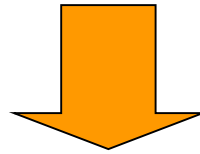


# **Fosforilação Oxidativa**

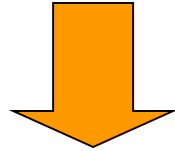
**ou**

**“Como conseguimos acoplar a oxidação de  
NADH e FADH<sub>2</sub> à produção de ATP”**

**A célula precisa trabalhar**



**Portanto, precisa de energia**



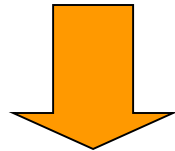
**Catabolismo**

**Respiração celular**

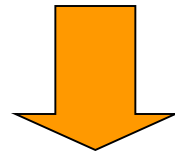
Uso de oxigênio

Sem oxigênio

**Fermentação**



**Ganha energia com ATP**



**Repete**

# A Base do Catabolismo

**Reagentes**      **→**      **Produtos**

**Transferência de elétrons**

relembrando...

# Reações redox

## Transferência de elétrons

- Oxidação: perda de elétrons
- Redução: ganho de elétrons

Agente redutor



Agente oxidante

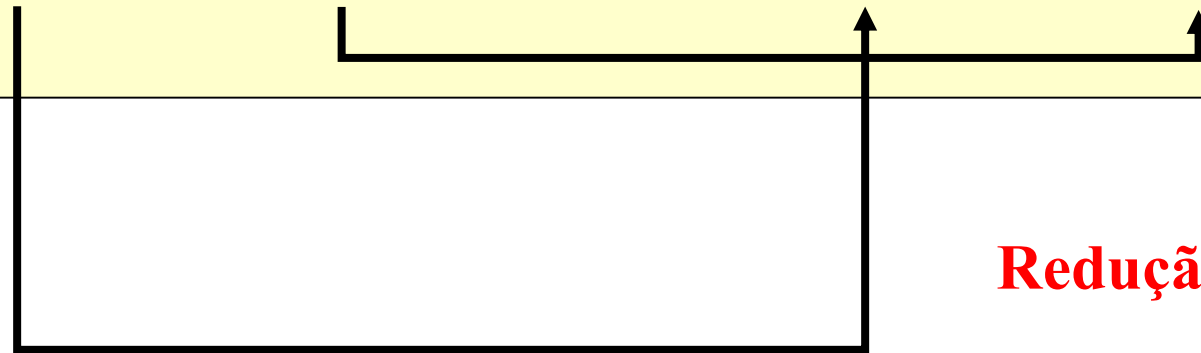
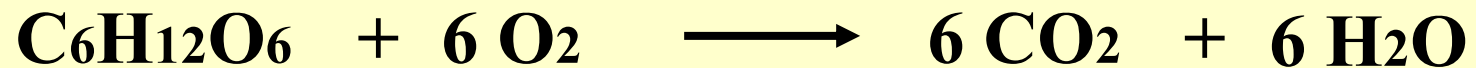
# Respiração celular

