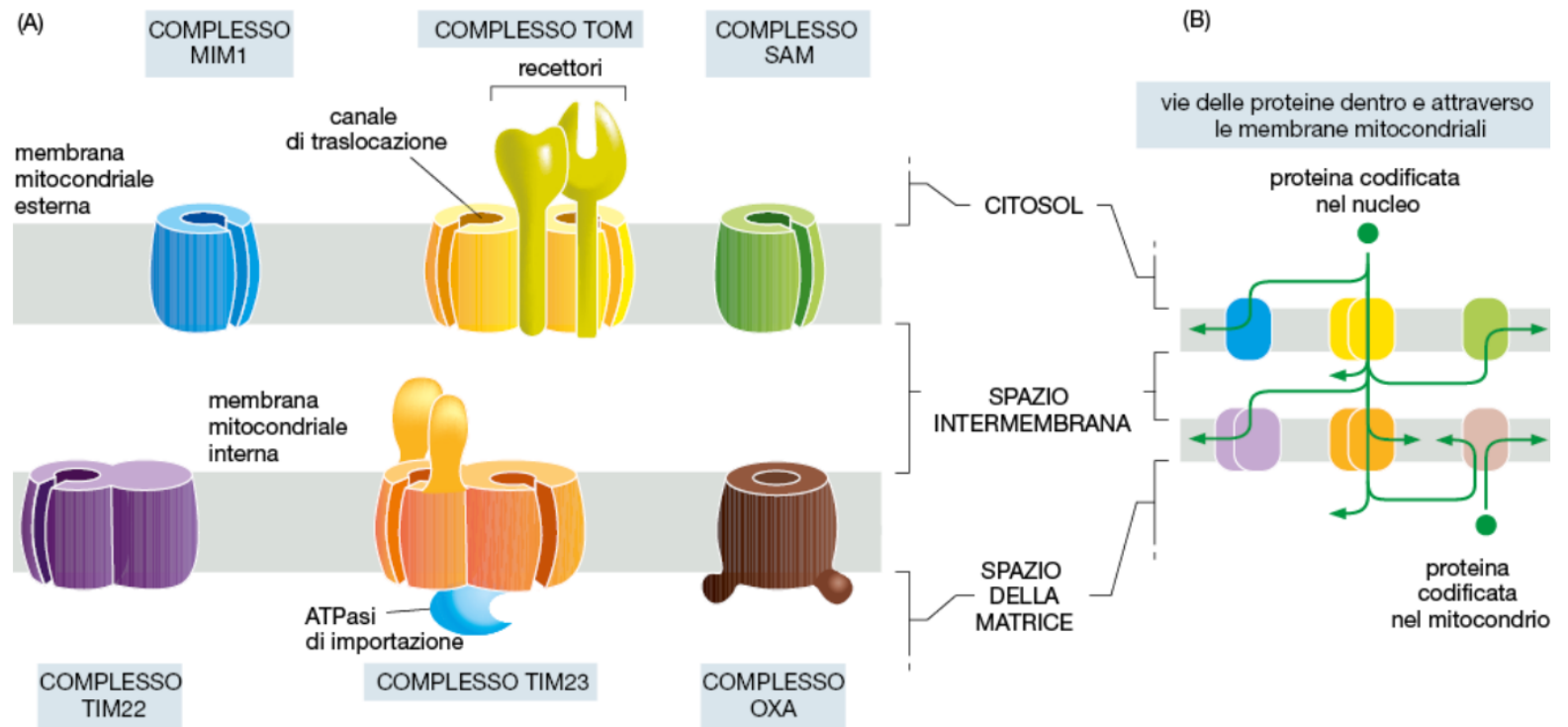
- Una o più **sequenze segnale** dirigono i **precursori proteici** al sottocompartimento giusto.
- **Per la matrice**: frequente **sequenza segnale N-terminale**, **rimossa** dopo l'import da una **peptidasi** del segnale.
- **Per OMM/IMM/spazio intermembrana**: spesso **segnali interni non rimossi**.
- Le sequenze sono **necessarie e sufficienti**: se fuse per ingegneria a qualunque proteina citosolica, la **dirigono** nel compartimento mitocondriale corretto.
- I **principi dell'ipotesi del segnale** (visti per il RE) **si applicano** anche ai mitocondri.

Traslocatori Mitocondriali

Import orchestrato da **complessi multimerici** nelle membrane: **TOM, TIM, SAM, MIM, OXA**.

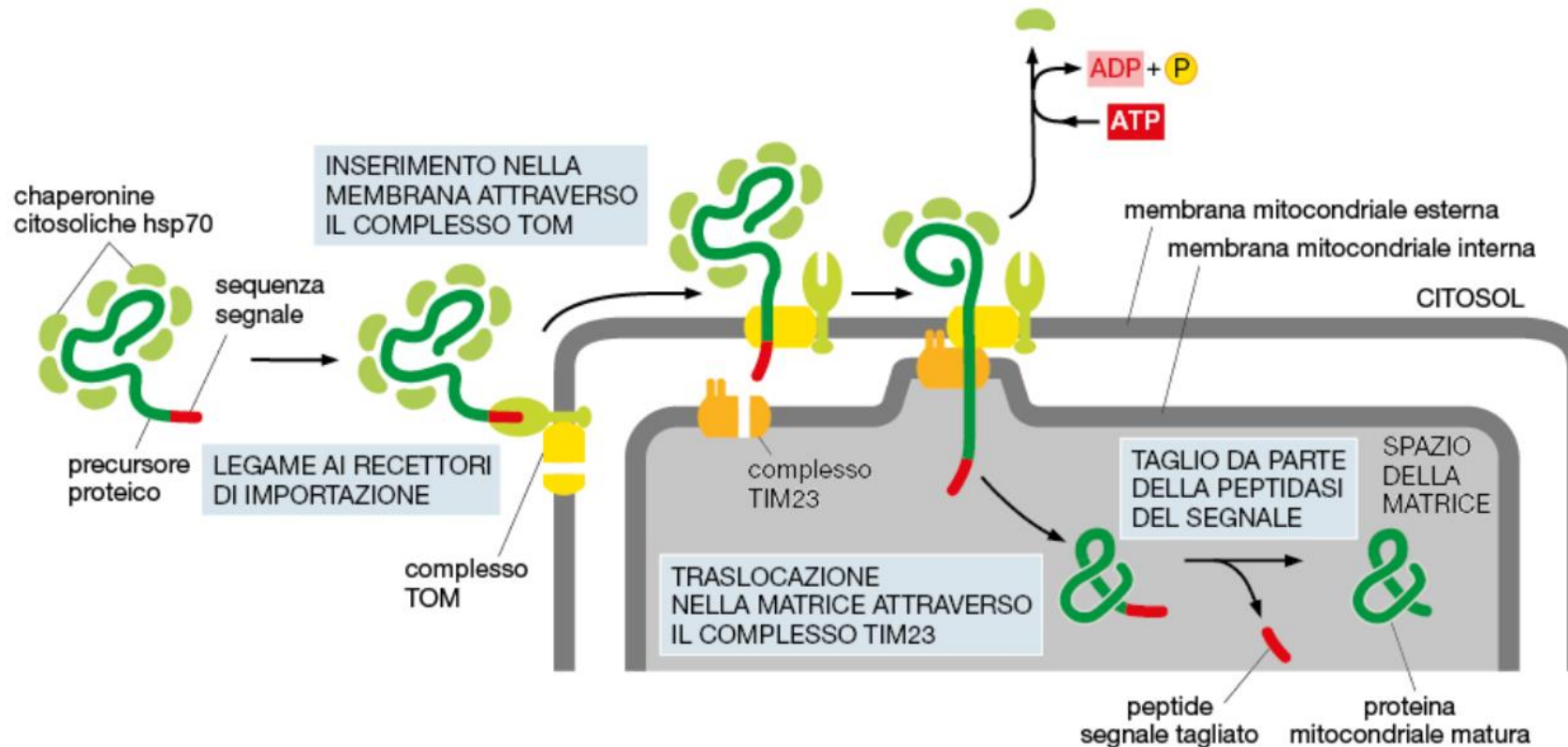
- **TOM (OMM): ingresso universale** per quasi tutte le **proteine mitocondriali codificate nel nucleo** → **dal citosol allo spazio intermembrana**.
- **SAM (OMM): riceve da TOM** le **proteine a β -barile** → **inserzione e ripiegamento** in OMM.

- **TIM23 / TIM22 (IMM):**
 - **TIM23:** trasloca **proteine della matrice**; è **accoppiato** sul lato matrice a un **complesso con Hsp70 mitocondriale** che, come **ATPasi di importazione**, **traina** la catena nel poro.
 - **TIM22/TIM23/OXA:** **inserimento** di proteine di **membrana interna**.
- **OXA (IMM):** inserisce **proteine di membrana codificate dal mitocondrio** (sintetizzate nella matrice dai **ribosomi mitocondriali**).



Integrazione Nucleo-Mitocondrio

- ~99% delle proteine mitocondriali è **importato** dal citosol.
- Una **quota di proteine di membrana** è **codificata da mtDNA** in **tutti** gli eucarioti → **sintesi in matrice e inserzione via OXA**.
- Queste proteine **mtDNA-coded** si **assemblano** con subunità **nuclear-coded** importate → **complessi della catena respiratoria**.
- **Non è ancora chiaro** come avvenga la **comunicazione** mitocondrio-nucleo per **bilanciare** l'espressione delle subunità dei **complessi della IMM**.



Import Post-Traduzionale di Proteine nei Mitocondri

RE vs Mitocondri: tempistica dell'import

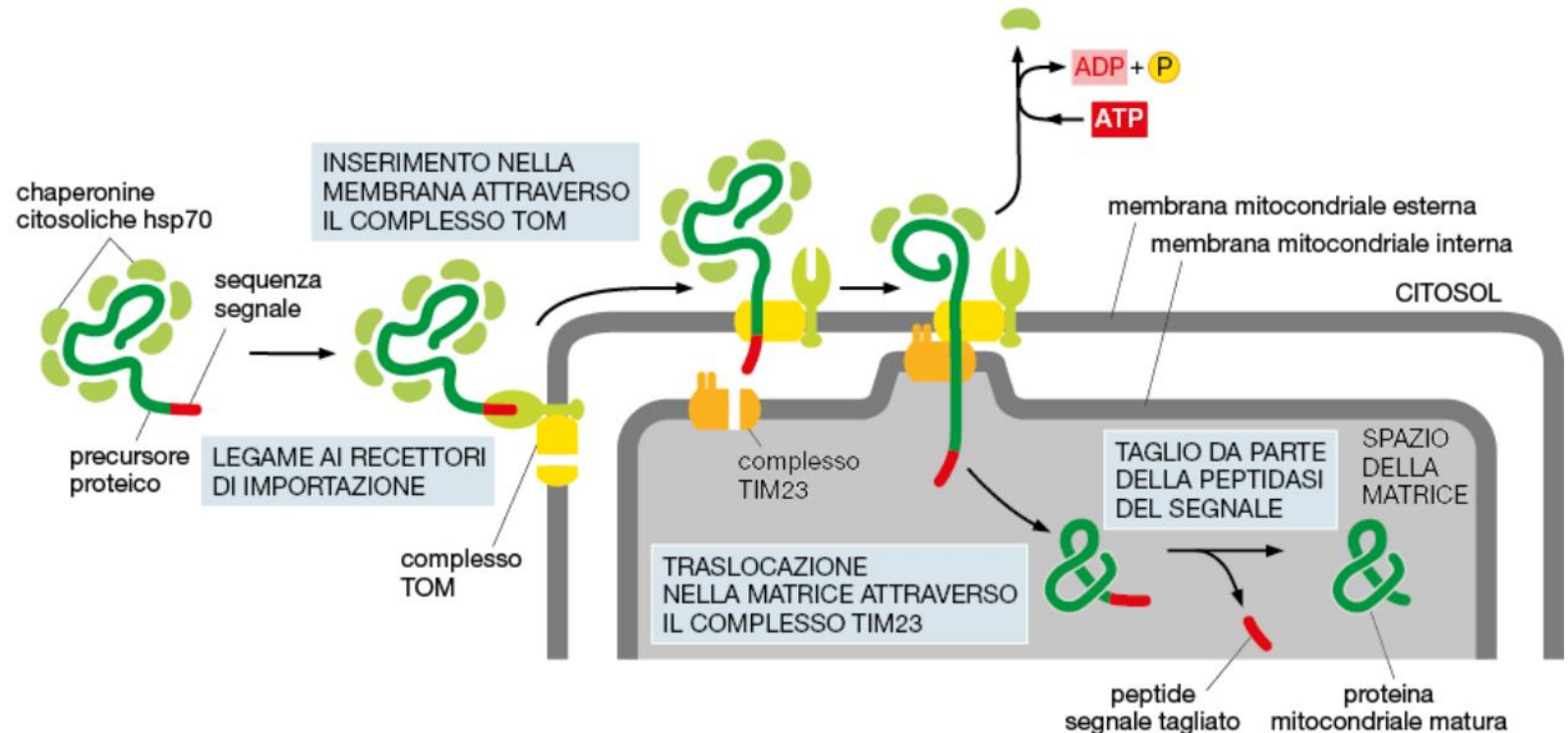
- **RE ruvido:** traslocazione **co-traduzionale** (ribosomi legati al traslocatore del RE).
- **Mitocondri:** traslocatori della **membrana esterna non** si legano ai ribosomi → **import post-traduzionale** per la **maggior parte** delle proteine.

Stato dei precursori nel citosol: non ripiegati

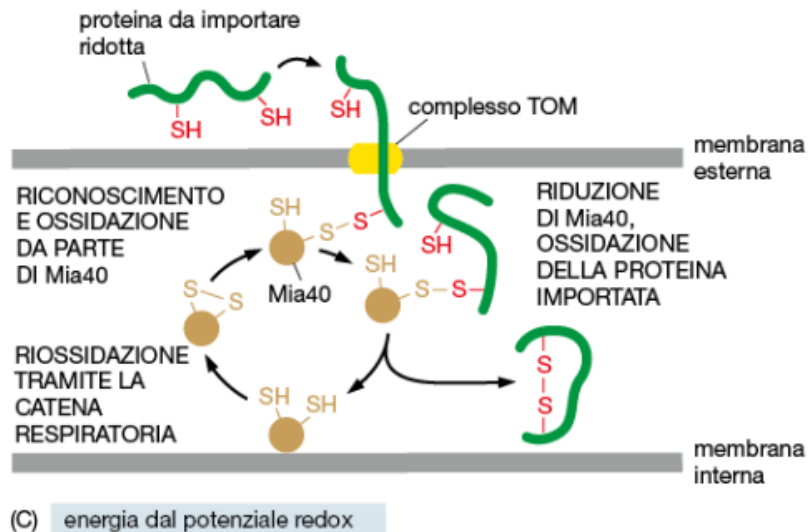
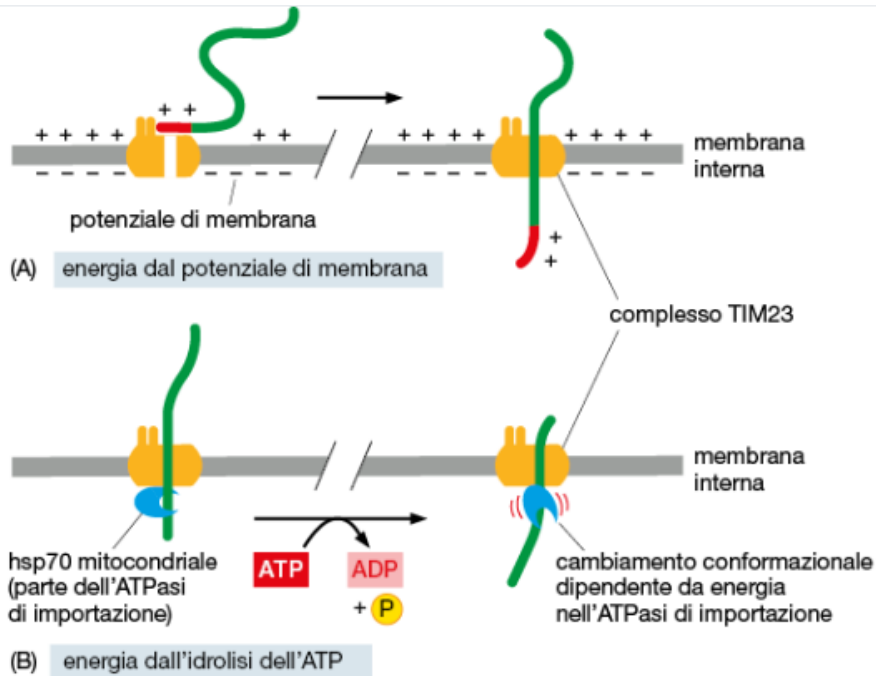
- Dopo la sintesi, i precursori **rimangono non ripiegati** grazie a: **hsp70 citosoliche** e chaperon **specifiche** per precursori mitocondriali (**legano le sequenze segnale**).
- Funzione: **prevenire aggregazione/ripiegamento** prematuro **prima del contatto con TOM**.

Primo passo: riconoscimento da TOM

- **Recettori TOM** riconoscono la **sequenza segnale** del precursore.
- La catena **non ripiegata entra nel canale**;
- le **proteine citosoliche** e la **sequenza segnale** di interazione vengono rimosse.



Quattro Siti, Tre Fonti Energetiche



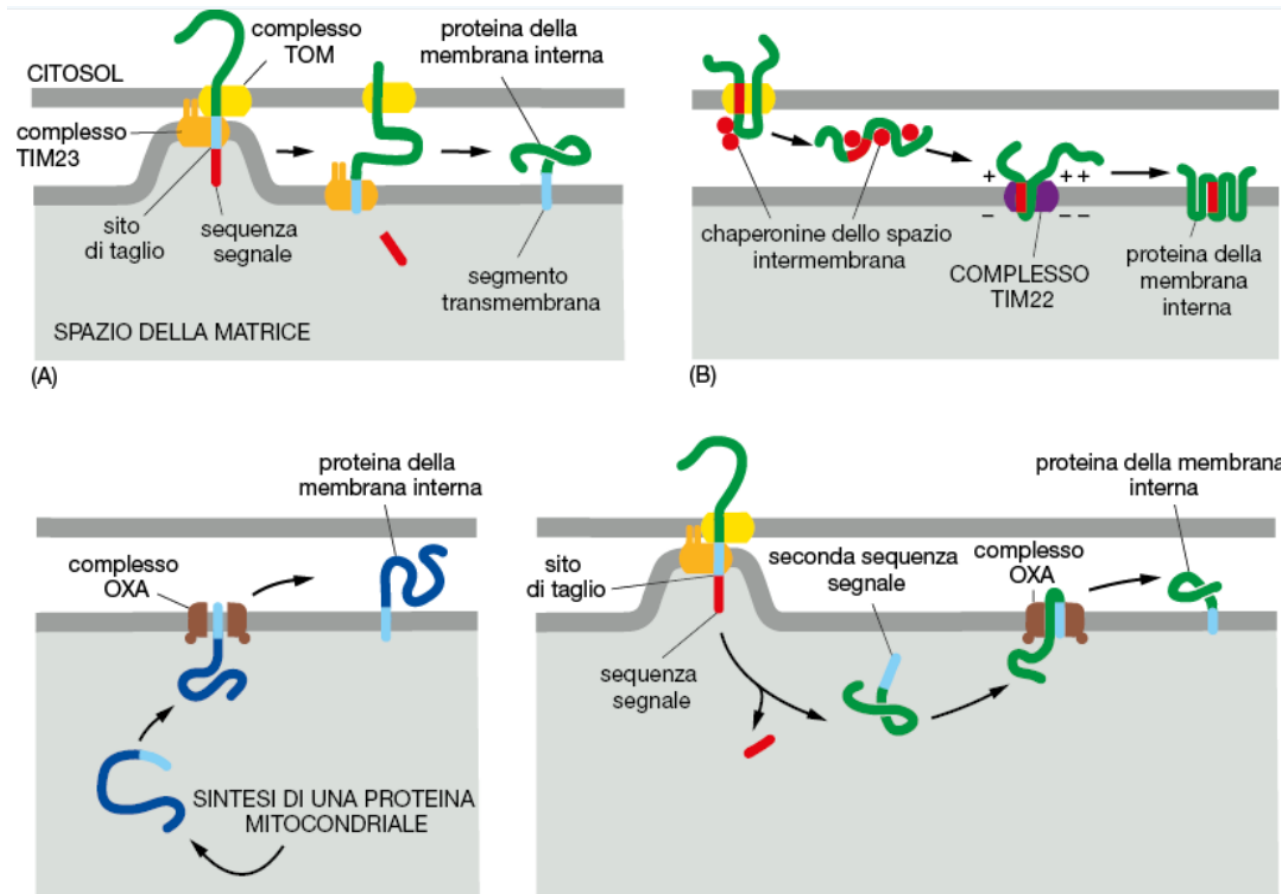
Import **direzionale** richiede energia. **Tre fonti:**

1. **ATP**: Idrolizzato sia da **Hsp70** nel **citosol** che in **matrice**;
2. **Potenziale di membrana** ($\Delta\psi$) attraverso la **IMM**;
 - Il **potenziale di membrana** è mantenuto dal **pompaggio di H^+**
 - La **segnale N-terminale**, carica positivamente, è **trainata elettroforeticamente** verso la **matrice**.
3. **Potenziale redox** della **catena respiratoria**.
 - la porzione emergente forma un **ponte disolfuro transitorio** con **Mia40** → **impedisce il reflusso** verso il citosol via TOM.
 - Rilascio finale in forma **ossidata** (con **disolfuri intracatena**) → proteina **ripiegata, intrappolata** nel SIM.
 - **Mia40** si **riduce** e poi viene **ri-ossidata** passando **elettroni** alla **catena respiratoria** nella **IMM**.

Non **tutti** i precursori richiedono **tutte** le fonti.

Tre sistemi di Trasporto IMM: Via TIM23

1. **TIM23** (via più comune; stop-transfer).
2. **TIM22** (via dei **carrier multipasso** di metaboliti).
3. **OXA** (inserzione **dal lato matrice**).



Via TIM23 con stop-transfer

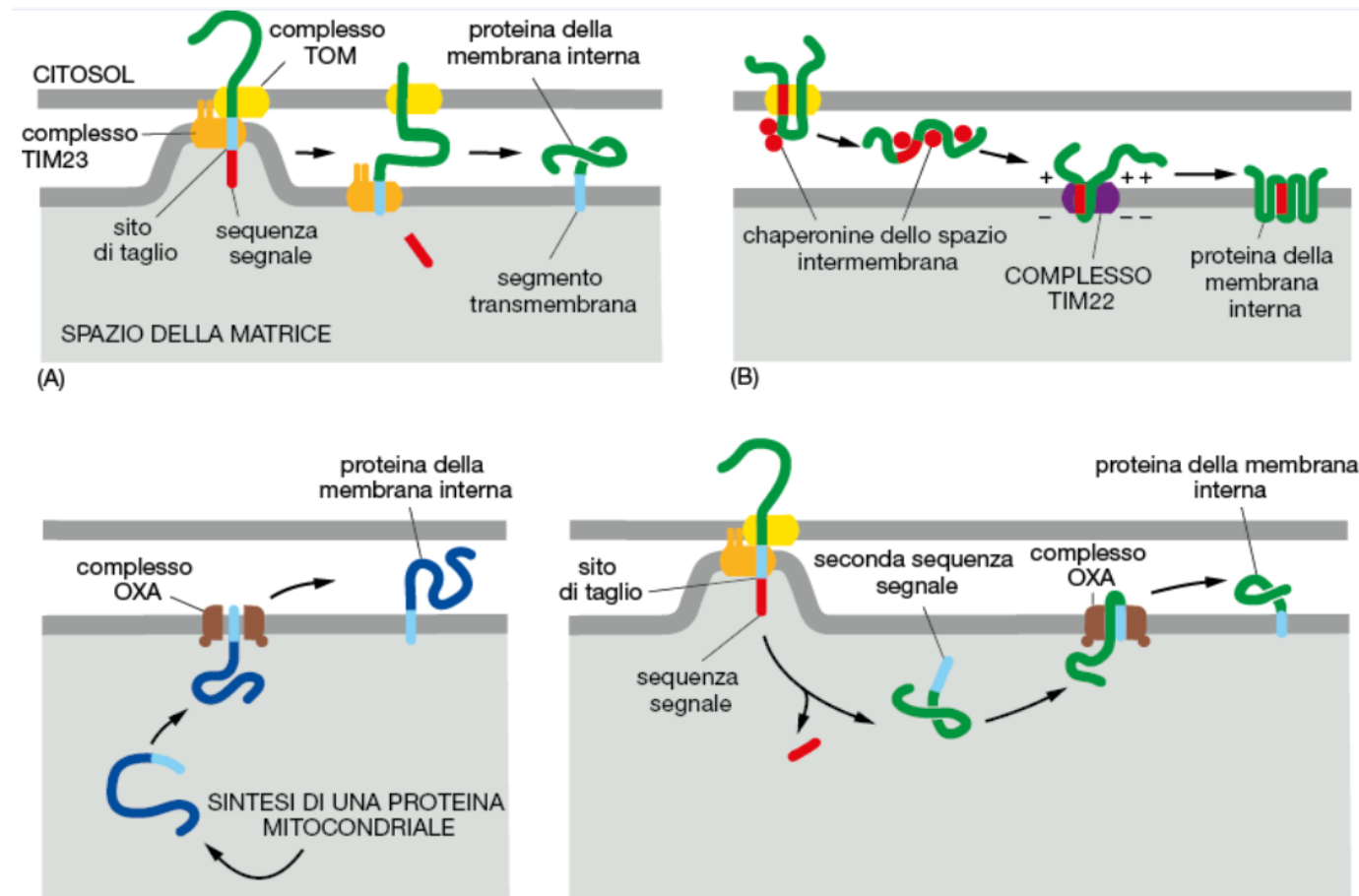
- Precursore sintetizzato nel **citosol** → **TOM** riconosce la **segnale N-terminale** → inizio import.
- **Solo la sequenza segnale N-terminale** entra effettivamente nello **spazio della matrice**.
- Una **sequenza idrofoba transmembrana**, posizionata subito **dopo** la segnale N-terminale, è riconosciuta da **TIM23** come **dominio TM**:
 - **inserimento laterale** del dominio TM nella **IMM** (ipotizzato tramite un **canale laterale** analogo a **Sec61** del RE).
 - **blocco della traslocazione** completa → la proteina **non** prosegue nella matrice.
- Il **resto della proteina** passa nello **spazio intermembrana** via **TOM**;
- La **segnale N-terminale** viene **tagliata** e **rilasciata** nella matrice.

Tre sistemi di Trasporto IMM: Via TIM22

1. **TIM23** (via più comune; stop-transfer).
2. **TIM22** (via dei **carrier multipasso** di metaboliti).
3. **OXA** (inserzione dal lato matrice).

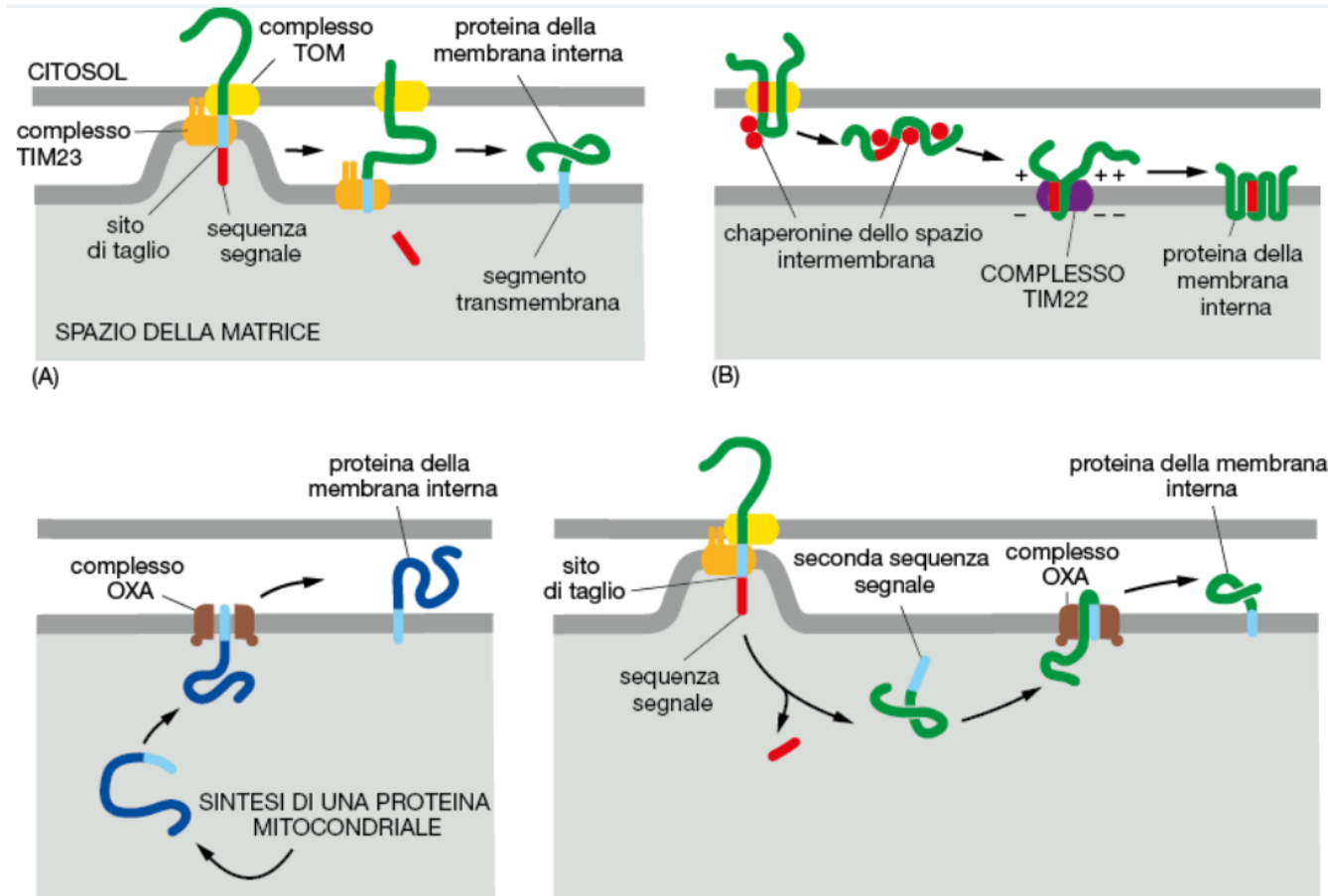
Via TIM22 per trasportatori multipasso

- Famiglia di **carrier** che trasferiscono **piccole molecole** attraverso la IMM (forniscono substrati alla matrice, esportano prodotti verso il citosol).
- Caratteristiche: **proteine multipasso** con **segnali interni**.
- Percorso:
 - **Ingresso via TOM** come “cappio” (loop).
 - **Chaperon dello spazio intermembrana** legano il precursore e lo **guidano** al **complesso TIM22**.
 - **TIM22** inserisce le **regioni idrofobe** nella IMM.
- **Requisito energetico/topologico**:
 - l'**inserimento** richiede una **variazione/presenza del potenziale di membrana ($\Delta\psi$)** per trasportare **segmenti specifici** verso il **lato matrice**, conferendo la **topologia corretta** al trasportatore.



Tre sistemi di Trasporto IMM: Via OXA

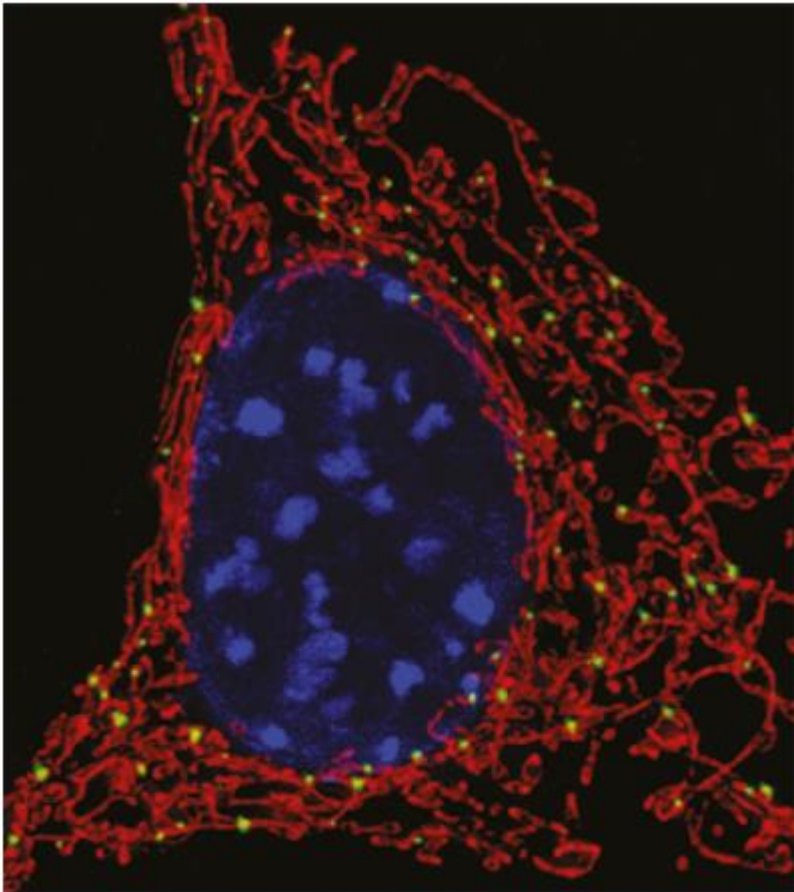
1. **TIM23** (via più comune; stop-transfer).
2. **TIM22** (via dei **carrier multipasso** di metaboliti).
3. **OXA** (inserzione **dal lato matrice**).



Via: OXA: inserzione dal lato matrice

- **OXA** è accessibile solo dal lato matrice della IMM.
- **Proteine mtDNA-codificate** (sintetizzate in **matrice**): inserzione **diretta** nella IMM via **OXA**.
- **Proteine nucleari** che usano **OXA** :
 - **Traslocazione completa in matrice** via **TOM** → **TIM23**.
 - **Taglio della segnale N-terminale** → **smascheramento** di una **segnale idrofoba** adiacente (nuovo **N-terminale**).
 - La **segnale idrofoba** dirige l'**inserzione** nella IMM tramite **OXA**.

Sistemi Genetici di Mitocondri e Cloroplasti



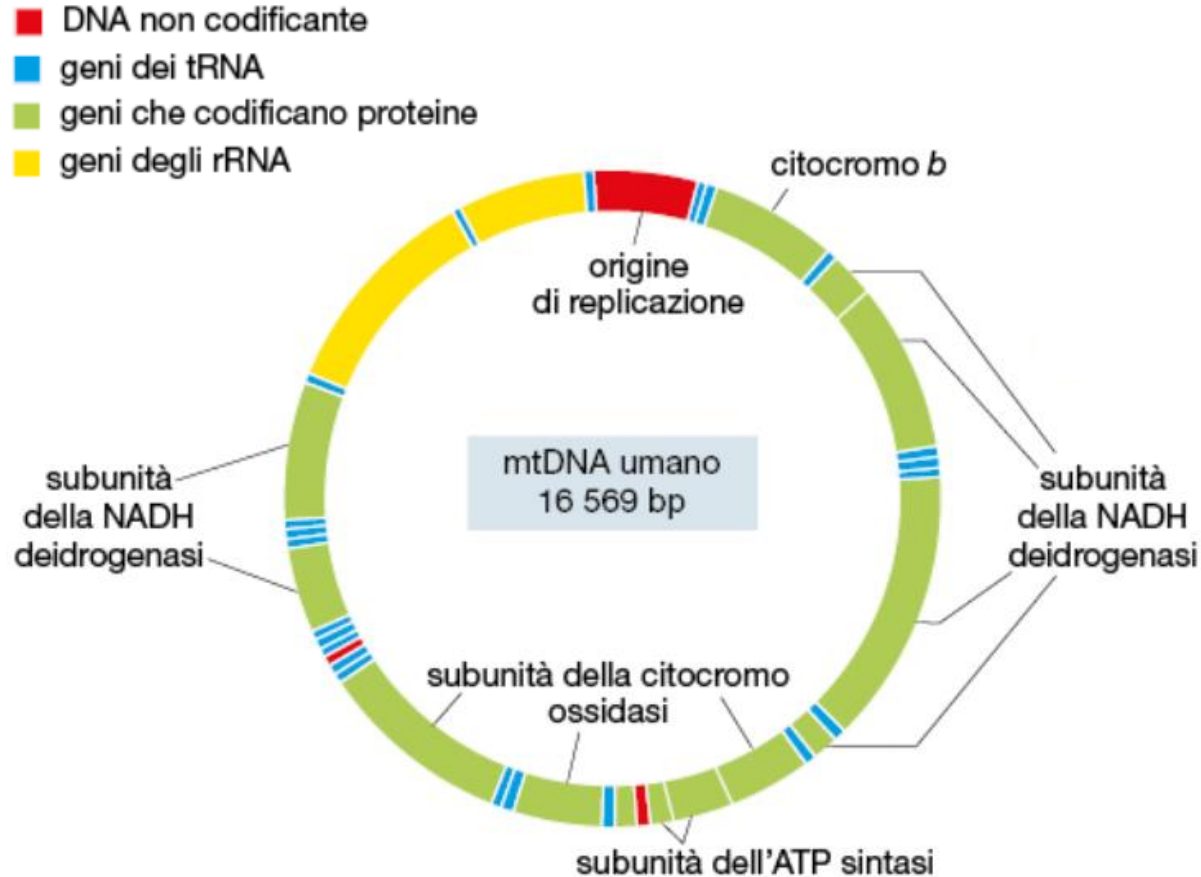
Origine ed endosimbiosi

- Mitocondri e cloroplasti derivano da **batteri endosimbionti**.
- Entrambi **conservano genomi propri** e il **macchinario** per trascrivere DNA→RNA e tradurre mRNA in proteine.
- **Proliferano** per **crescita e divisione** di organuli preesistenti.

Crescita, divisione e turnover degli organuli

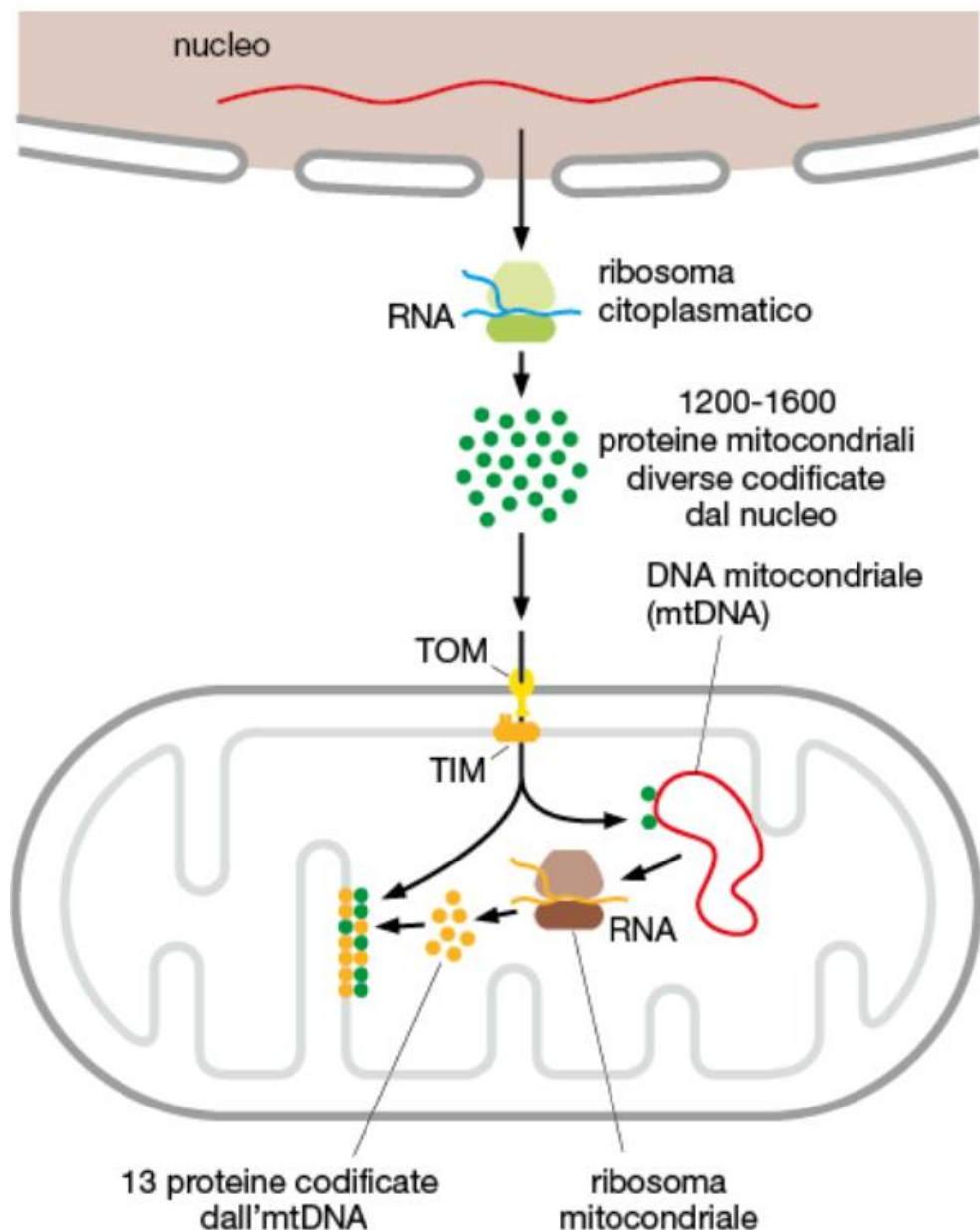
- **Nelle cellule in attiva proliferazione: ogni tipo di organulo raddoppia la massa** a ogni generazione ed è **distribuito** a ciascuna **cellula figlia**.
- Anche **cellule non in divisione: rimpiazzano organuli** degradati (turnover) o **ne producono in più** quando serve.
- Complessità: proteine mitocondriali e cloroplastidiche sono **codificate in due sedi** (nucleo + genomi organulari) → **coordinamento stretto** tra **due sistemi genetici**.

Caratteristiche “Batteriche”



- **Prove a supporto: Genomi circolari** in batteri, cloroplasti e mitocondri; **similarità nell'organizzazione genomica**.
- **Ribosomi dei cloroplasti**: molto simili a quelli batterici per **struttura** e **sensibilità ad antibiotici** (cloramfenicolo, streptomicina, eritromicina, tetraciclina).
- **Inizio della traduzione** nei cloroplasti: **N-formilmethionina** (come nei batteri), non **Met** come nel citosol eucariotico.
- **Sistemi mitocondriali**: meno simili ai batterici rispetto ai cloroplastici, ma:
 - ribosomi **strutturalmente simili** e **sensibili ad antibiotici antibatterici**;
 - **trascrizione** mitocondriale ricorda sistemi di **batteri e batteriofagi**.