**REAGENTES**

**PRODUTOS**

Glicose + oxigênio

Dióxido + água  
de carbono



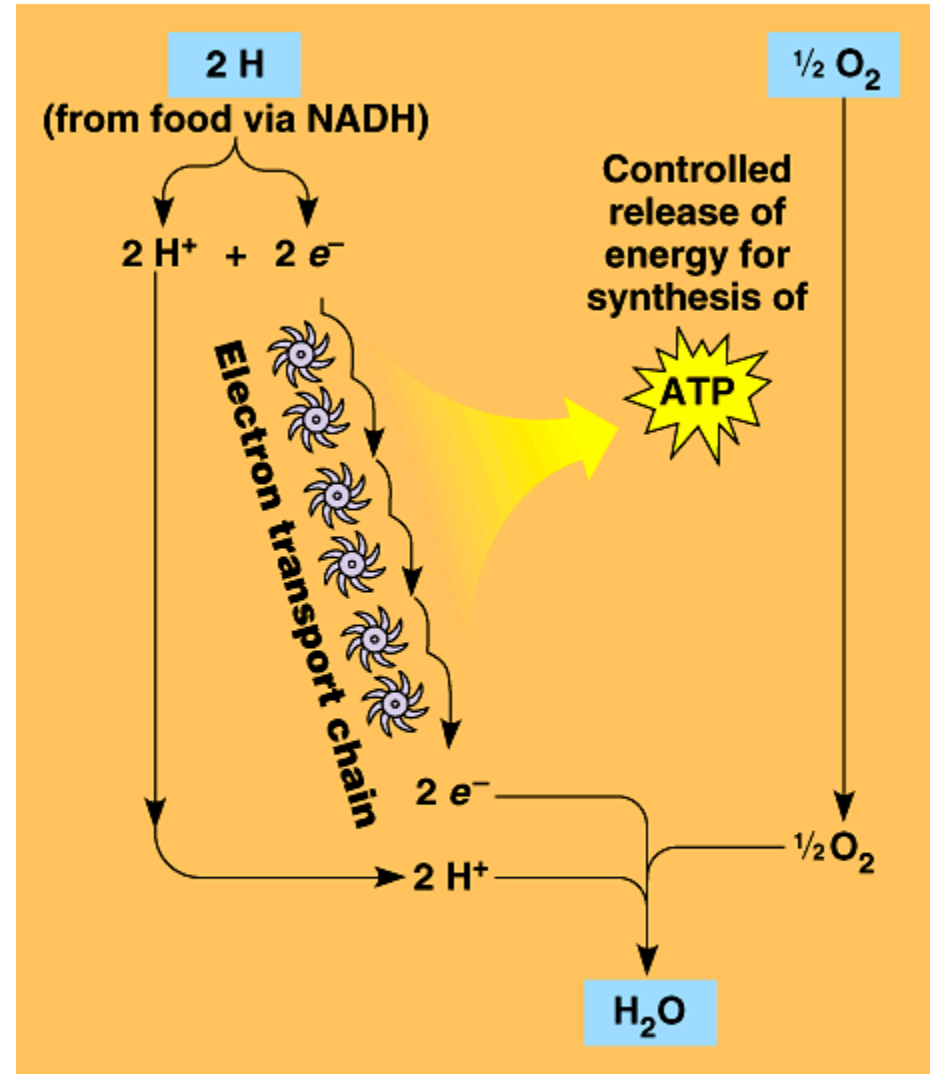
**Redução**

**Oxidação**

# Ganho de energia



(a) Uncontrolled reaction



(b) Cellular respiration

**Eletronegatividade  
baixa**



**Eletronegatividade alta**

Glicose



NADH



Cadeia de transporte de elétrons



Oxigênio

**Energy**



Fosforilação do ADP

Onde ocorre?...





Albert L. Lehninger,  
1917–1986

Eugene Kennedy e Albert Lehninger,  
1948. Descoberta de que as  
mitocôndrias são os locais da  
fosforilação oxidativa nos eucariotos.

(a)

ATP-sintase  
( $F_0F_1$ )

Cristas

Membrana externa

Livremente permeável a pequenas moléculas e íons

Membrana interna

Impermeável à maioria das pequenas moléculas e íons, incluindo  $H^+$

Contém:

- Transportadores de elétrons da cadeia respiratória (complexos I-IV)
- ADP-ATP-translocase
- ATP-sintase ( $F_0F_1$ )
- Outros transportadores de membrana

Matriz

Contém:

- Complexo da piruvato-desidrogenase
- Enzimas do ciclo do ácido cítrico
- Enzimas da  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos
- Enzimas de oxidação de aminoácidos

- DNA, ribossomos

- Muitas outras enzimas

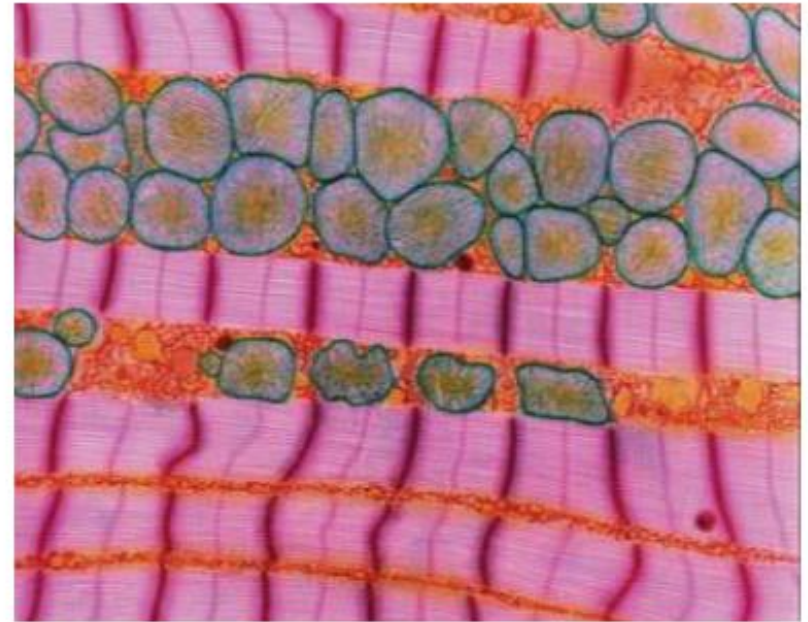
- ATP, ADP,  $P_i$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$

- Muitos intermediários metabólicos solúveis

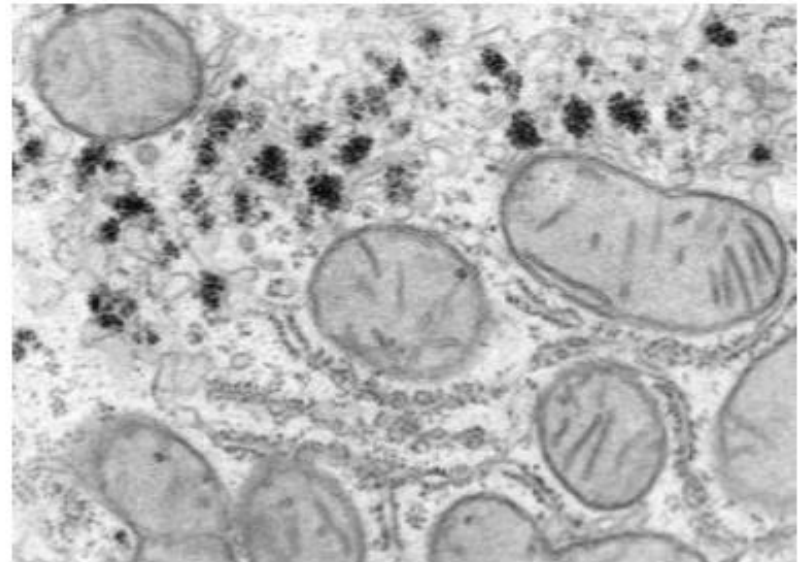
Ribossomos

Canais de porinas

(b)