Dipendenza dal Nucleo e Import Proteico



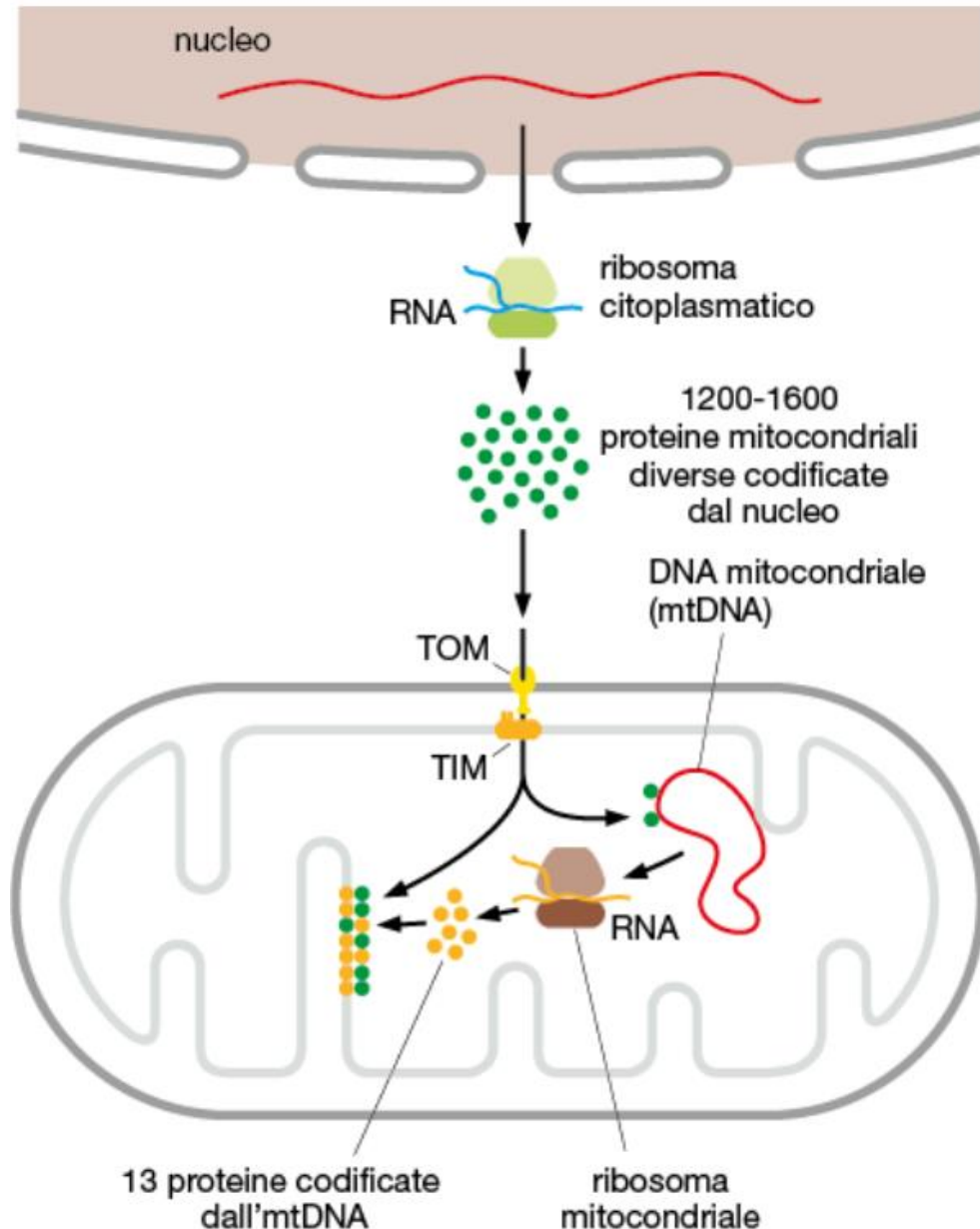
La **maggior parte** delle proteine organulari è **codificata dal DNA nucleare**.

- Sintesi nel **citosol** (**ribosomi citosolici**) → **import** nell'organulo tramite **traslocasi** di membrana **esterna** e **interna**.
- In questa sezione: focus su **genomi** e **sistemi genetici** organulari e sulle **conseguenze** di genomi separati per cellula e organismo.

Dove avvengono i processi genetici

- **Trascrizione DNA, sintesi proteica e replicazione DNA** avvengono **dove si trova il genoma**:
 - **matrice** (mitocondri)
 - **stroma** (cloroplasti).
- Enzimi che mediano questi processi sono **specifici dell'organulo** e **somigliano** a quelli **batterici** (o di **virus batterici**) più che agli omologhi eucariotici.

Trasferimento Genico del Mitocondrio verso il Nucleo



- Nel corso dell'evoluzione eucariotica si è verificato un **ampio trasferimento di geni** da mitocondri/cloroplasti al **DNA nucleare**.
- **Trasferimento riuscito = evento impegnativo**: ogni gene "migrato" deve:
 - **adattarsi** alle regole di **trascrizione nucleare** e **traduzione citoplasmatica**;
 - far sì che la **proteina** acquisisca una **sequenza segnale** per il **reimport** nel corretto organulo.

Biogenesi delle proteine della fosforilazione ossidativa

- La **maggior parte** delle subunità dei **complessi respiratori** è **codificata dal nucleo** (punti verde scuro).
- **Quota mtDNA** (punti arancione): **13 mRNA** → subunità OXPHOS.
- Trascrizione mtDNA → **13 mRNA + 24 RNA** (**22 tRNA + 2 rRNA**) necessari alla **traduzione sui ribosomi mitocondriali**.
- I **mRNA nucleari** sono tradotti su **ribosomi citoplasmatici**; le **proteine mitocondriali nucleari** entrano nei mitocondri via **TOM/TIM**.

Variabilità dei Genomi Mitocondriali

Genomi mt più piccoli (più “evoluti”):

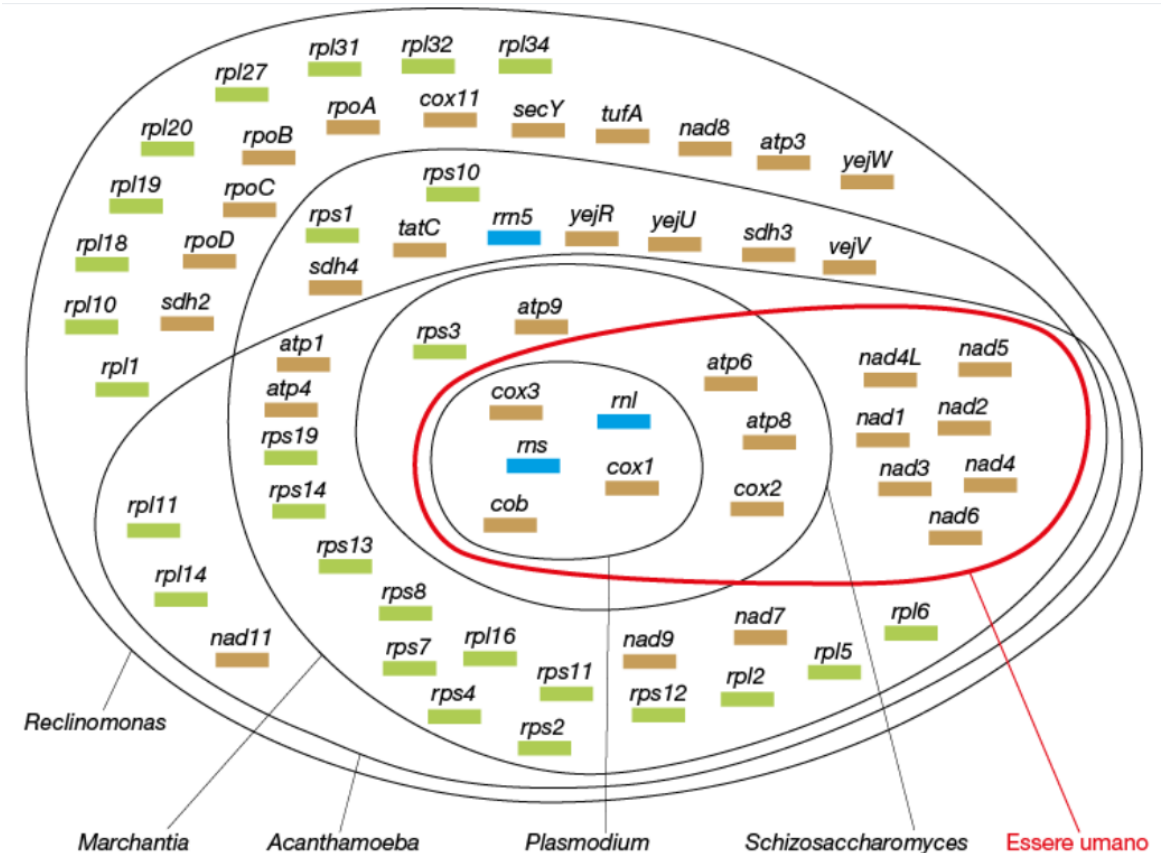
- codificano **solo**: alcune **proteine idrofobe** della **catena di trasporto elettronico (IMM)** + **rRNA** + **tRNA**.

Genomi mt più complessi:

- includono anche geni per **componenti del sistema genetico mitocondriale** (es. **subunità RNA polimerasi**, **proteine ribosomiali**).
- In **lievito** e **tutte le cellule animali** questi geni sono invece **nucleari**.

mtDNA umano: organizzazione e contenuto

- **~16.600 bp** totali.
- **Geni: 2 rRNA, 22 tRNA, 13 geni proteici.**
- **Due promotori trascrizionali, uno per ciascun filamento** del mtDNA.
- Molti altri mtDNA animali sequenziati contengono **lo stesso set di geni** e, spesso, **lo stesso ordine** (dai pesci ai mammiferi).



Codice Genetico Mitocondriale

Denso compattamento dei geni

- Praticamente **assenza di DNA non codificante**
- **Pochissimo spazio** per sequenze regolatrici; il poco DNA non codificante è per l'**origine di replicazione** (controllo replicazione/trascrizione).

Uso leggermente ridondante dei codoni

- Nei mitocondri **bastano 22 tRNA**.
- Regole **codone-anticodone** meno rigide: **oscillazione (“wobble”)** con “**due accoppiamenti su tre**” → molti tRNA riconoscono **uno qualunque dei 4 nucleotidi in terza posizione** → si riduce il numero di tRNA necessari.

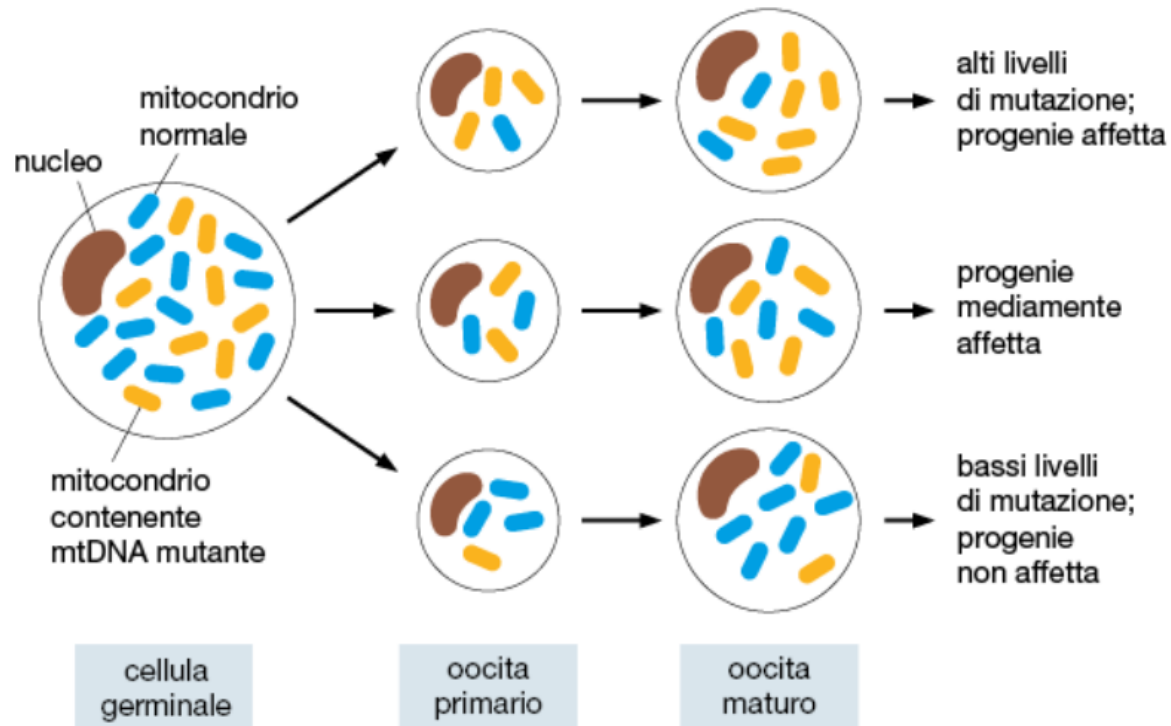
Codice genetico variante

- **4/64 codoni** hanno significati **diversi** rispetto al codice standard.
- Implicazione: **deriva casuale** del codice mitocondriale tollerabile - cambiamenti su codoni **rari** meno deleteri.

Codone	Codice “universale”	Codici mitocondriali			
		Mammiferi	Invertebrati	Lieviti	Vegetali
UGA	STOP	<i>Trp</i>	<i>Trp</i>	<i>Trp</i>	STOP
AUA	Ile	<i>Met</i>	<i>Met</i>	<i>Met</i>	Ile
CUA	Leu	Leu	Leu	<i>The</i>	Leu
AGA AGG	Arg	<i>STOP</i>	<i>Ser</i>	Arg	Arg

*Il testo in corsivo rosso indica che il codice differisce dal codice “universale”.

Ereditarietà dei Geni degli Organuli



Uniparentale, materna in animali e (spesso) piante.

- Lo **oocita** apporta **~100.000 copie** di mtDNA; lo **spermatozoo** “alcune”.
- Due meccanismi **escludono i mitocondri paterni**:
 - Durante la **maturazione degli spermatozoi** il loro **mtDNA** viene **degradato**;
 - Dopo la fecondazione i mitocondri dello spermatozoo sono **ubiquitinati** e **rimossi per autofagia**

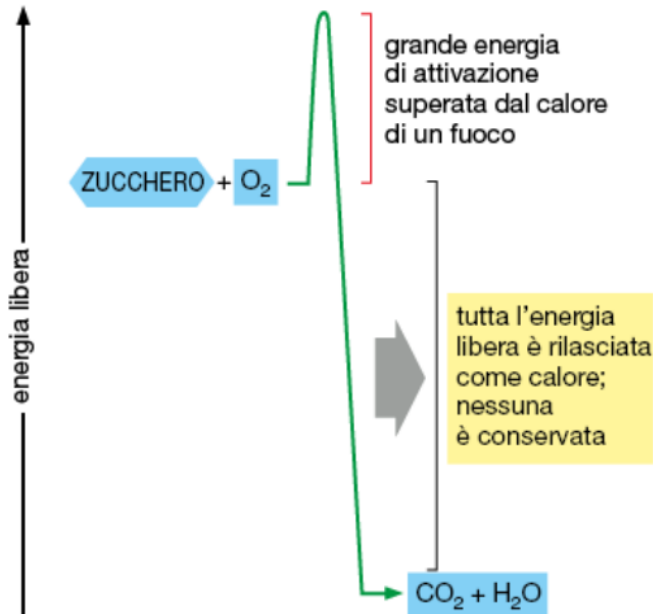
Dalla Dieta alle Unità Utilizzabili

- Le **macromolecole** alimentari vanno **demolite** prima dell'uso come **energia** o **mattoni**:
 - Proteine** → **amminoacidi**
 - Polisaccaridi** → **zuccheri**
 - Grassi** → **acidi grassi** + **glicerolo**
- Dopo la **digestione enzimatica**, le **piccole molecole** entrano nel **citosol**, dove inizia la **graduale ossidazione**.

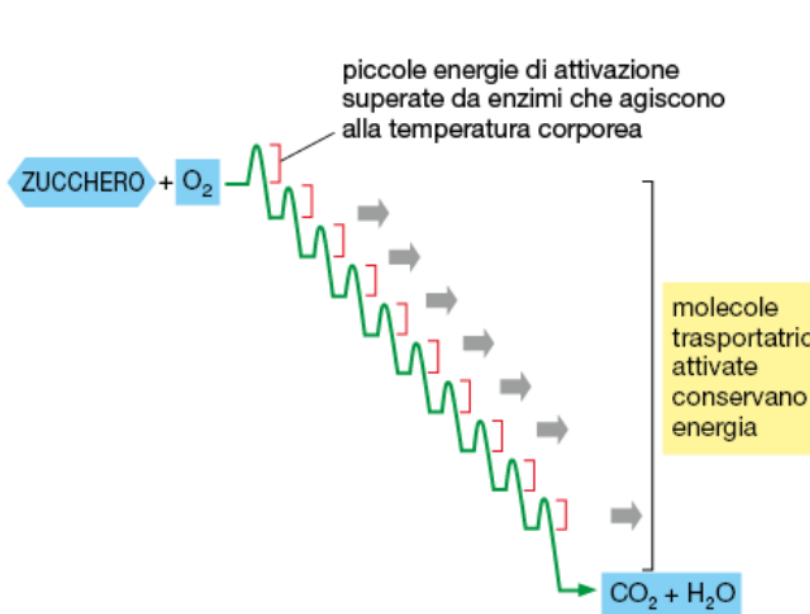
Ossidazione controllata degli zuccheri

- Gli **zuccheri** sono combustibili chiave → ossidati a **CO₂** e **H₂O** in **piccoli passaggi controllati**.
- Schema generale del **catabolismo degli zuccheri**: produce **ATP**, **NADH** e altri **trasportatori attivati** (valido in animali; via molto simile in piante, funghi, molti batteri).
- Anche **acidi grassi** e, se necessario, **proteine** possono alimentare la produzione di energia

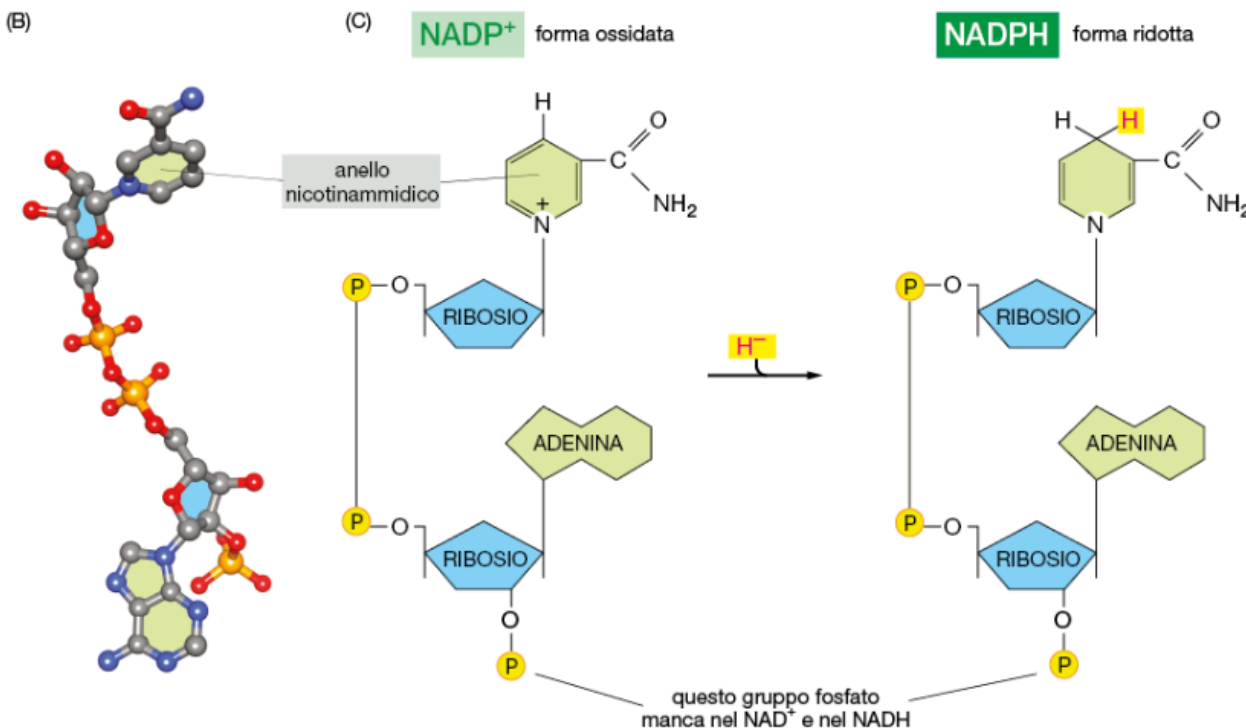
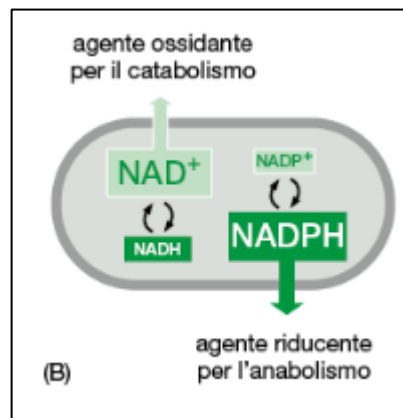
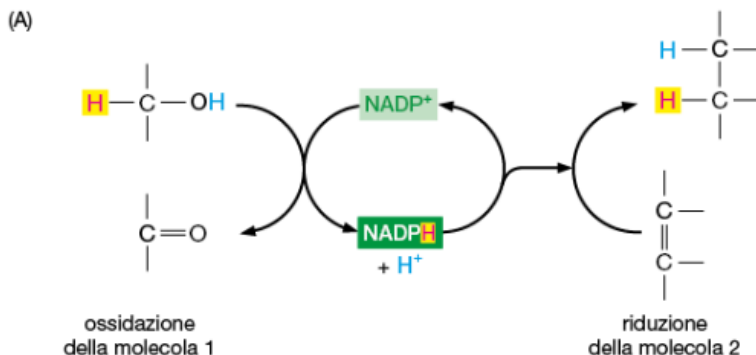
(A) COMBUSTIONE DIRETTA DI UNO ZUCCHERO IN UN SISTEMA NON VIVENTE



(B) OSSIDAZIONE IN PIÙ PASSAGGI DI UNO ZUCCHERO IN UNA CELLULA



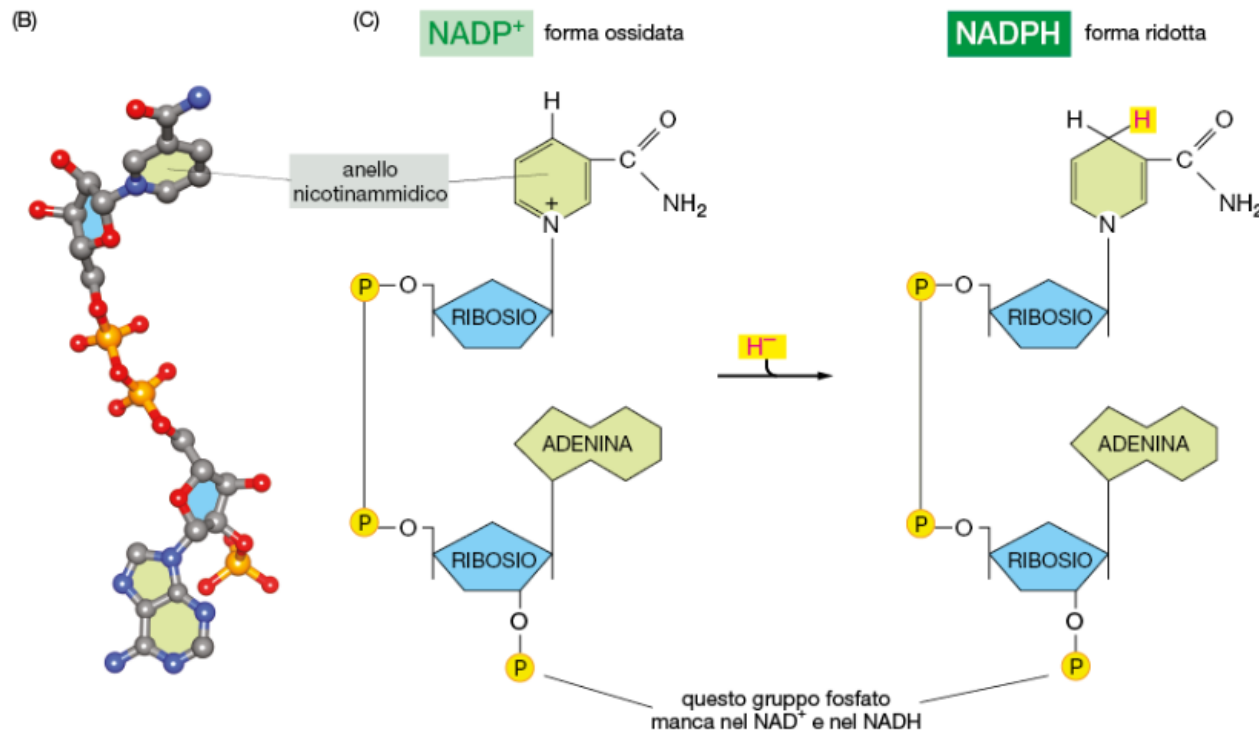
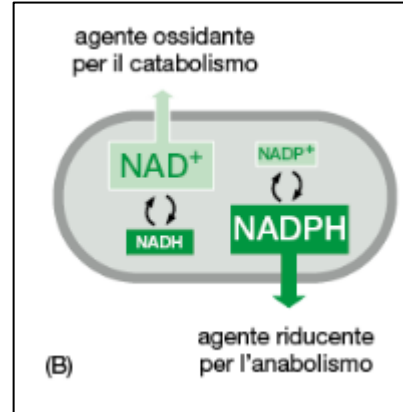
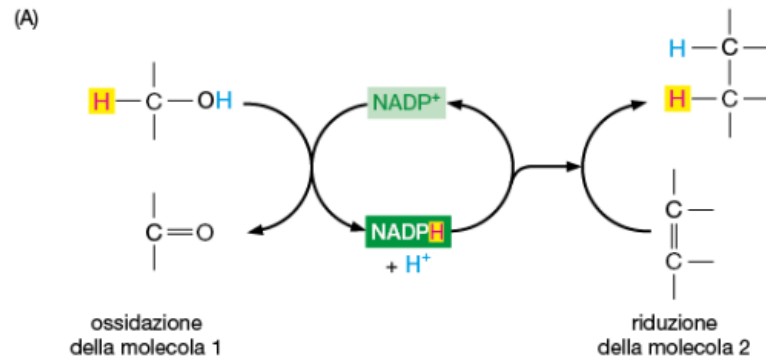
Ruolo Generale dei Trasportatori Redox



Ruolo generale dei trasportatori redox

- Alcuni **trasportatori attivati** partecipano a **reazioni di ossidoriduzione accoppiate** nelle cellule.
- **Specializzazione:** trasporto di **elettroni ad alta energia** e **atomi di idrogeno**.
- I principali: **NAD⁺** (nicotinammide adenina dinucleotide) e **NADP⁺** (nicotinammide adenina dinucleotide fosfato).
- In reazioni enzimatiche in cui il **substrato è ossidato**, **NAD⁺/NADP⁺** raccolgono **2 e⁻ + 1 H⁺** (uno **ione idruro H⁻**) → **NADH/NADPH**.

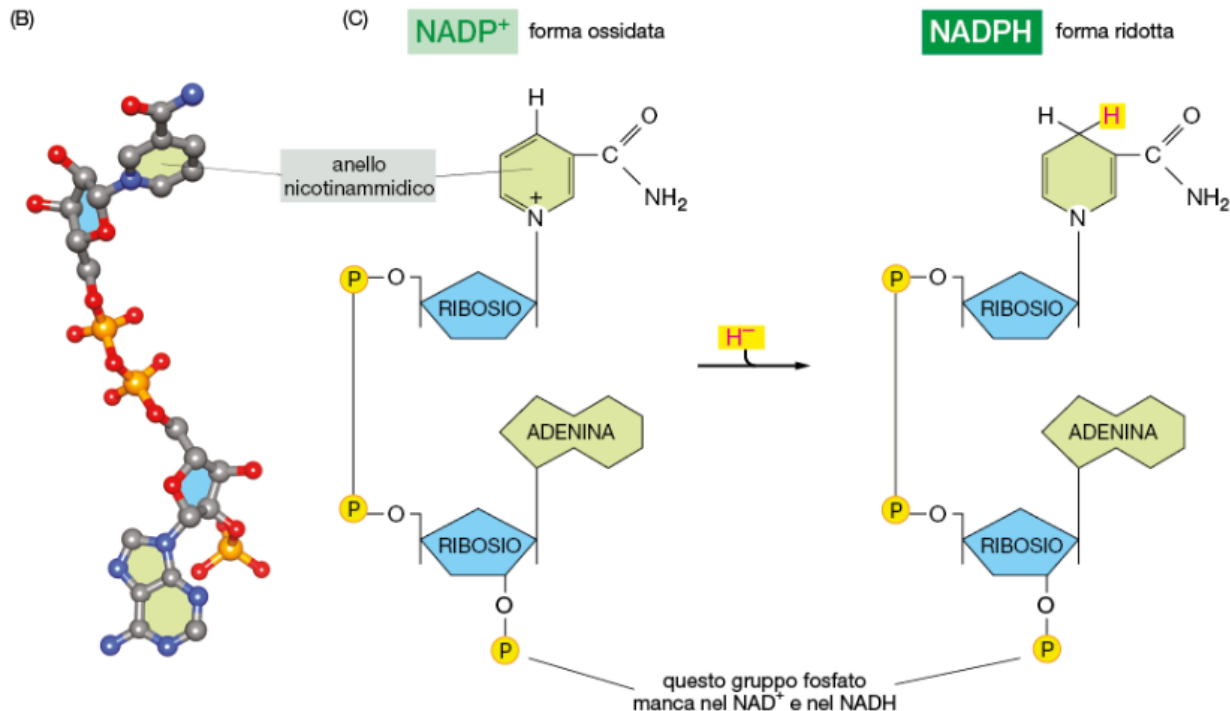
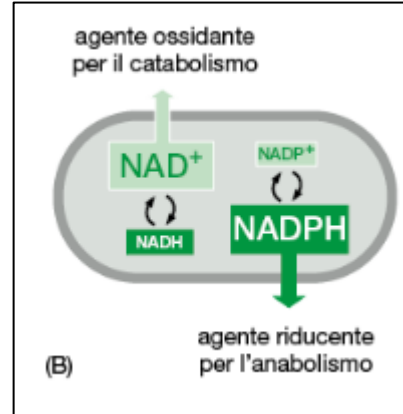
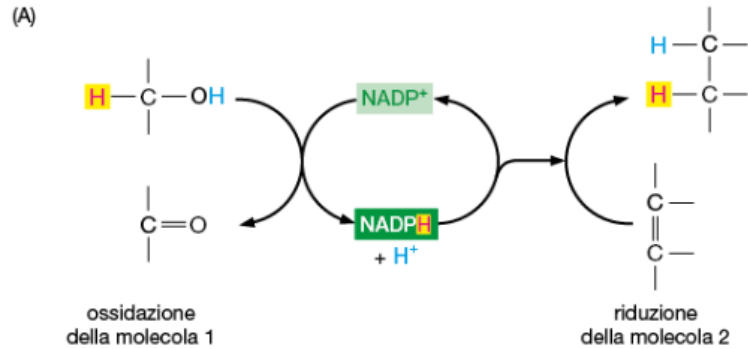
Chimica dell'Idruro e Accoppiamento Energetico



Chimica dell'idruro e accoppiamento energetico

- **NADP⁺ + H⁻ → NADPH**: i 2 e⁻ e 1 H⁺ si aggiungono all'**anello di nicotinammide**; il **secondo H⁺** è rilasciato in soluzione.
- Reazione tipica **redox**: **substrato ossidato**, **NADP⁺ ridotto**.
- **NADPH cede** facilmente l'**H⁻** in una reazione successiva (rigenera **NADP⁺**) perché l'anello torna a una **configurazione elettronica più stabile** → **ΔG < 0** grande (analogia con **ATP** che trasferisce Pi).
- Il **fosfato aggiuntivo** di **NADPH** non influenza la **chimica del trasferimento di e⁻**, ma **modifica la forma** → consente a **NADH** e **NADPH** di legare **set enzimatici diversi**.

Divisione del Lavoro e Controllo Indipendente

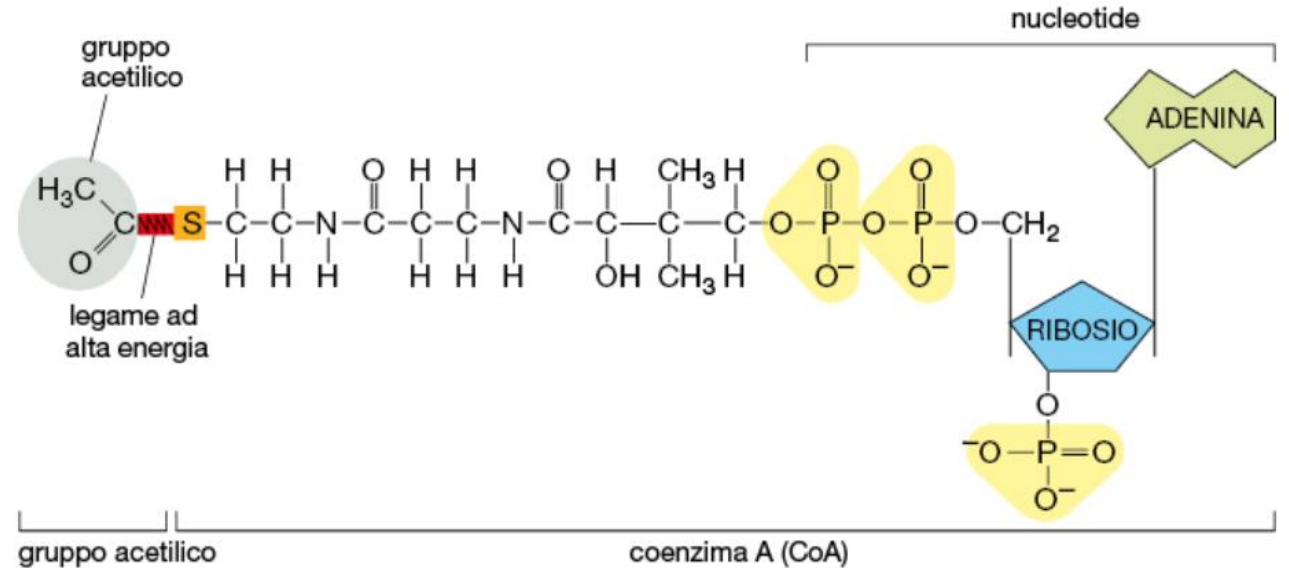


- **Perché due cofattori simili?**
- Per **regolare indipendentemente** due reti di trasferimento di e^- .
- **NADPH**: opera con enzimi **anabolici** → donatore di e^- ad alta energia per **biosintesi**.
- **NADH**: **intermedio catabolico** → conferisce e^- alla **catena respiratoria** per generare **ATP**.
- **Vie distinte** generano **NADH** da **NAD⁺** e **NADPH** da **NADP⁺** → **regolazione separata** delle scorte di e^- per scopi **opposti**.
- **Rapporti intracellulari**:
 - **[NAD⁺]/[NADH] alto** → abbastanza **NAD⁺** come **agente ossidante** (catabolismo).
 - **[NADP⁺]/[NADPH] basso** → abbastanza **NADPH** come **agente riducente** (anabolismo).

Acetil-CoA e FADH₂

Acetil-CoA: il vettore a due carboni

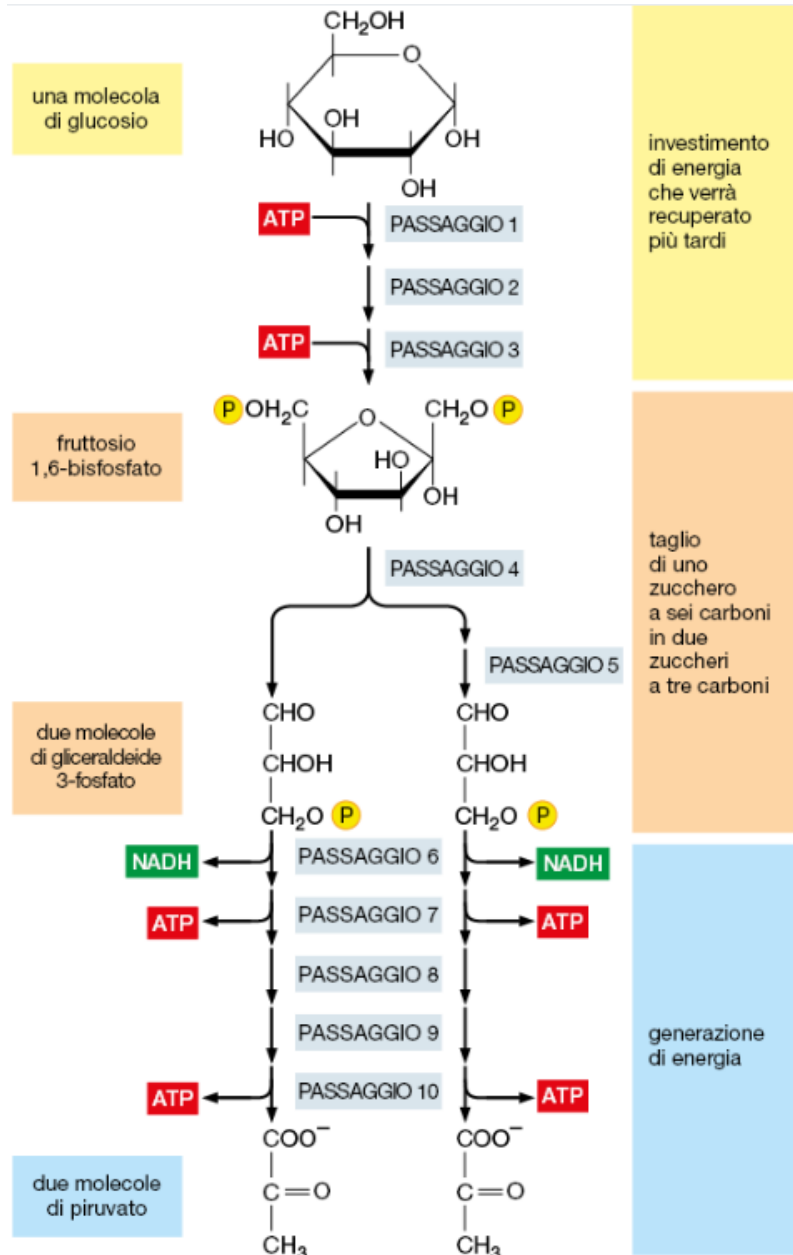
- **Coenzima A** porta un **gruppo acetile** in **legame ad alta energia** → **acetil-CoA**.
- Usato per **aggiungere unità C₂** nella **biosintesi** di molecole più grandi.
- Nelle molecole-trasportatore, il **gruppo trasferibile** è una **piccola parte**; il resto è una **“maniglia” organica** per il **riconoscimento enzimatico**.
- Spesso la maniglia contiene un **derivato nucleotidico (ADP)** → possibile traccia di un **antico mondo a RNA**.



FADH₂ e altri vettori

- **FADH₂** (flavina adenina dinucleotide ridotto): funziona **analogamente a NADH** nel **trasferimento di elettroni e protoni**.
- Altri trasportatori attivati trasferiscono **gruppi metilici, carbossilici o glucosio** per **biosintesi**.

La Glicolisi: Via Centrale che Produce ATP

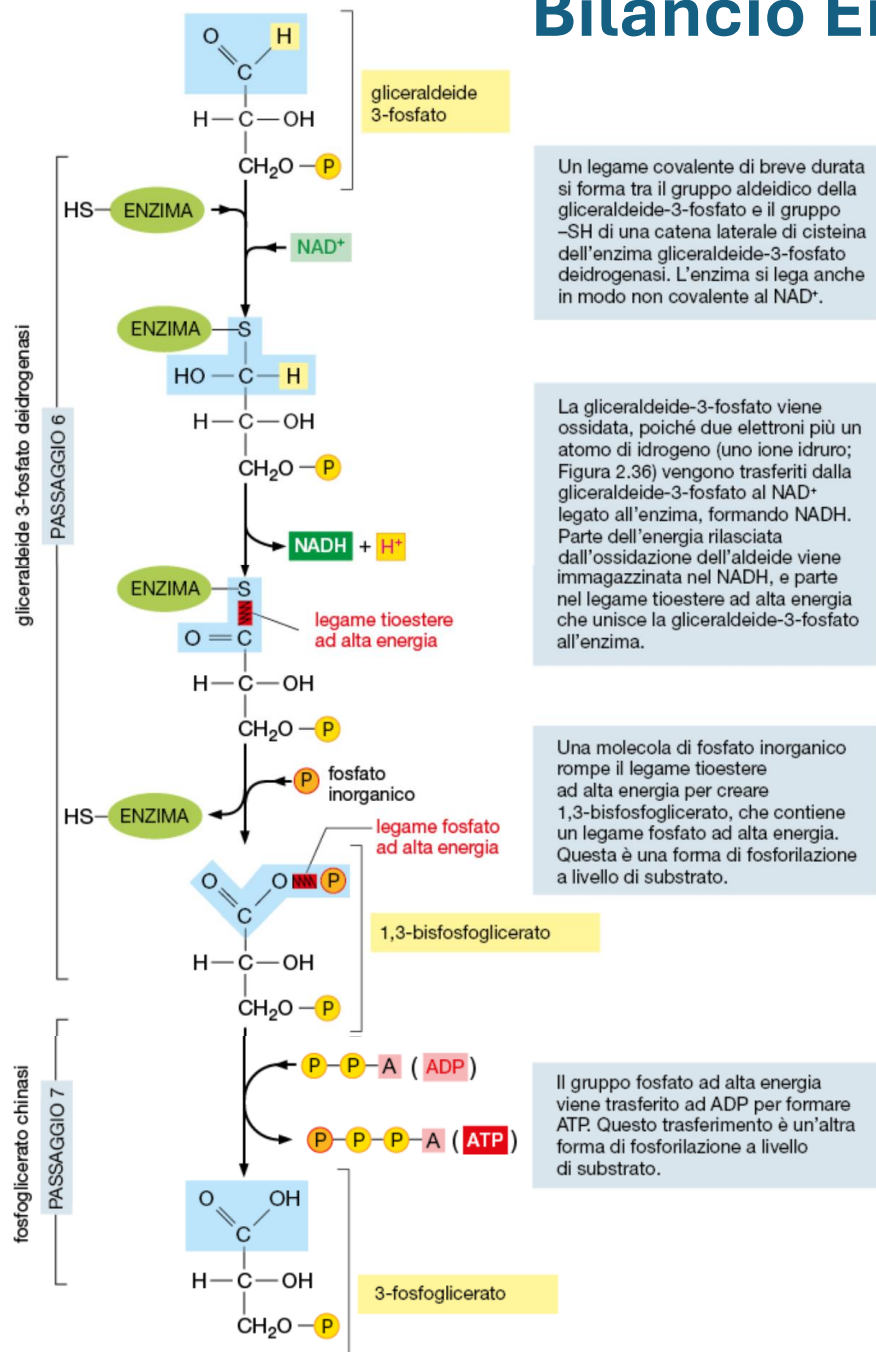


- **Glicolisi** = sequenza di **10 reazioni** nel **citosol**; **non richiede O_2** (opera anche in microrganismi **anaerobi**).
- Probabile **origine antica** (prima dell'aumento atmosferico di O_2).
- **Bilancio per 1 glucosio (C_6) $\rightarrow$ 2 piruvati (C_3):**
 - **Investimento: 2 ATP** (passi iniziali).
 - **Produzione: 4 ATP** (passi successivi).
 - **Guadagno netto: +2 ATP**.
 - **NADH: 2 molecole** per glucosio.