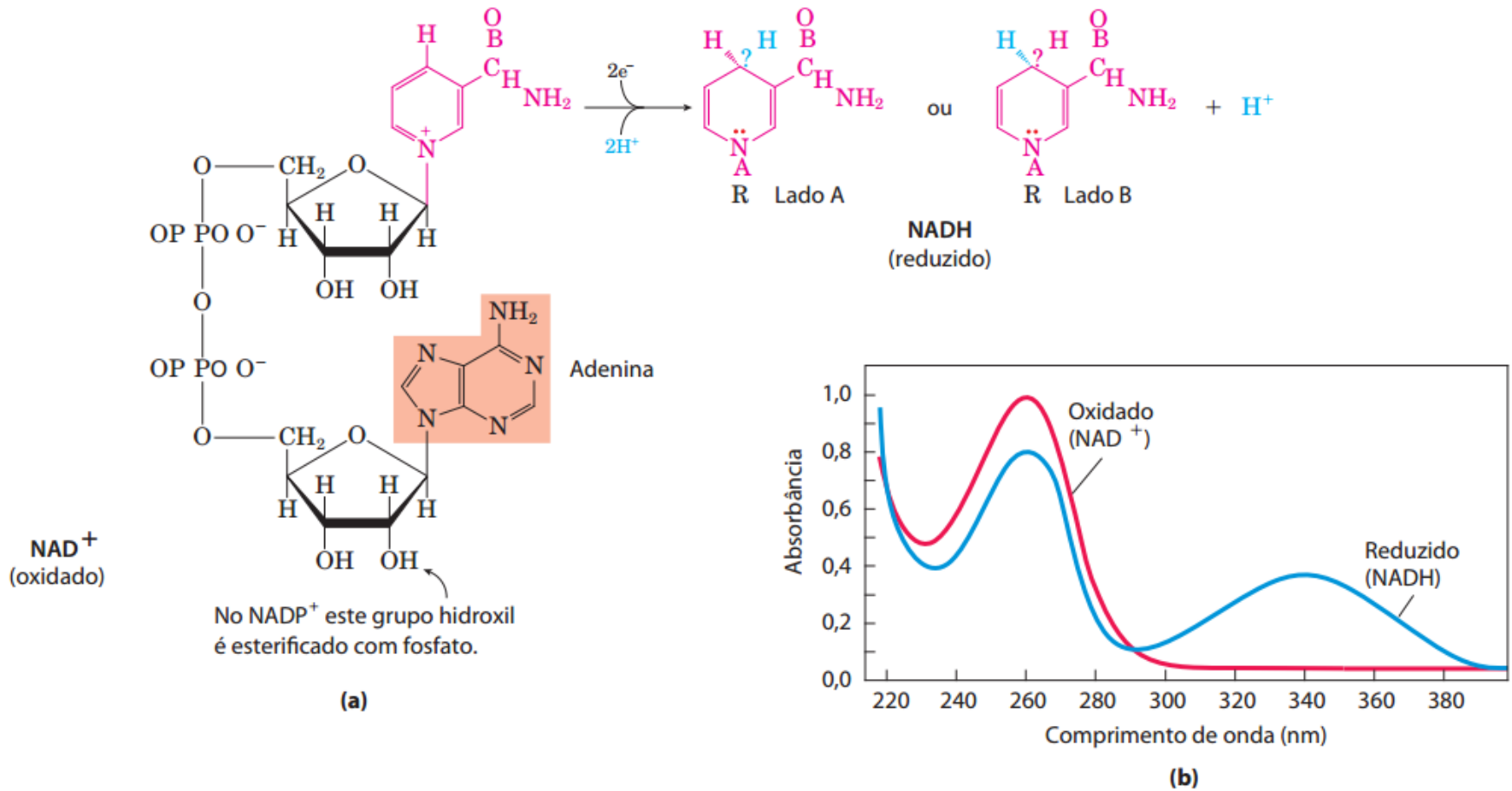
(c)



Como?...