Meccanismo redox durante la glicolisi

- L'**ossidazione** dello zucchero avviene quando **NAD^+** rimuove **elettroni** da carboni derivati dal glucosio $\rightarrow$ **NADH**.
- Parte dell'energia libera rilasciata:
 - **direttamente $\rightarrow$ ATP** (passaggio 7 e 10);
 - **immagazzinata in NADH** (trasportatore di elettroni attivato).
- In condizioni **aerobiche**, il **NADH cede e^-** alla **catena di trasporto** $\rightarrow$ **NAD^+** rigenerato per sostenere la **glicolisi**.

Bilancio Energetico: Reazioni Accoppiate

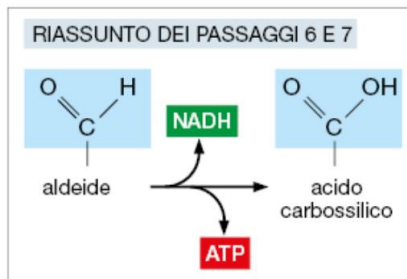


Gliceraldeide 3-fosfato (G3P) (aldeide) $\rightarrow$ **3-Fosfoglicerato** (acido carbossilico).

- **G3P deidrogenasi** forma **legame covalente** con l'aldeide;
- **Ossida** l'aldeide $\rightarrow$ acido;
- Inserisce **Pi** $\rightarrow$ genera **1,3-bisfosfoglicerato (1,3-BPG)**, intermedio ad alta energia.
- **Fosfoglicerato chinasi** trasferisce il **fosfato ad alta energia** del 1,3-BPG a **ADP** $\rightarrow$ **ATP** (fosforilazione a livello del substrato).
- **Bilancio energetico del blocco:** ossidazione dell'aldeide fornisce energia sufficiente per **formare 1 ATP** e ridurre $\text{NAD}^+ \rightarrow \text{NADH}$, con ΔG° totale = **-12,5 kJ/mol** (favorevole).

Rese complessive della glicolisi

- Per **1 glucosio**: **2 ATP netti** + **2 NADH** + **2 piruvati**.
- Principio chiave: l'**ATP** si forma facilmente da **ADP** quando la via genera **intermedi** con **legami fosfato a energia maggiore** di quella dell'ATP.



L'ossidazione di un'aldeide ad acido carbossilico rilascia energia, gran parte della quale viene acquisita dai trasportatori attivati ATP e NADH.

Fermentazioni: ATP Senza Ossigeno

- Nella maggior parte delle **cellule animali e vegetali**, la **glicolisi** è solo il **preludio** allo stadio finale:
 - Piruvato** → trasporto nei **mitocondri** → CO_2 + **acetil-CoA** → **ossidazione completa** a CO_2 + H_2O .

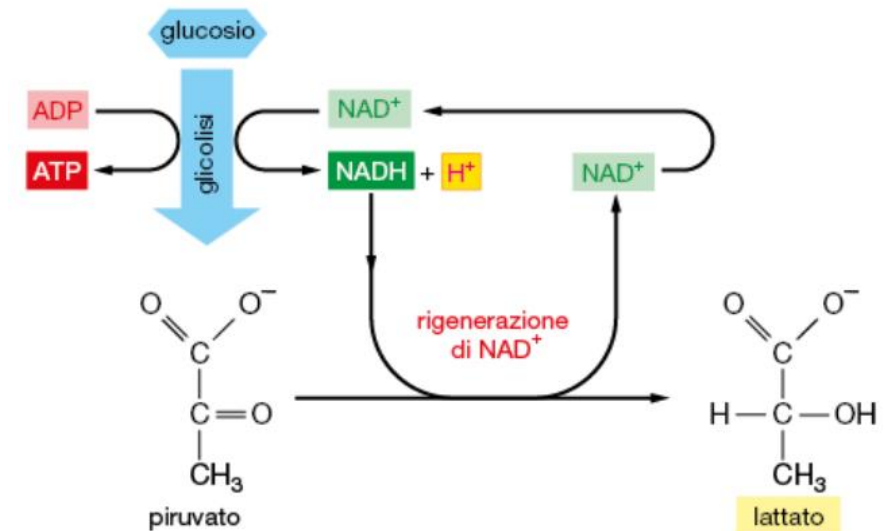
Due vie per la **demolizione anaerobica del piruvato**.

(A) In anaerobiosi, in una **cellula muscolare** in forte contrazione, il **piruvato** prodotto dalla glicolisi è **convertito in acido lattico** (lattato). Questa reazione **rigenera il NAD^+ necessario** per il passaggio 6 della **glicolisi**, ma l'intera via produce in totale molta meno energia dell'ossidazione completa.

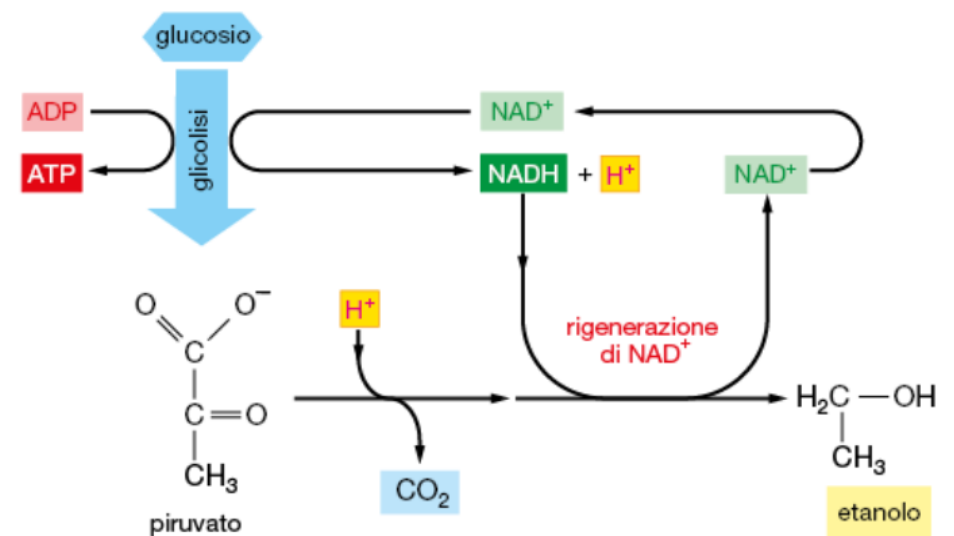
(B) Nei lieviti, il **piruvato** è **convertito** tramite acetaldeide in diossido di carbonio ed **etanolo**. Di nuovo, questa via **rigenera NAD^+** dal NADH , necessario per permettere alla glicolisi di continuare.

- In anaerobiosi, **piruvato e elettroni del NADH restano nel citosol**.
- Il **piruvato viene convertito in prodotti escreti**:
 - Lieviti: etanolo + CO_2 (**Fermentazione Alcolica**).
 - Muscolo: acido lattico (**Fermentazione Lattica**).

(A) FERMENTAZIONE IN UNA CELLULA MUSCOLARE IN FORTE CONTRAZIONE



(B) FERMENTAZIONE NEL LIEVITO



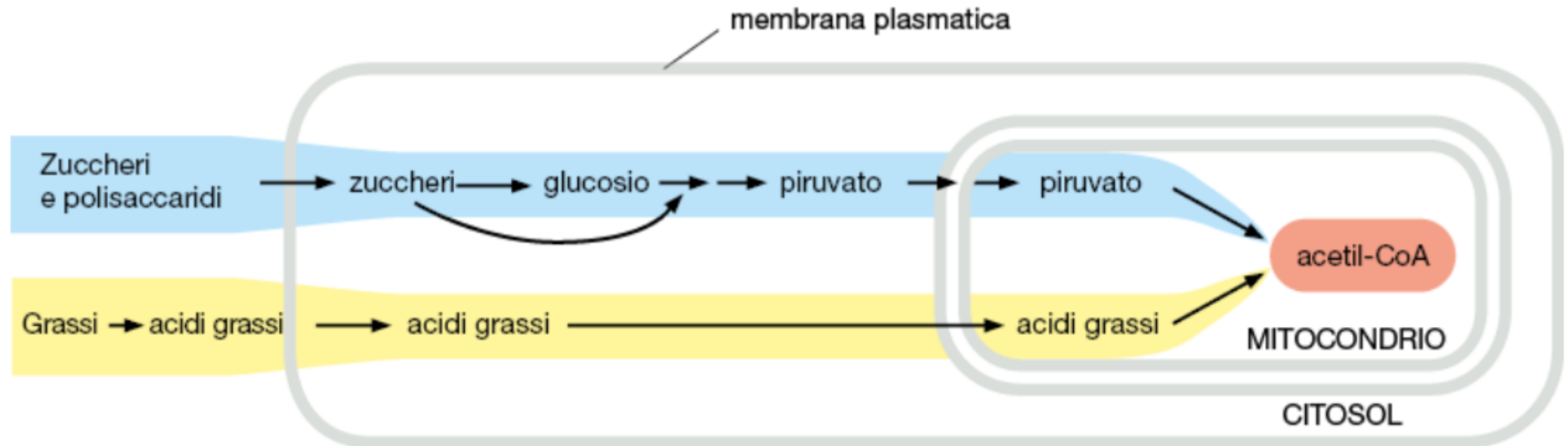
Vie di Produzione dell'Acetil-CoA

- **Zuccheri: piruvato** (dal citosol) → **trasporto** nel mitocondrio → **decarbossilazione ossidativa** da **complesso piruvato deidrogenasi (PDH)**:
 - Prodotti: **1 CO₂** (scarto) + **1 NADH** + **acetil-CoA**.
- **Acidi grassi: importati** nel mitocondrio → **ossidazione completa** (β-ossidazione).

Nelle cellule eucariote il **mitocondrio** è il luogo in cui viene **prodotto acetil-CoA** a partire da entrambi i tipi di molecole

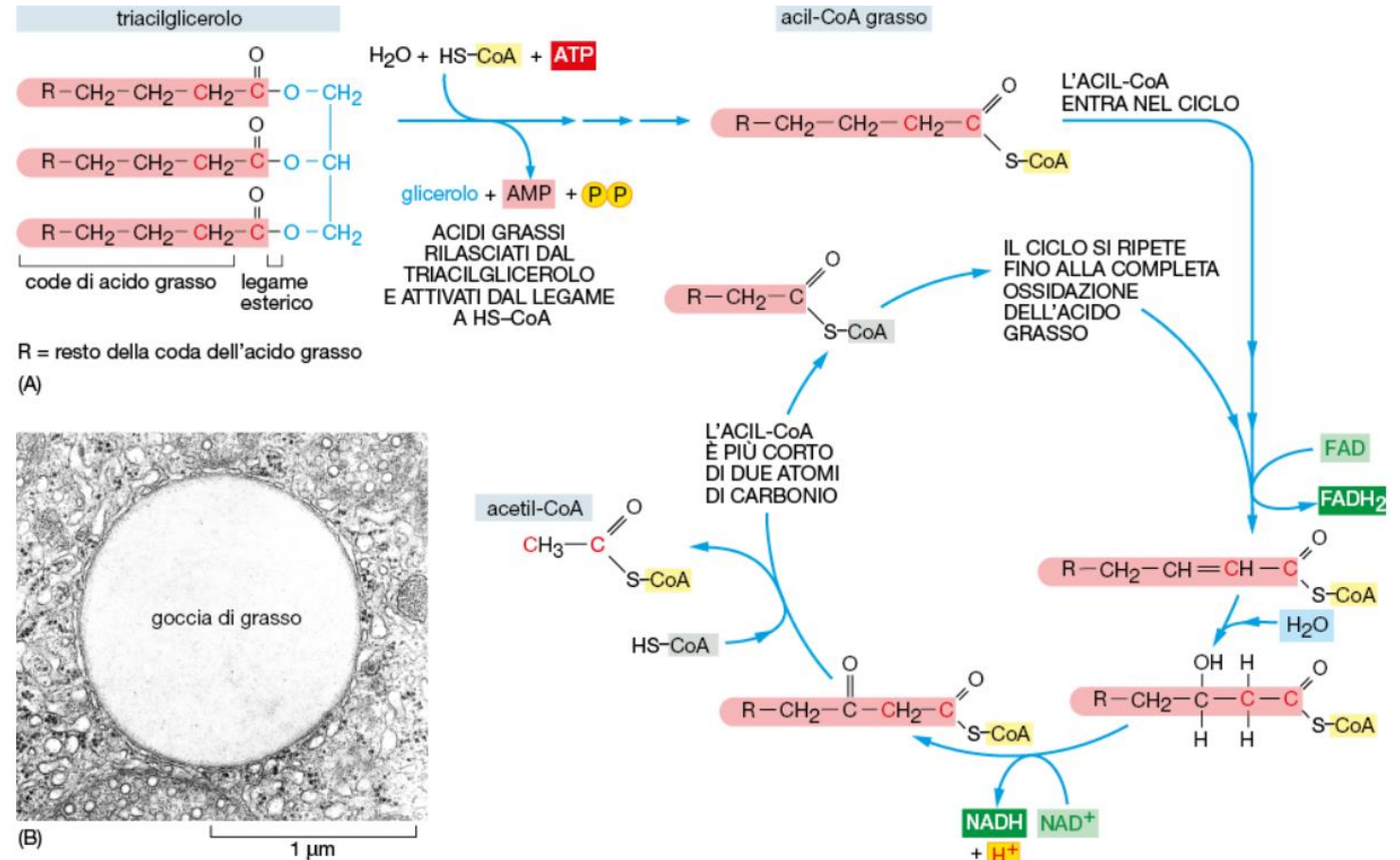
perciò è qui che **avviene la maggior parte delle reazioni di ossidazione** e viene **prodotta la maggior parte dell'ATP**.

Anche gli amminoacidi possono entrare nel mitocondrio, dove sono **convertiti in acetil-CoA** o in un altro intermedio del ciclo dell'acido citrico.



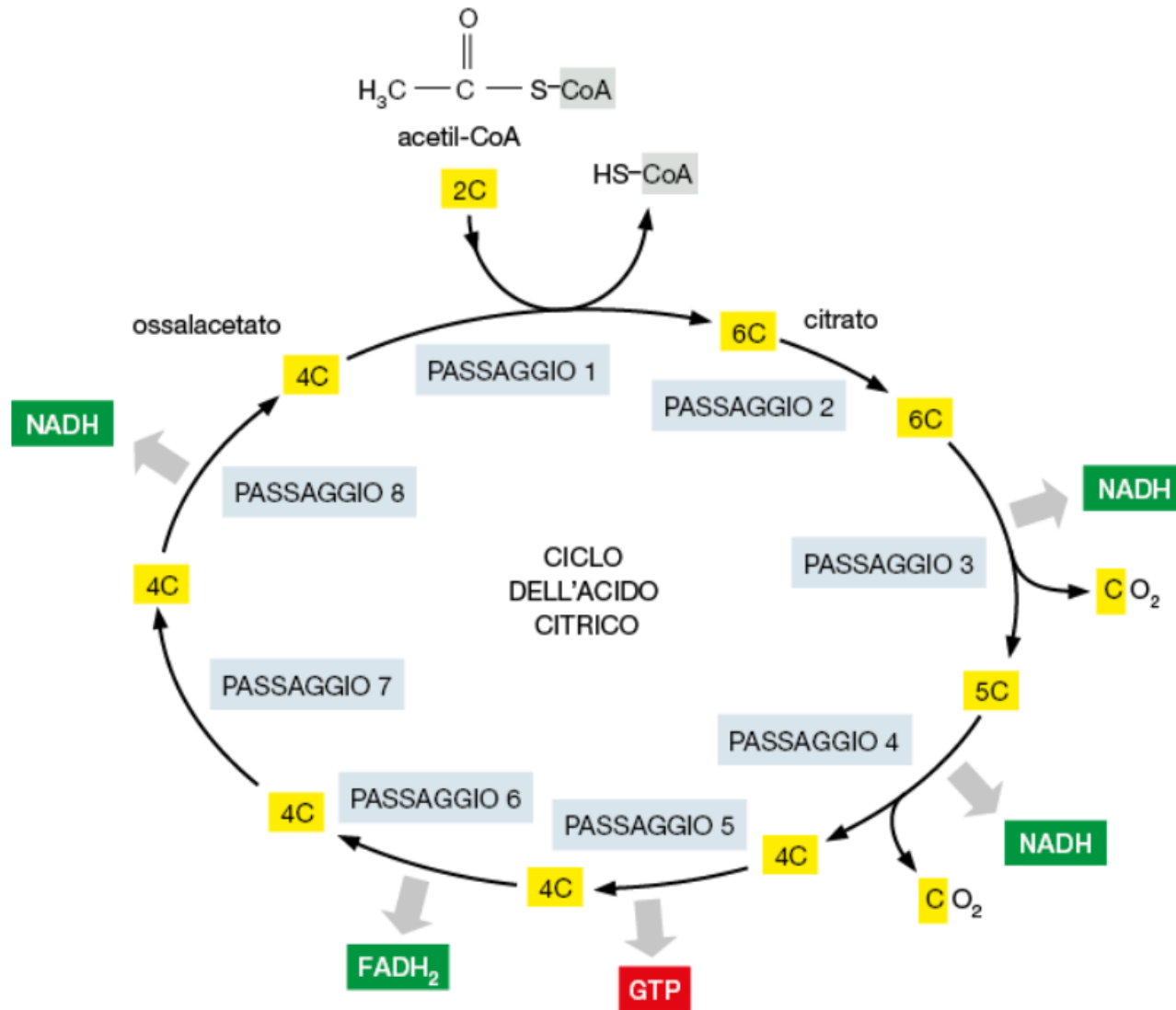
β -Ossidazione degli Acidi Grassi Produce Acetil-CoA

- I **grassi** sono **immagazzinati** sotto forma di **triacilglicerolo**
- Le **tre catene di acidi grassi** possono essere **idrolizzati** da enzimi chiamati **lipasi**
- Una volta **entrati nei mitocondri**, gli acidi grassi vengono **legati al coenzima A** tramite una reazione che richiede **ATP**.
- Questi **acidi grassi attivati** (molecole di **acil-CoA**) vengono poi **ossidati** in un ciclo che coinvolge quattro enzimi (non mostrati).
- Come indicato, **ogni giro del ciclo accorcia la molecola di acil-CoA di due atomi di carbonio** e produce un **FADH₂**, un **NADH** e un **acetil-CoA**.



- Il **fatty acyl-CoA** è **demolito a cicli** tagliando **2 C** alla volta dall'estremità carbossilica.
- A ogni giro del ciclo si formano: **1 acetil-CoA**, **1 NADH**, **1 FADH₂**.
- L'**acetil-CoA** confluisce nel **ciclo dell'acido citrico**; **NADH/FADH₂** alimentano la **catena respiratoria**.

Il Ciclo di Krebs, dell'Acido Citrico o dell'Acido Tricarbossilico



RISULTATO NETTO: UN GIRO DEL CICLO PRODUCE TRE NADPH, UN GTP E UN FADH₂, E RILASCIAMO DUE MOLECOLE DI CO₂

- In **organismi non fotosintetici**, **zuccheri e grassi** sono le **principali fonti energetiche**.
- La **maggior parte dell'energia** ricavabile dalla loro ossidazione rimane **conservata** nell'**acetil-CoA** prodotto da **entrambe** le fonti.
- La **reazione di acetil-CoA con ossalacetato** **inizia il ciclo** producendo citrato (**acido citrico**)
- In **ciascun giro** del ciclo **si formano 2 CO₂** come prodotti di scarto, più **3 NADH**, **1 GTP** e **1 FADH₂**.
- Nel **ciclo dell'acido citrico** (aerobiosi), il **gruppo acetile (-COCH₃)** dell'**acetil-CoA** è ossidato a **CO₂ e H₂O** → produzione di **NADH/FADH₂** per la **fosforilazione ossidativa**.

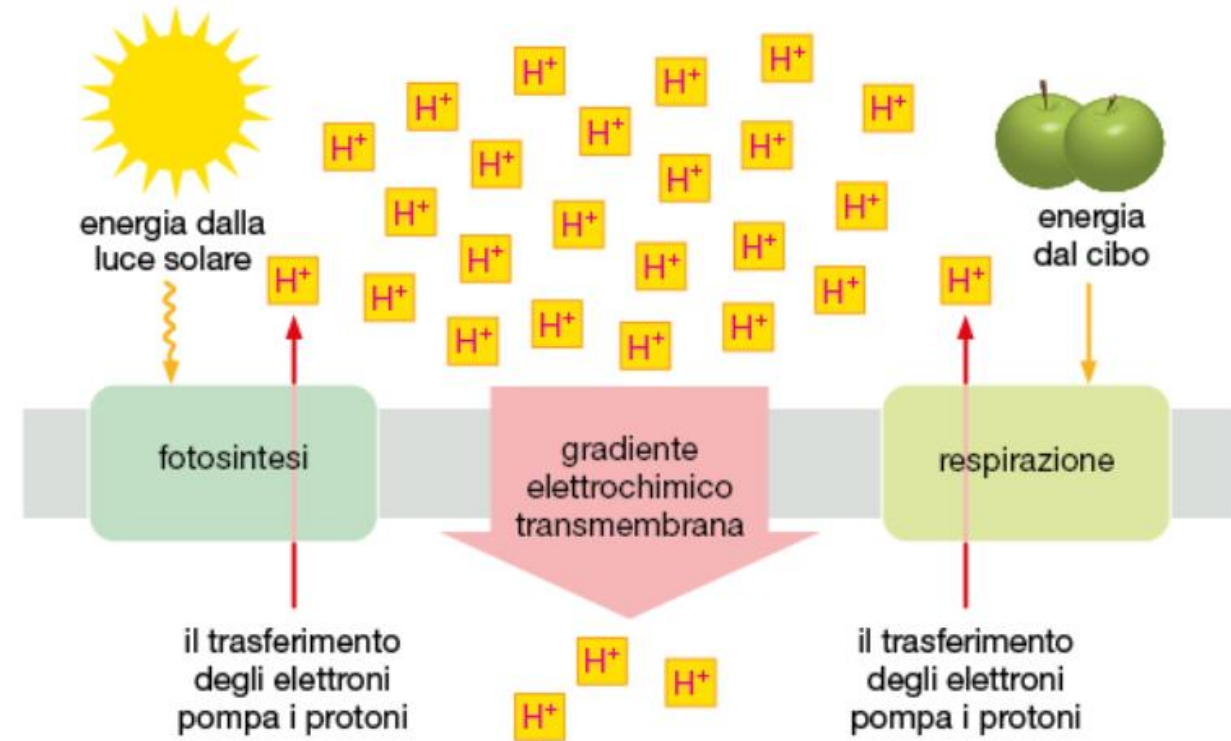
Il Trasporto di Elettroni Spinge la Maggior Parte dell'ATP

Ultimo stadio della degradazione dei nutrienti

- **NADH** e **FADH₂** trasferiscono i loro **elettroni** alla **catena di trasporto degli elettroni (ETC)** nella **membrana mitocondriale interna**.
- Gli elettroni **scendono** a livelli energetici progressivamente **più bassi** lungo donatori/accettori specializzati → alla fine **riduzione di O₂ → H₂O**.
- A questo punto l'energia disponibile dalla molecola alimentare è stata **completamente estratta**.