Por meio de carreadores de  
elétrons

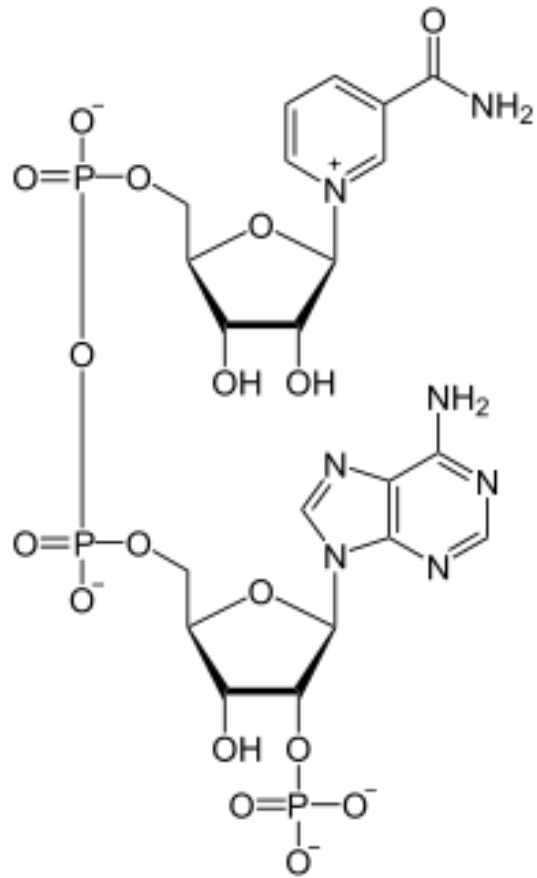
# NAD



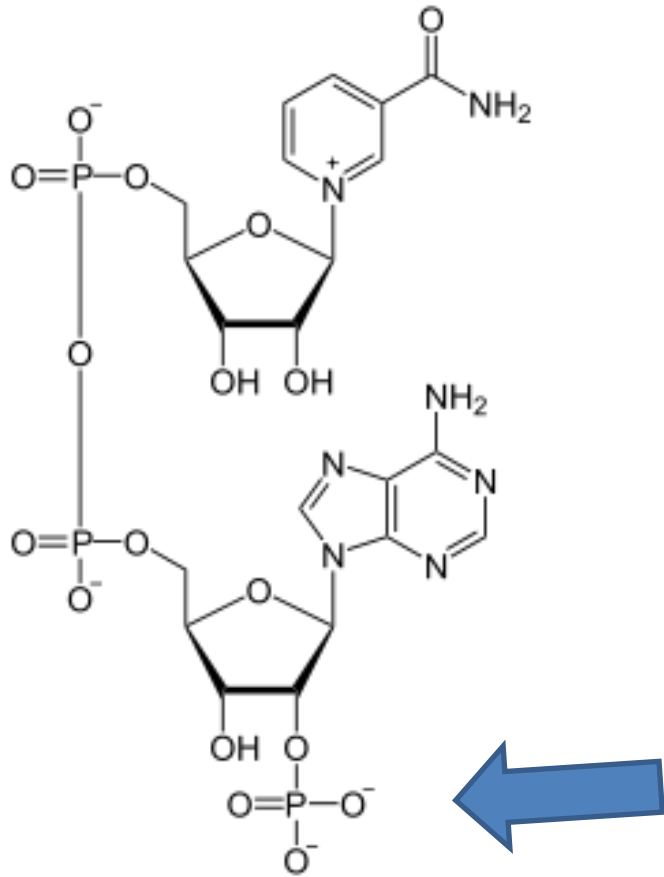
**FIGURA 13-24 NAD e NADP.** (a) O dinucleotídeo de nicotinamida-adenina, NAD<sup>+</sup>, e seu análogo fosforilado NADP<sup>+</sup> sofrem redução a NADH e NADPH, recebendo um íon hidreto (dois elétrons e um próton) de um

Tabela 13-8). (b) Espectro de absorção no UV de NAD<sup>+</sup> e NADH. A redução do anel de nicotinamida gera uma banda de absorção ampla, com máximo em 340 nm. A produção de NADH durante uma reação enzimática pode ser

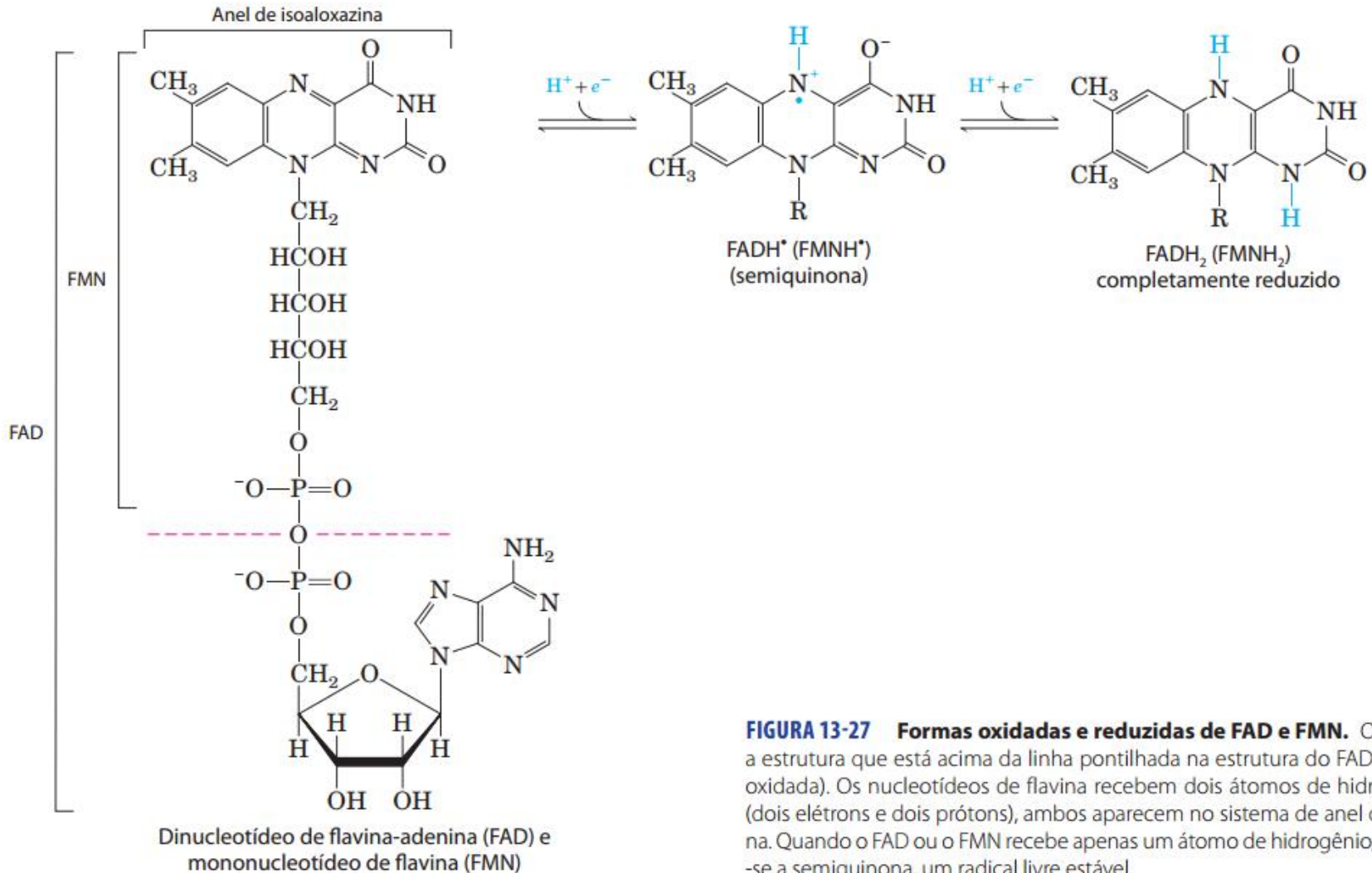
# NADP



# NADP



# FAD

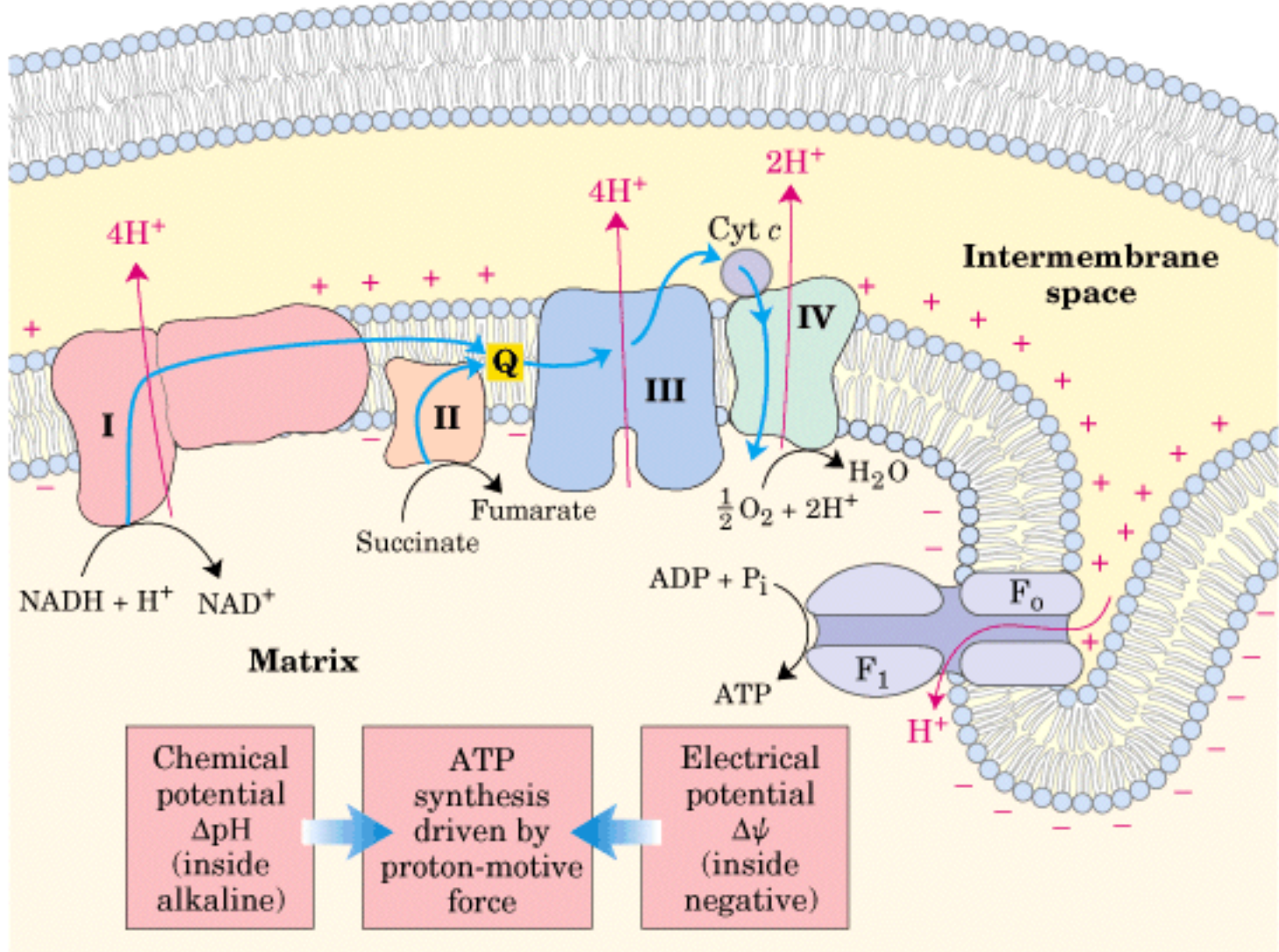


**FIGURA 13-27 Formas oxidadas e reduzidas de FAD e FMN.** O FMN é a estrutura que está acima da linha pontilhada na estrutura do FAD (forma oxidada). Os nucleotídeos de flavina recebem dois átomos de hidrogênio (dois elétrons e dois prótons), ambos aparecem no sistema de anel da flavina. Quando o FAD ou o FMN recebe apenas um átomo de hidrogênio, forma-se a semiquinona, um radical livre estável.



Além dos carreadores já citados anteriormente...