Dalla caduta degli elettroni alla “batteria” protonica

- L'energia rilasciata lungo l'ETC è usata per **pompate H⁺** dalla **matrice** allo **spazio intermembrana** (poi verso il citosol).
- Si crea un **gradiente elettrochimico di H⁺** (forza proton-motrice) che funziona come una **batteria**.
- Questa batteria **alimenta reazioni** che richiedono energia, soprattutto la **fosforilazione ossidativa: ADP → ATP**.



Meccanismo Comune: Accoppiamento Chemiosmotico

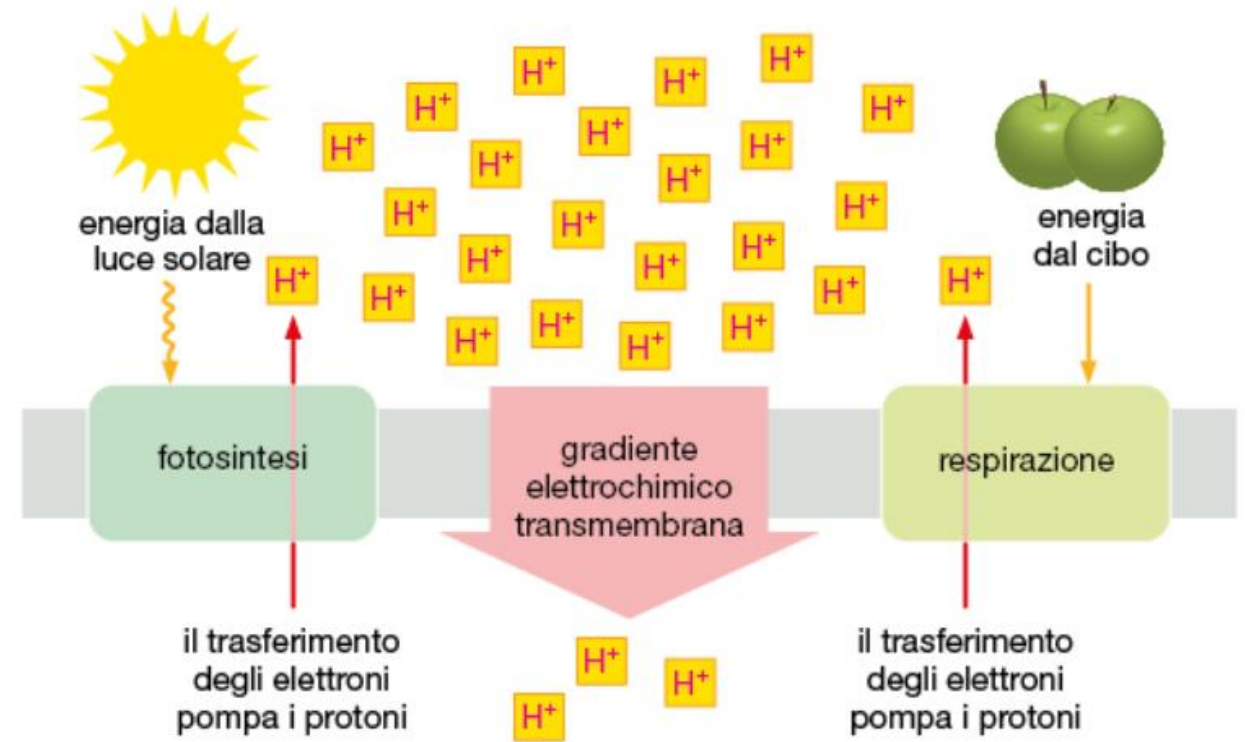
Principio condiviso da batteri, mitocondri, cloroplasti:

- **Accoppiamento chemiosmotico** = legame tra reazioni chimiche che **formano ATP** (“chemio”) e **trasporto di membrana** (“osmotico”).

Due stadi:

1. Trasporto di elettroni

- Elettroni ad alta energia (da cibo, luce, ecc.) → trasferiti lungo la **catena di trasporto degli elettroni (ETC)**.
- Ogni passaggio rilascia energia → pompaggio di H^+ → formazione di **gradiente elettrochimico**.



Meccanismo Comune: Accoppiamento Chemiosmotico

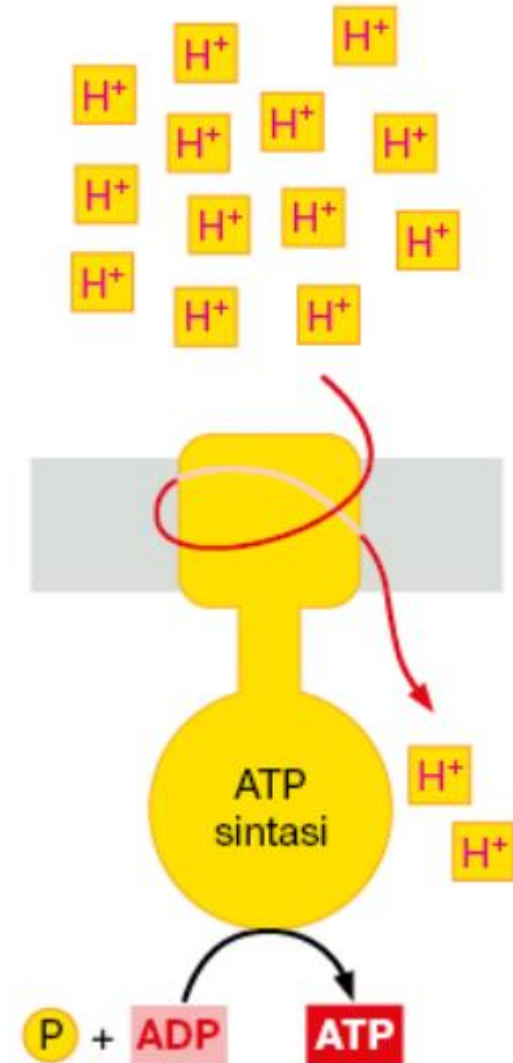
Principio condiviso da batteri, mitocondri, cloroplasti:

- **Accoppiamento chemiosmotico** = **legame tra** reazioni chimiche che **formano ATP** (“chemio”) e **trasporto di membrana** (“osmotico”).

2. Produzione di ATP

- Rientro dei protoni attraverso **ATP sintasi**.
- Energia del gradiente protonico $\rightarrow$ sintesi di ATP da ADP + Pi.
- L'ATP sintasi funziona come una **turbina molecolare**.

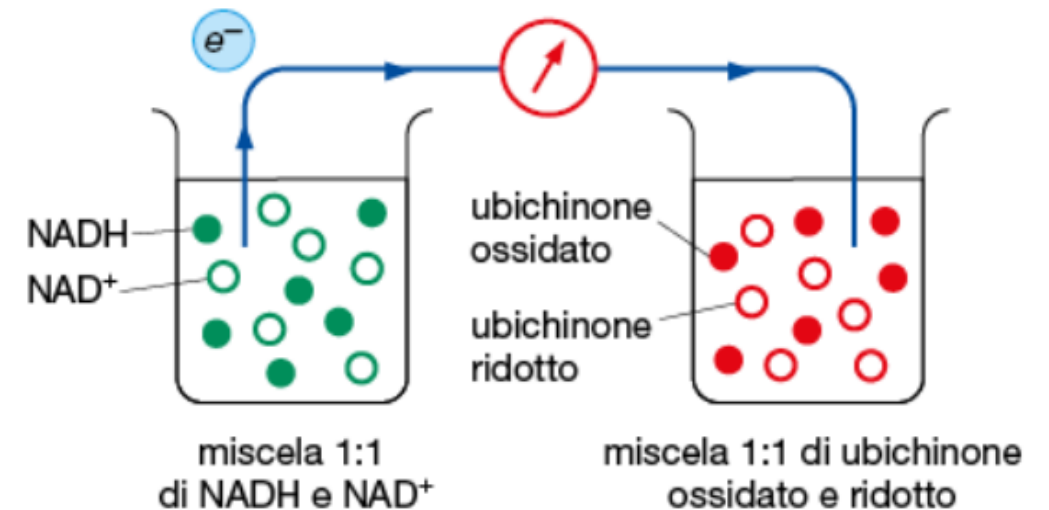
- **Trasportatori elettronici**: ioni metallici nei complessi proteici o piccole molecole mobili.
- **NAD⁺ $\rightarrow$ trasportatore principale**:
 - Riceve $2e^- + 1H^+ \rightarrow$ forma NADH.
 - NADH trasferisce elettroni alla membrana mitocondriale interna.
- **Percorso degli elettroni**:
 - NADH (alta energia) $\rightarrow$ **complessi proteici sequenziali** $\rightarrow$ **O₂ (accettore finale)**.
 - $O_2 + e^- + H^+ \rightarrow H_2O$.
- **Energia rilasciata $\rightarrow$ aziona pompe protoniche** $\rightarrow$ crea **forza proton-motrice**.
- L'ATP sintasi imbriglia la forza protonica $\rightarrow$ **sintesi di ATP**



Pompe Protoniche e Potenziale Redox nella ECT

Potenziale redox: definizione operativa

- Ogni **ossidazione** è accoppiata a una **riduzione** (trasferimento di e^- da una molecola a un'altra).
- La **spontaneità** del trasferimento dipende da ΔG ; a sua volta dipende dalle **affinità** dei partner verso gli e^- .
- **Coppie redox** (es. $\text{NADH}/\text{NAD}^+ \rightleftharpoons (\text{O}_2/\text{H}_2\text{O})$).
- **Misura sperimentale**: si collega una miscela **1:1** (equimolare) di una coppia redox a una **coppia standard** e si rileva la **differenza di voltaggio** → **potenziale redox (E'_0)**.
- Gli e^- scorrono **spontaneamente** da una coppia con E'_0 **più basso (meno positivo/negativo)** a una con E'_0 **più alto (più positivo)**.

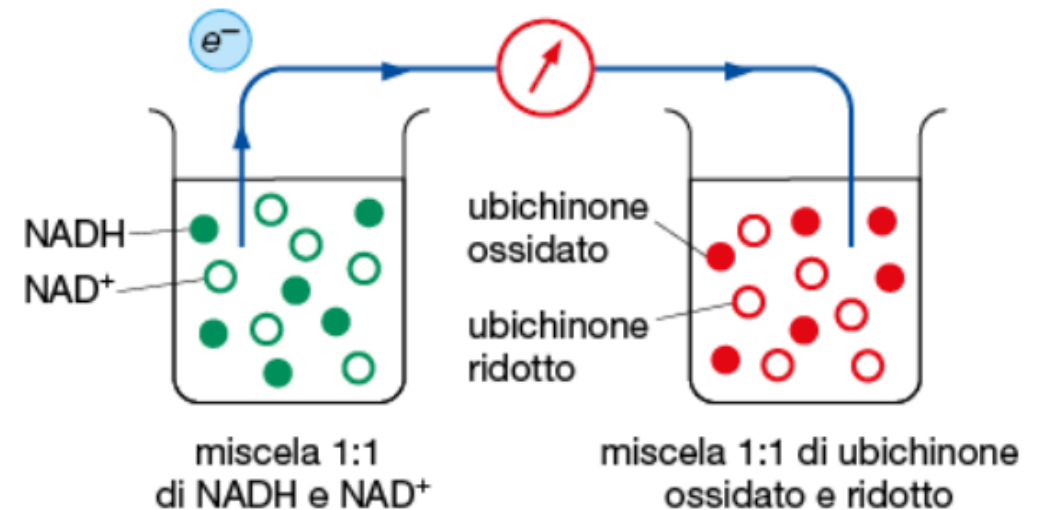


esempi di reazioni redox	potenziale redox standard E'_0
$\text{NADH} \rightleftharpoons \text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2 e^-$	-320 mV
$\text{ubichinone ridotto} \rightleftharpoons \text{ubichinone ossidato} + 2 \text{H}^+ + 2 e^-$	+30 mV
$\text{citocromo c ridotto} \rightleftharpoons \text{citocromo c ossidato} + e^-$	+230 mV
$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{2} \text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 e^-$	+820 mV

Potenziale Redox nella ECT: NADH e O₂

Esempio chiave: - NADH come donatore forte
- O₂ come accettore forte

- **NADH/NAD⁺: E'₀ = -320 mV** → forte donatore di e⁻.
 - Reazione: **NADH → NAD⁺ + H⁺ + 2 e⁻**.
- **O₂/H₂O: E'₀ = +820 mV** → forte accettore di e⁻.
- **Differenza di potenziale: ΔE'₀ = +1.140 V** (da -0.320 a +0.820 V).
 - In condizioni standard, **per 1 e⁻: ΔG° = -109 kJ/mol**.
 - Per **2 e⁻/NADH: ΔG° ≈ -218 kJ/mol**.
- Relazione chiave: **ΔG° = -n·F·ΔE'₀** (n = n. e⁻ trasferiti; F ≈ 96.5 kJ·V⁻¹·mol⁻¹).

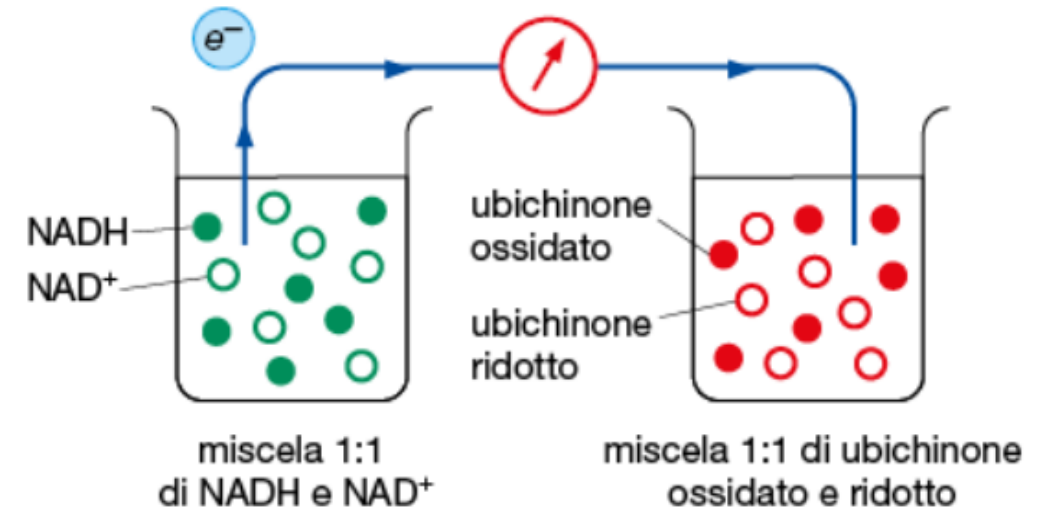


esempi di reazioni redox	potenziale redox standard E' ₀
$\text{NADH} \rightleftharpoons \text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2 \text{e}^-$	-320 mV
$\text{ubichinone ridotto} \rightleftharpoons \text{ubichinone ossidato} + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^-$	+30 mV
$\text{citocromo c ridotto} \rightleftharpoons \text{citocromo c ossidato} + \text{e}^-$	+230 mV
$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{2} \text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^-$	+820 mV

Il Trasporto di Elettroni Spinge la Maggior Parte dell'ATP

Dalla caduta di energia al pompaggio di protoni

- La **grande $\Delta E'_0$** tra **NADH** e **O₂** rende il trasferimento **fortemente favorevole** (ΔG° molto **negativo**).
- Questa energia è **parzialmente catturata** dai **complessi respiratori** per **pompate H⁺** → costruzione della **forza motrice protonica ($\Delta\mu H^+$)**.
- Il **gradiente H⁺** alimenta **ATP sintasi** e **trasporti accoppiati** (chemiosmosi).
- **Nota efficienza:** in cellula, **ATP/mole di NADH** < 7 teorici, perché le condizioni **non sono standard** e una parte dell'energia è **dissipata**.



Confronto energetico con i legami fosfato

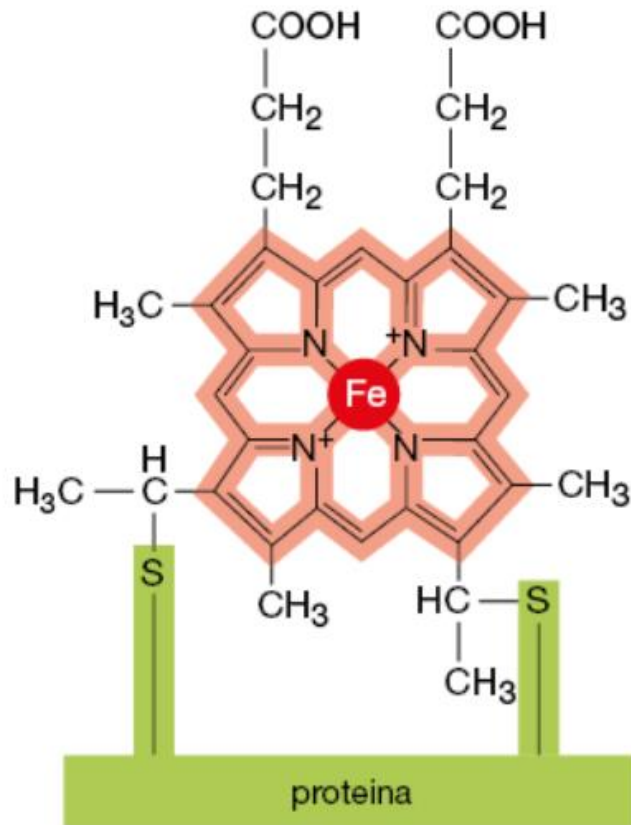
- **ΔG° idrolisi ATP** (legami **fosfoanidridici**) $\approx 30,6$ kJ/mol.
- L'ossidazione di **1 NADH** (≈ -218 kJ/mol standard) ha **energia sufficiente** per **~7 ATP** teorici → in vivo **meno** per **perdite/accoppiamento non perfetto**.

esempi di reazioni redox	potenziale redox standard E'_0
$\text{NADH} \rightleftharpoons \text{NAD}^+ + \text{H}^+ + 2 e^-$	-320 mV
$\text{ubichinone ridotto} \rightleftharpoons \text{ubichinone ossidato} + 2 \text{H}^+ + 2 e^-$	+30 mV
$\text{citocromo c ridotto} \rightleftharpoons \text{citocromo c ossidato} + e^-$	+230 mV
$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \frac{1}{2} \text{O}_2 + 2 \text{H}^+ + 2 e^-$	+820 mV

Vettori di Elettroni: Metalli di Transizione

Perché metalli di transizione?

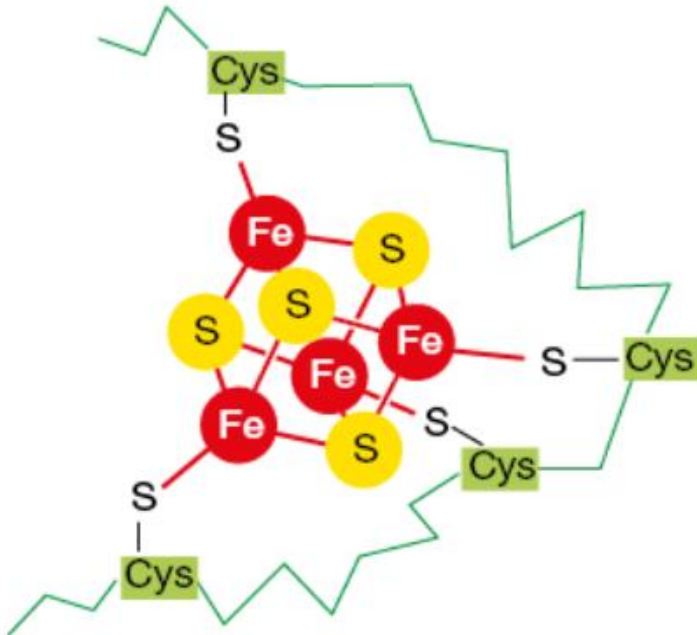
- **Fe, Cu, Ni, Mn** legati alle proteine dei complessi respiratori:
 - esistono in **più stati di ossidazione** con **potenziali redox ravvicinati** → accettano/cedono e^- **facilmente**.
 - ideali per **catalisi** e **trasferimenti** di e^- all'interno/tra complessi.
- Diversamente da H/C/N/O (incolori), gli **ioni di transizione sono spesso colorati** → studio **spettroscopico** (visibile) delle proteine metallate.



Citocromi (gruppo eme)

- **Proteine colorate** con **eme** legato: **Fe** coordinato da **4 N** in **anello porfirinico**.
- Trasportano **1 elettrone alla volta** via cicli Fe^{3+}/Fe^{2+} .
- Porfirine simili: **eme** (rosso del sangue) vs **clorofilla** (verde delle foglie, **Mg**).