Existem 3 outros tipos de moléculas carreadores de elétrons na cadeia respiratória



Existem 3 outros tipos de moléculas carreadores de elétrons na cadeia respiratória

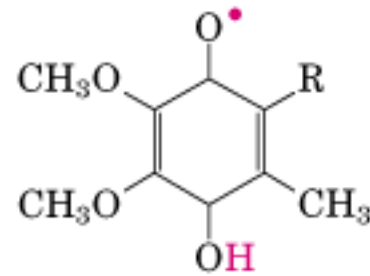
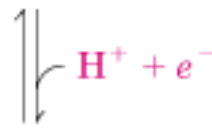
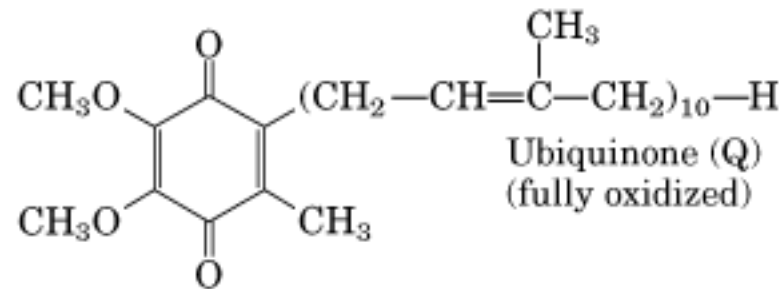
## I) Coenzima Q

ou

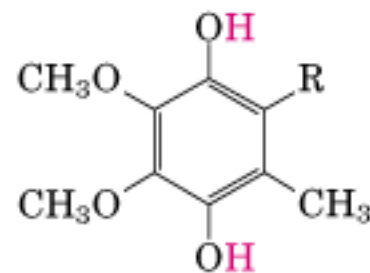
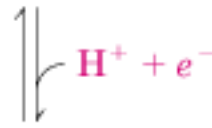
Ubiquinona

ou

“Q”



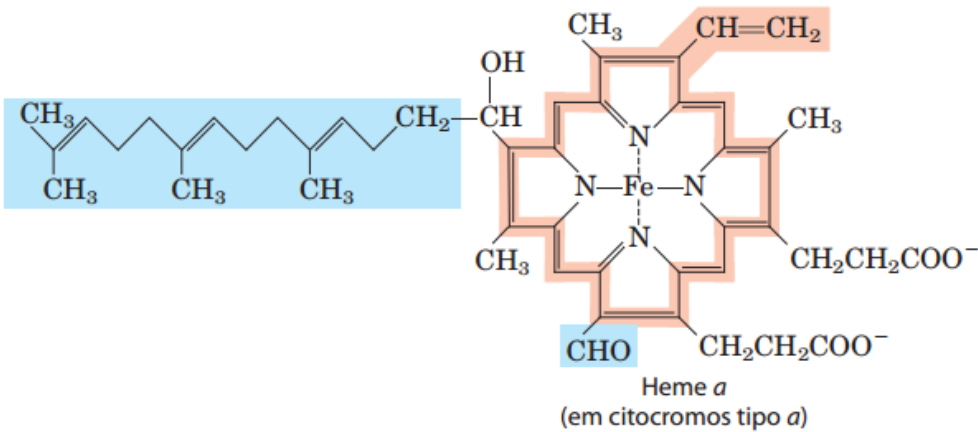
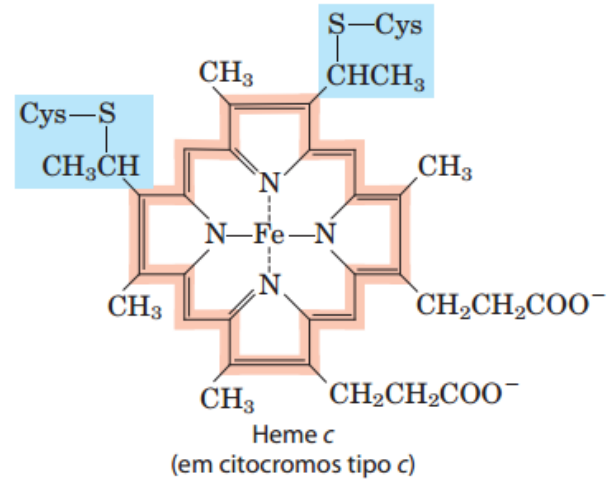
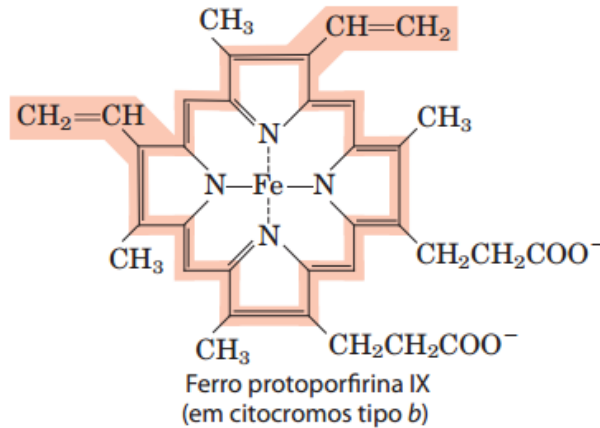
Semiquinone radical  
(QH<sup>•</sup>)



Ubiquinol (QH<sub>2</sub>)  
(fully reduced)

# II) Porfirinas nos citocromos

(a)



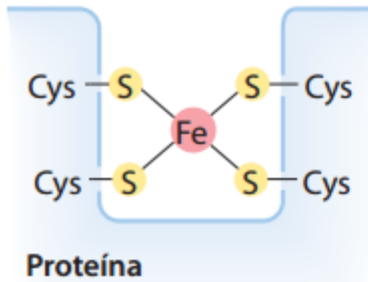
**Fe<sup>2+</sup> (red)**  
ou  
**Fe<sup>3+</sup> (ox)**

FIGURA 19-4 Grupos prostéticos dos citocromos. (a) Cada grupo consiste em quatro anéis

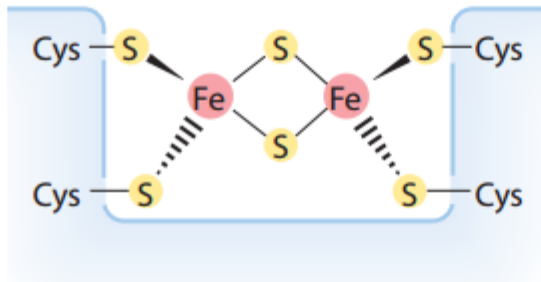
# III) Proteínas ferro-enzofre (Fe-S)

$\text{Fe}^{2+}$  (red)/ $\text{Fe}^{3+}$  (ox)

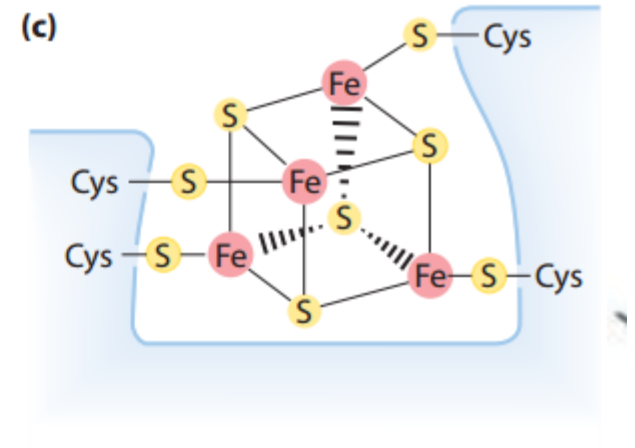
(a)



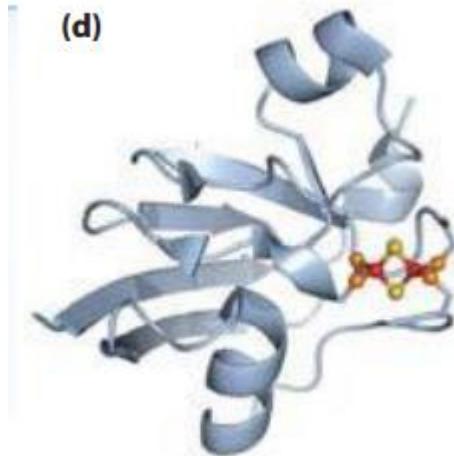
(b)



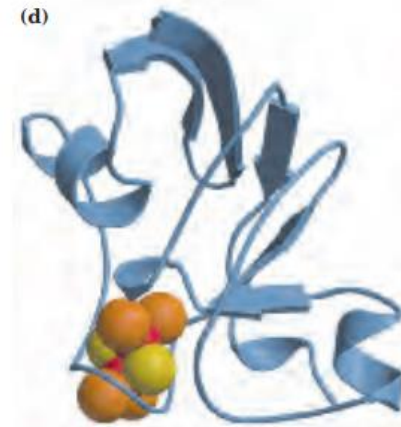
(c)



(d)



(d)



# Potenciais de redução de meia reações da cadeia respiratória

**TABELA 19-2** Potenciais de redução padrão da cadeia respiratória e de carregadores de elétrons relacionados

Reação redox (meia-reação)	$E'^{\circ}$ (V)
$2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{H}_2$	-0,414
$\text{NAD}^{+} + \text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADH}$	-0,320
$\text{NADP}^{+} + \text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADPH}$	-0,324
$\text{NADH-desidrogenase (FMN)} + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{NADH-desidrogenase (FMNH}_2)$	-0,30
$\text{Ubiquinona} + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{ubiquinol}$	0,045
$\text{Citocromo } b (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } b (\text{Fe}^{2+})$	0,077
$\text{Citocromo } c_1 (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } c_1 (\text{Fe}^{2+})$	0,22
$\text{Citocromo } c (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } c (\text{Fe}^{2+})$	0,254
$\text{Citocromo } a (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } a (\text{Fe}^{2+})$	0,29
$\text{Citocromo } a_3 (\text{Fe}^{3+}) + e^{-} \longrightarrow \text{citocromo } a_3 (\text{Fe}^{2+})$	0,35
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^{+} + 2e^{-} \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0,8166

$E^{\circ}$ : Potencial de óxido redução padrão: a tendência de um par redox em perder ou ganhar elétrons, para concentrações 1 M da forma oxidada e 1 M da forma reduzida.

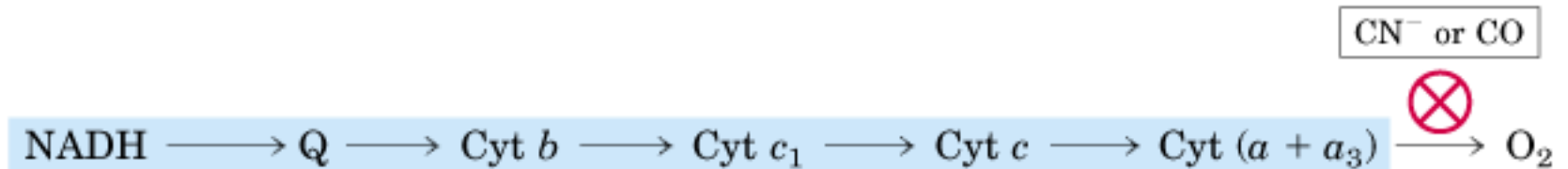
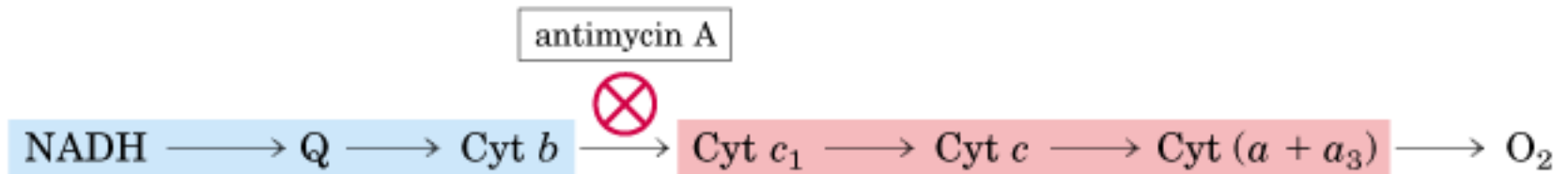
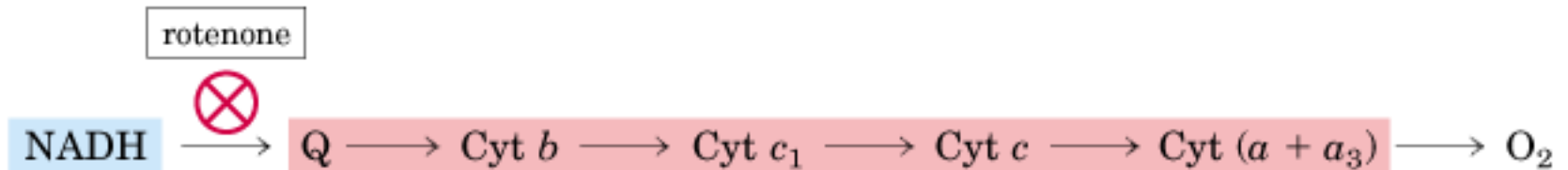
Medida de afinidade para  $e^{-}$  da molécula/ion sendo reduzida