Vettori di Elettroni: Proteine Ferro-Zolfo



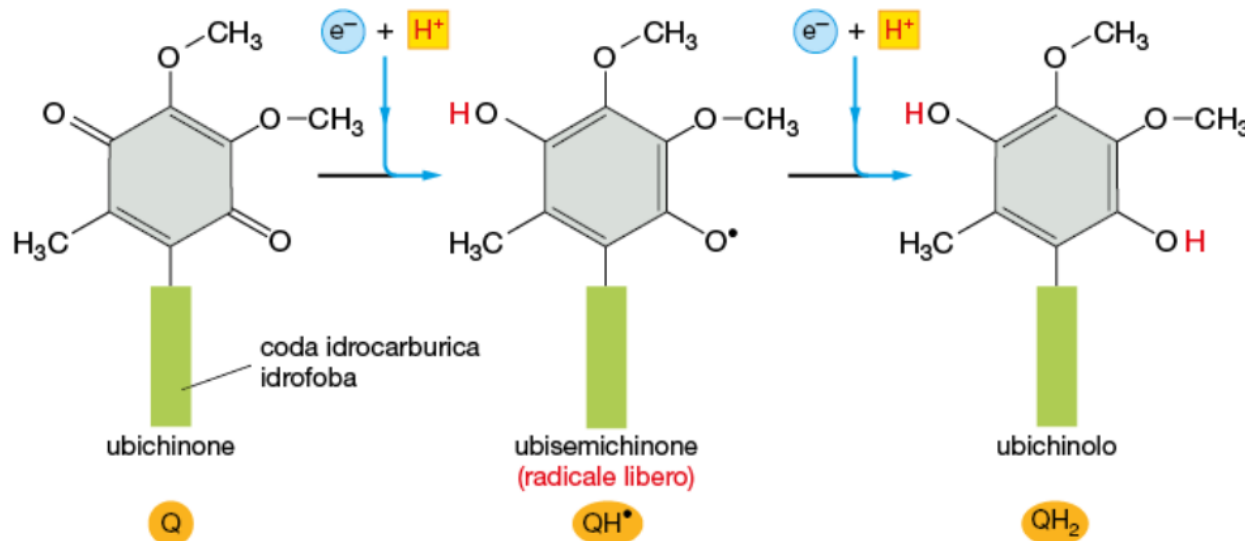
Proteine ferro-zolfo

- **Cluster Fe-S:** (Fe_2S_2) o (Fe_4S_4) legati a **Cys-S** delle proteine.
- Trasferiscono **1 e⁻**/volta tramite oscillazioni dello stato di ossidazione del **Fe**.
- **Affinità per e⁻ relativamente bassa** → **predominano a monte** della catena (prima metà).

Vettori di Elettroni: Ubichinone (Coenzima Q)

Ubichinone (Coenzima Q)

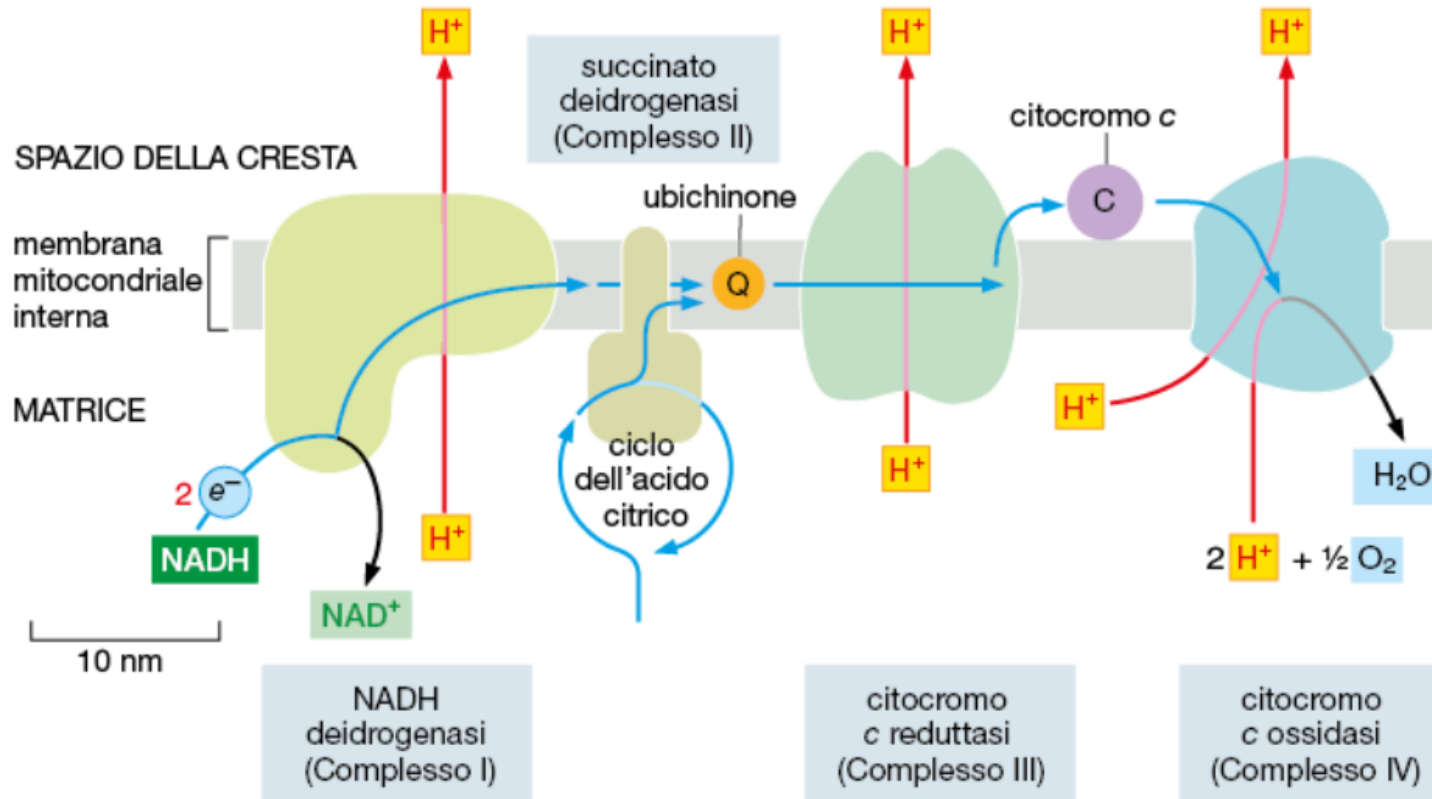
- **Chinone (Q):** piccolo, idrofobo, mobile nel doppio strato lipidico.
- Può accettare/donare **1 o 2 e^-** ; quando si riduce ($Q \rightarrow QH^\bullet/QH_2$) raccoglie **1 H^+ / e^-** dall'acqua $\rightarrow$ **chinolo (QH_2)**.
- **Vettore mobile** tra **Complesso I/II $\rightarrow$ Complesso III**.



Altri cofattori mobili/fissati

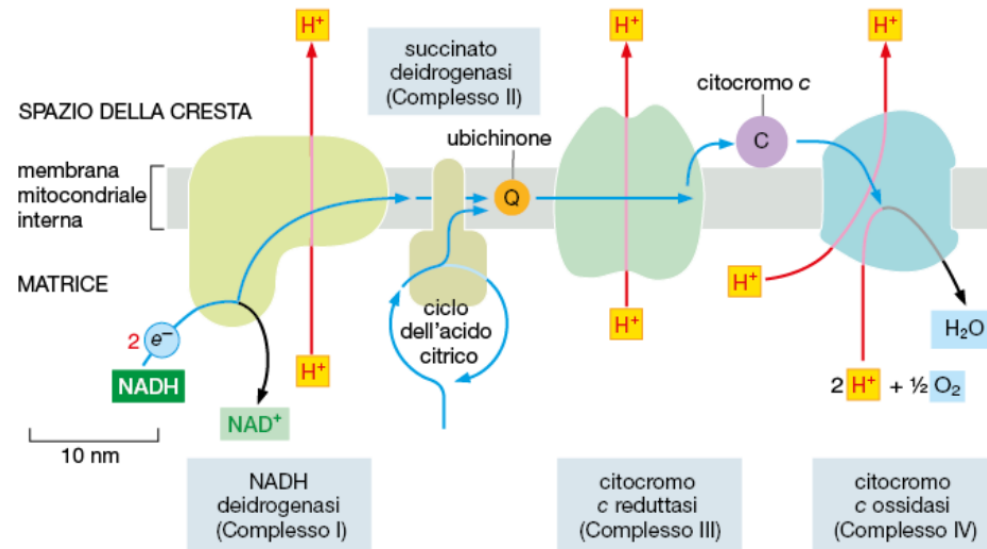
- **Flavine: FMN** (flavina mononucleotide) nel **Complesso I**; **FAD** nella **succinato deidrogenasi**.
- **Rame (Cu):** centri Cu/Cu_2 nel **Complesso IV** (accettori tardivi ad alta affinità).
- **Conteggio tipico lungo la via NADH $\rightarrow O_2$:**
 - **6 gruppi eme** (citocromi), **8 cluster Fe-S**, **3 atomi Cu**, **1 FMN**, **ubichinone**;
 - **60 polipeptidi** organizzati in **tre grandi complessi** di membrana.

I Quattro Complessi e i Due “Corrieri” Mobili della ECT

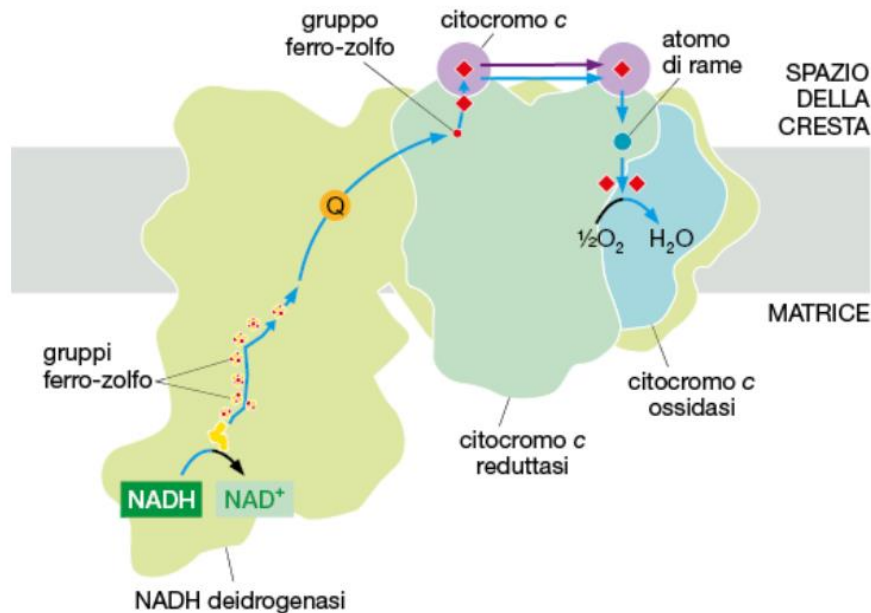


- **Complesso I (NADH deidrogenasi) → pompa H^+ .**
- **Complesso II (succinato deidrogenasi):** parte del **TCA** (succinato→fumarato) → **trasferisce e^-** via **FADH → Q**, **non pompa H^+ .**
- **Complesso III (citocromo bc_1) → pompa H^+ ; accetta da QH_2 , cede a citocromo c (*mobile per lo spazio intermembrana*).**
- **Complesso IV (citocromo c ossidasi) → pompa H^+ ; Cu + eme riducono $O_2 \rightarrow H_2O$.**
- **Vettori mobili: ubiquinone (Q/ QH_2) nella membrana; citocromo c nello spazio intermembrana.**

ECT: Complesso I



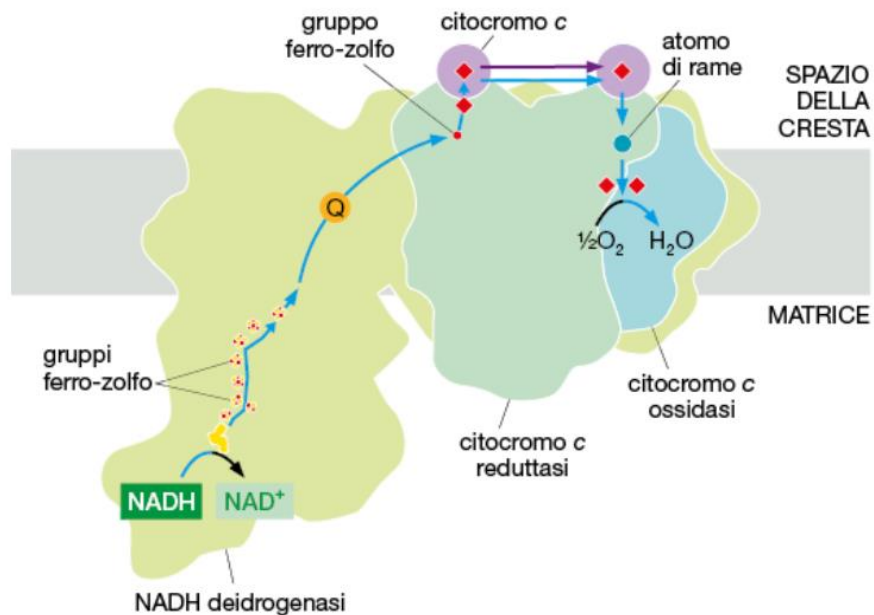
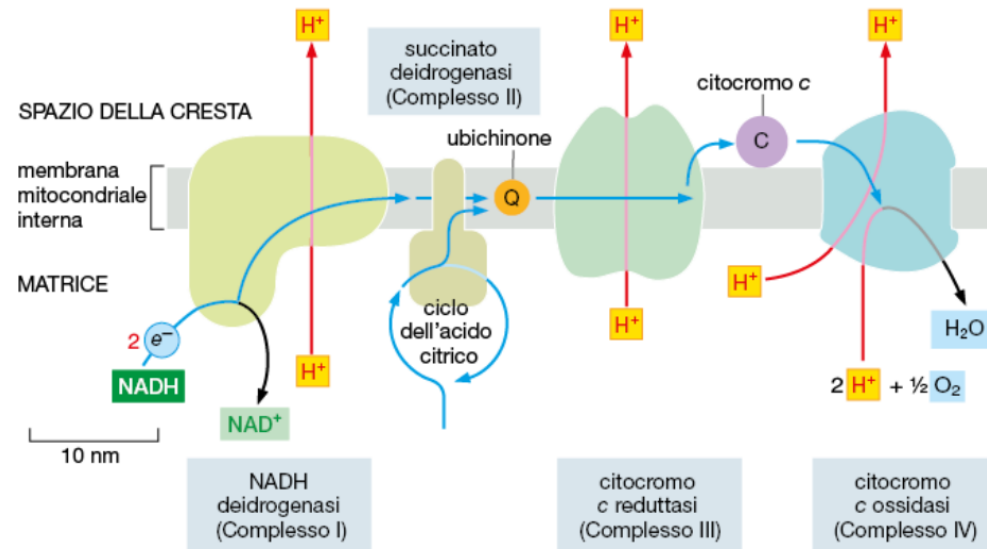
- Nei mitocondri, i tre complessi sono in serie e pompe H^+ azionate dai trasferimenti di e^- .
- **Direzione del pompaggio: fuori dalla matrice → acidificazione dello spazio della cresta.**



Complesso I – NADH deidrogenasi

- Il più grande dei complessi respiratori.
- Accetta e^- dal NADH e li trasferisce, in sequenza a FMN (flavina mononucleotide) → 8 gruppi Fe-S e al ubiquinone (Q).
- Ubichinone ridotto (ubichinolo, QH₂) consegna gli e^- al Complesso III.

ECT: Complesso III

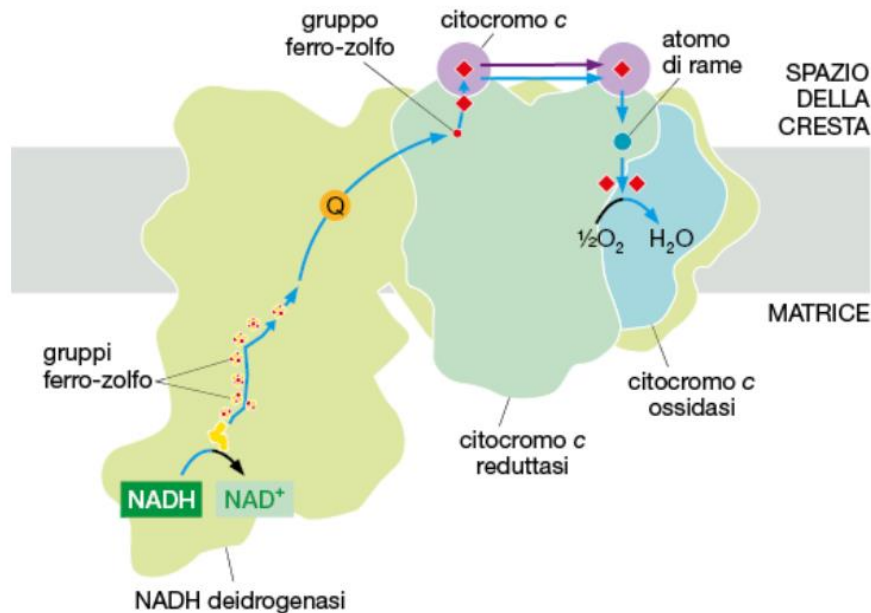
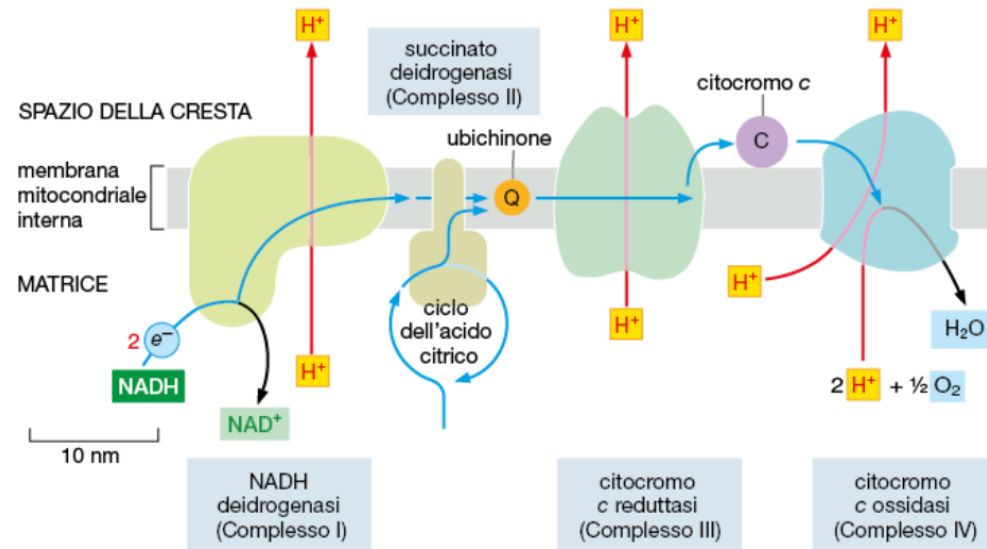


- Nei mitocondri, i tre complessi sono in serie e pompe H⁺ azionate dai trasferimenti di e⁻.
- **Direzione del pompaggio: fuori dalla matrice → acidificazione dello spazio della cresta.**

Complesso III – Citocromo c riduttasi (bc₁)

- **Dimero** di grandi dimensioni; **ogni monomero** contiene: **3 gruppi eme** (citocromi) + **1 cluster Fe-S**.
- **Accetta e⁻** da QH₂ e li passa alla **piccola proteina solubile citocromo c** (nello spazio della cresta).
- **Citocromo c** trasporta **1 e⁻** per volta al **Complesso IV**.

ECT: Complesso IV

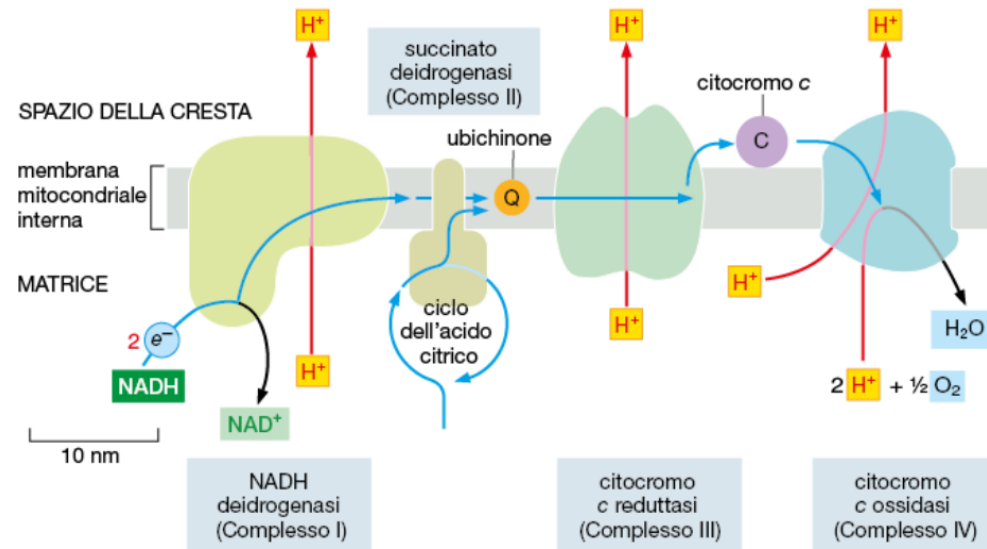


- Nei mitocondri, i tre complessi sono in serie e pompe H⁺ azionate dai trasferimenti di e⁻.
- **Direzione del pompaggio: fuori dalla matrice → acidificazione dello spazio della cresta.**

Complesso IV – Citocromo c ossidasi

- Contiene **2 gruppi eme** (citocromi) + **3 atomi di rame (Cu)**.
- **Accetta dal citocromo c un e⁻ per volta** e li trasferisce a O₂.
- **Stechiometria di riduzione dell'ossigeno: 4 e⁻ + 4 H⁺ → 2 H₂O (per 1 O₂).**

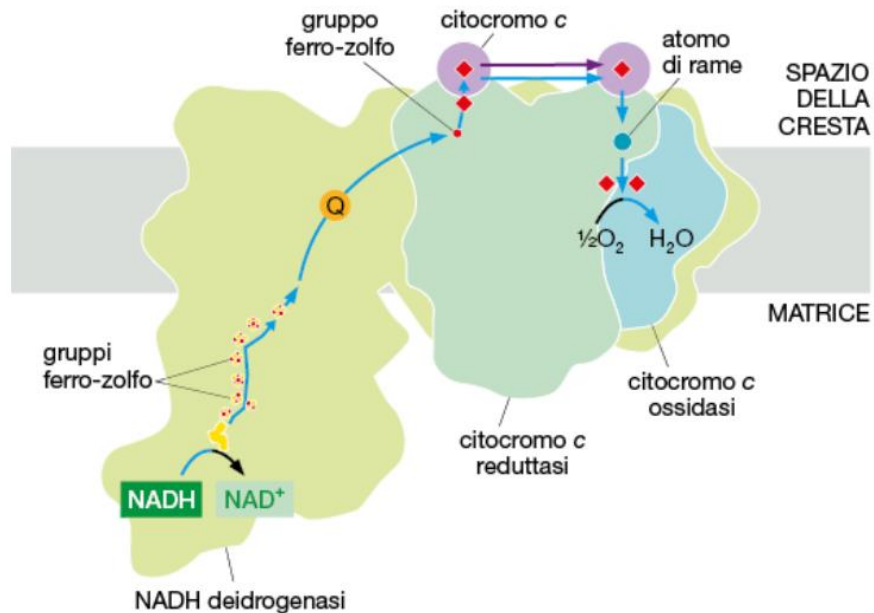
ECT: Complesso II



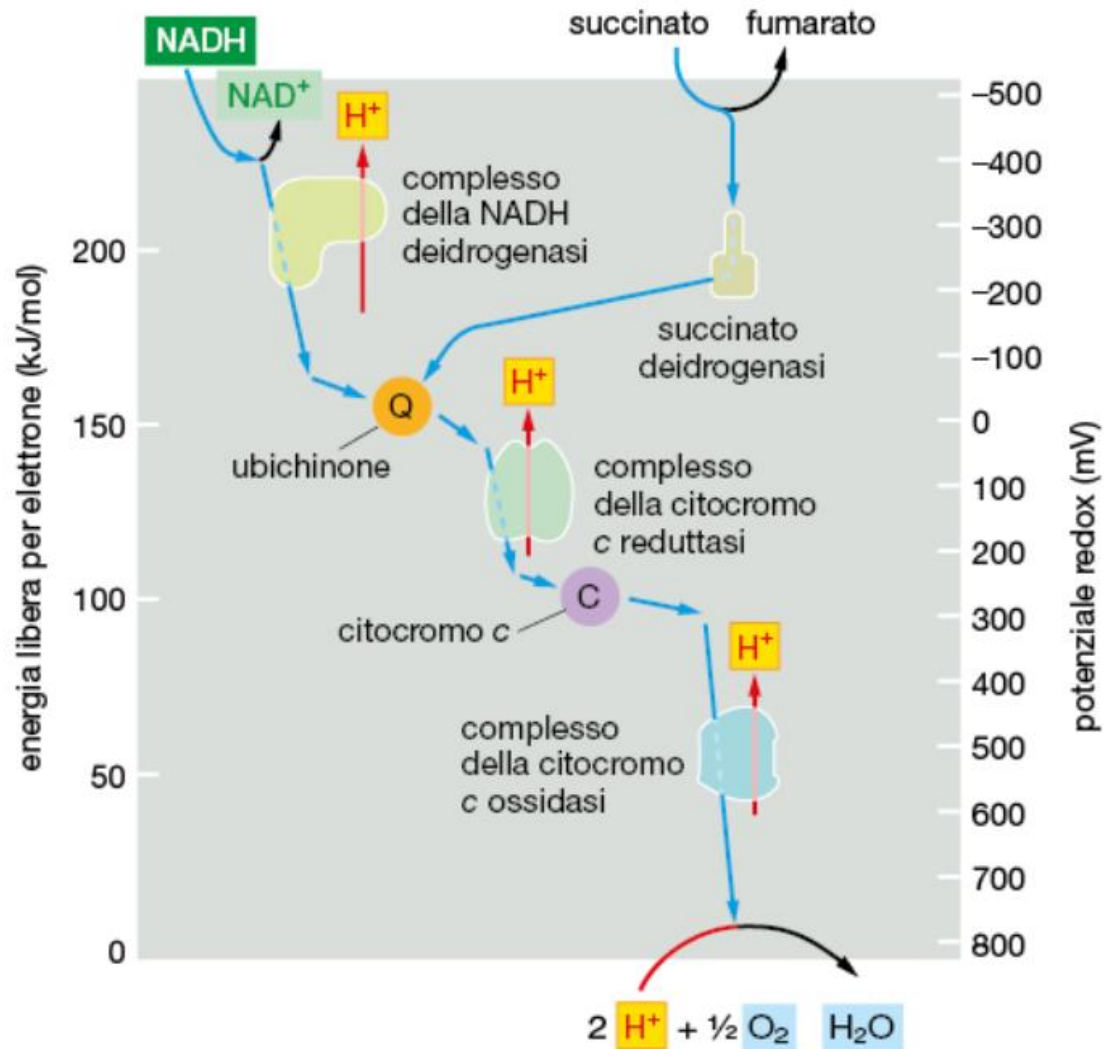
- Nei mitocondri, i tre complessi sono in serie e pompe H⁺ azionate dai trasferimenti di e⁻.
- **Direzione del pompaggio: fuori dalla matrice → acidificazione dello spazio della cresta.**

Complesso II – Succinato deidrogenasi

- **Enzima del TCA** (succinato → fumarato)
- Trasferisce e⁻ via **FAD/FADH₂** direttamente a **Q** (**bypass del Complesso I**).
- **Non pompa protoni** (pur contribuendo al flusso di e⁻).



Orchestrazione dei Potenziali Redox



Orchestrazione dei potenziali redox

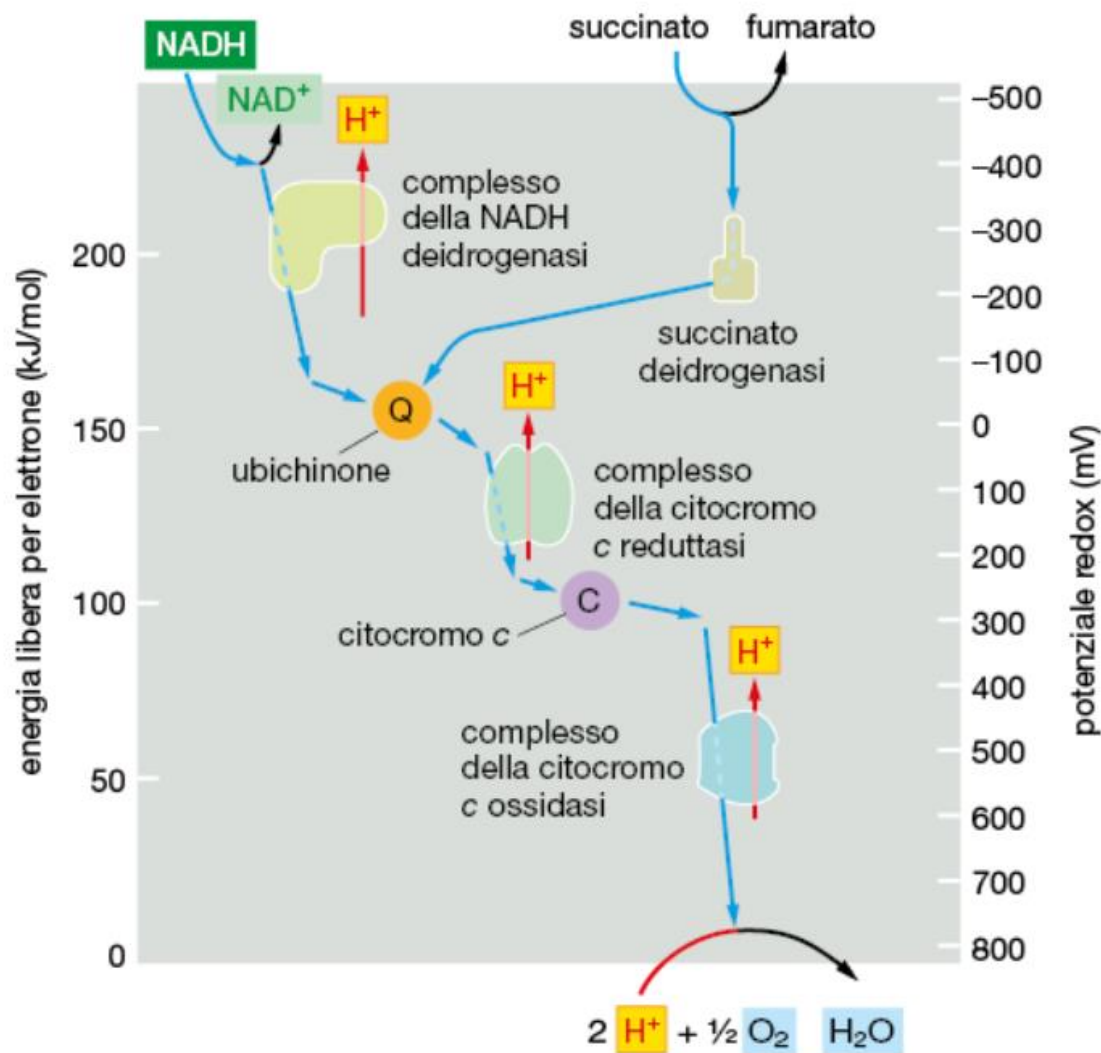
L'ambiente proteico modula finemente i potenziali redox dei cofattori (affinché il flusso e⁻ sia unidirezionale).

- **Cluster Fe-S** (affinità più **bassa**) a monte;
- **Citocromi/eme** e **centri Cu** (affinità più **alta**) a valle, vicino a O₂.

Schema riassuntivo

1. NADH → (I: FMN, Fe-S) → Q/QH₂
2. QH₂ → (III: eme b/c, Fe-S) → citocromo c
3. cit c → (IV: eme a/a₃, Cu) → O₂ → H₂O
4. I, III, IV pompano H⁺ → ΔμH⁺ → ATP sintasi.

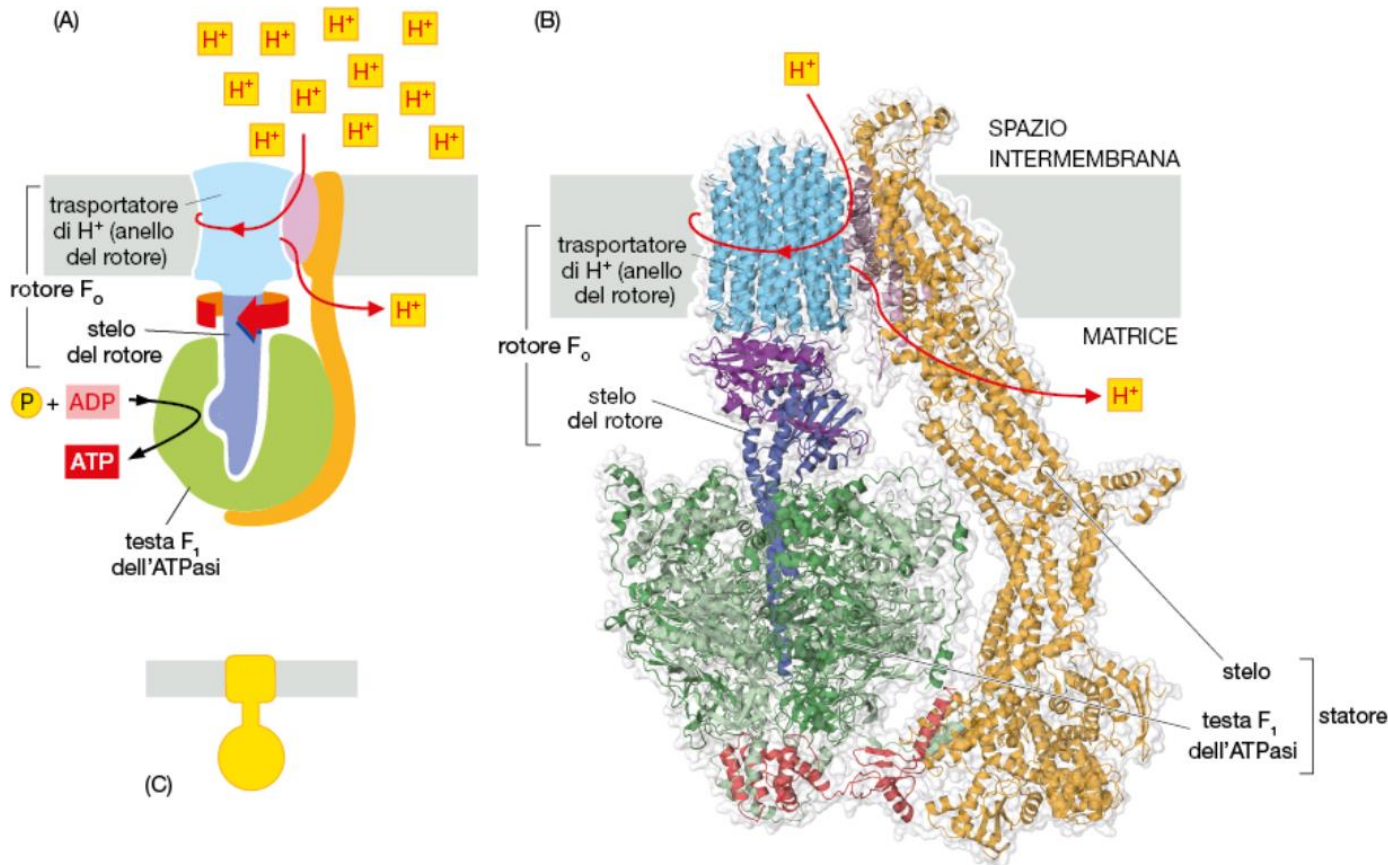
Gradiente Energetico e Pompaggio



Gradiente energetico e pompaggio

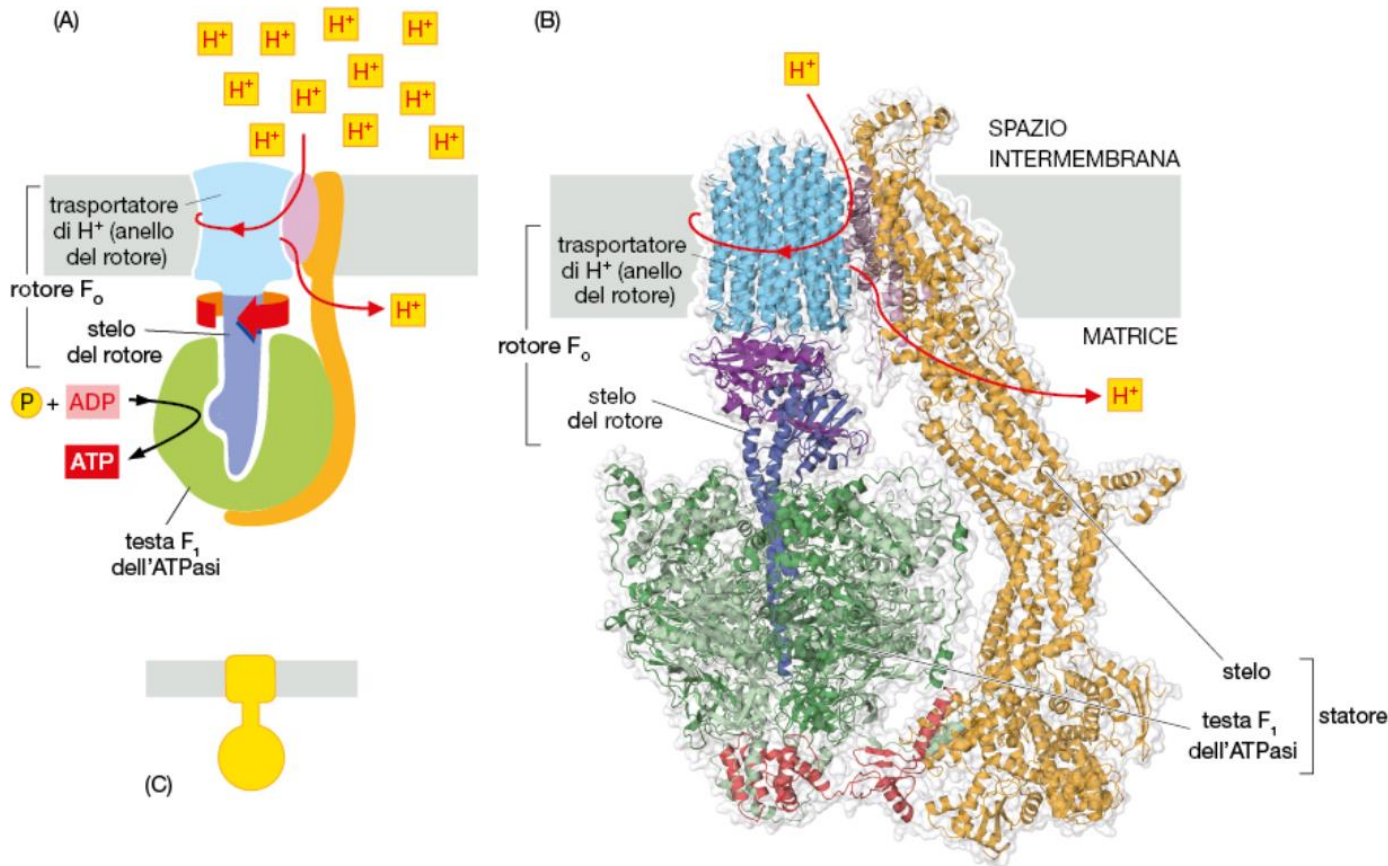
- **Potenziali redox aumentano** lungo la catena (verso O₂).
- $\Delta E'_0$ tra trasportatori $\propto -\Delta G^\circ$ del trasferimento di e⁻.
- **Ogni complesso** cattura **parte** della ΔG° per **pompate H⁺**:
 - **NADH deidrogenasi (I):** fino a 4 H⁺ per elettrone (come indicato).
 - **Citocromo c riduttasi (III):** 2 H⁺ per elettrone.
 - **Citocromo c ossidasi (IV):** 1 H⁺ per elettrone.
- Trasferimenti via FADH₂ → Q (da **Complesso II** o **β-ossidazione** degli acidi grassi) **non** sono accompagnati da **pompaggio di H⁺**.

ATP sintasi: Meccanismo Allosterico di Pompaggio H^+



- Il trasporto di e^- induce **cambi conformazionali sequenziali (allosteria)** nei complessi respiratori → modifica stati **redox** interni.
- Questi cambi sono **collegati** ai **cavi proteici** che **spostano H^+** attraverso la **membrana della cresta**.
- **Requisito minimo** del ciclo di pompaggio: almeno **tre conformazioni** distinte della **pompa proteica**.
- **Meccanismo**: catalisi rotatoria accoppiata
- **Lo stelo centrale ruota dentro la testa fissa e cambia sequenzialmente le conformazioni** delle β (effetto “albero a camme”).
- Sequenza funzionale dei 3 siti β : **Alta affinità per ADP + P_i** (legame substrati). Spinta conformazionale → **allineamento dei substrati e formazione di ATP**. Ulteriore rotazione → **rilascio di ATP**.

ATP sintasi



Gradiente H⁺ → ATP

- Le tre pompe protoniche (Complessi I, III, IV) **costruiscono il gradiente elettrochimico di H⁺ (forza proton-motrice) attraverso la membrana mitocondriale interna.**
- **Cinematica e resa: Velocità di rotazione** (modo sintetasi): **~8000 giri/min** (visti dalla testa F₁).
- **Stechiometria: ~3 ATP per giro.**
- **Produttività: ~400 ATP/s per singola ATP sintasi**

Rese Energetiche: Perché l'ATP è Così Utile

Perché l'ATP è così utile

- La **catena respiratoria + ATP sintasi** mantengono **[ATP] alta** rispetto a **[ADP], [Pi]** → idrolisi **molto lontana dall'equilibrio** → **ΔG molto negativo**.
- Questa **grande “distanza” dall'equilibrio** consente di **accoppiare** l'idrolisi dell'ATP a **reazioni sfavorevoli**, rendendole **spontanee** in cellula.
- Se **[ATP]** cala:
 - **ΔG si riscalda** (diventa **meno negativo**) → molte reazioni **essenziali** diventano **sfavorevoli** o **si invertono** → **morte cellulare**.

Tabella 14.3 Rese di prodotti dall'ossidazione di zuccheri e grassi

A. Prodotti netti dall'ossidazione di una molecola di glucosio

Nel citosol (glicolisi) 1 glucosio → 2 piruvato + 2 NADH + 2 ATP
Nel mitocondrio (piruvato deidrogenasi e ciclo dell'acido citrico) 2 piruvato → 2 acetil-CoA + 2 NADH
2 acetil-CoA → 6 NADH + 2 FADH₂ + 2 GTP

Risultato netto nel mitocondrio 2 piruvato → 8 NADH + 2 FADH₂ + 2 GTP

B. Prodotti netti dall'ossidazione di una molecola di palmitoil-CoA (forma attivata del palmitato, un acido grasso)

Nel mitocondrio (ossidazione dell'acido grasso e ciclo dell'acido citrico) 1 palmitoil-CoA → 8 acetil-CoA + 7 NADH + 7 FADH₂
8 acetil-CoA → 24 NADH + 8 FADH₂ + 8 GTP

Risultato netto nel mitocondrio 1 palmitoil-CoA → 31 NADH + 15 FADH₂ + 8 GTP

Rese: glicolisi **2 ATP**; OXPHOS: **~2,5 ATP/NADH**, **~1,5 ATP/FADH₂**; **~30 ATP/glucosio** totali; **ATP sintasi** = fonte principale.