$$\Delta E'^{\circ} = E'^{\circ} (\text{aceitor de } e^{-}) - E'^{\circ} (\text{doador de } e^{-})$$

Se  $\Delta E > 0$ , reação tende ir para frente

# Método para determinação da seqüência de carregadoras de elétrons

>-----E'<sup>o</sup>----->

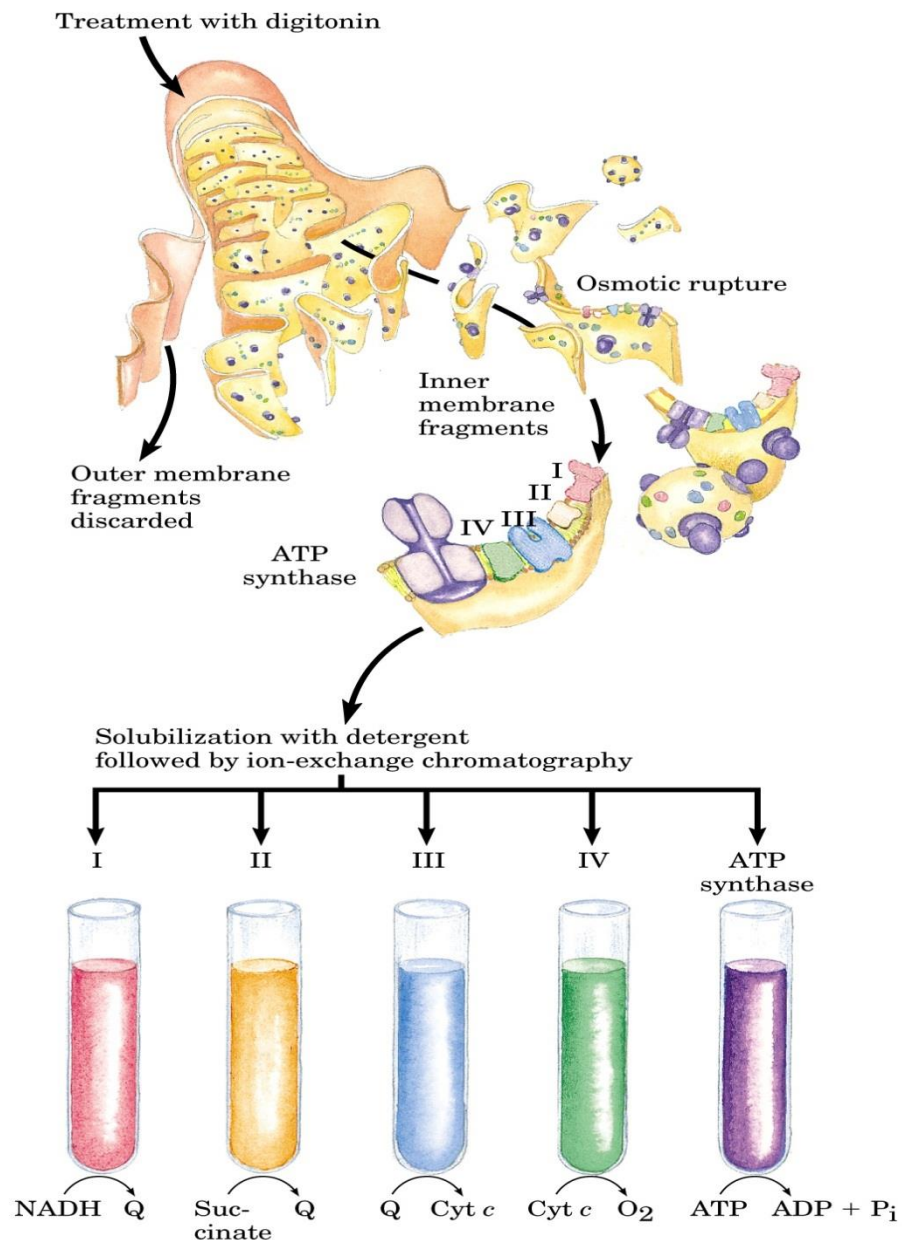


reduzida

oxidada



# Separação dos complexos funcionais da cadeia respiratória



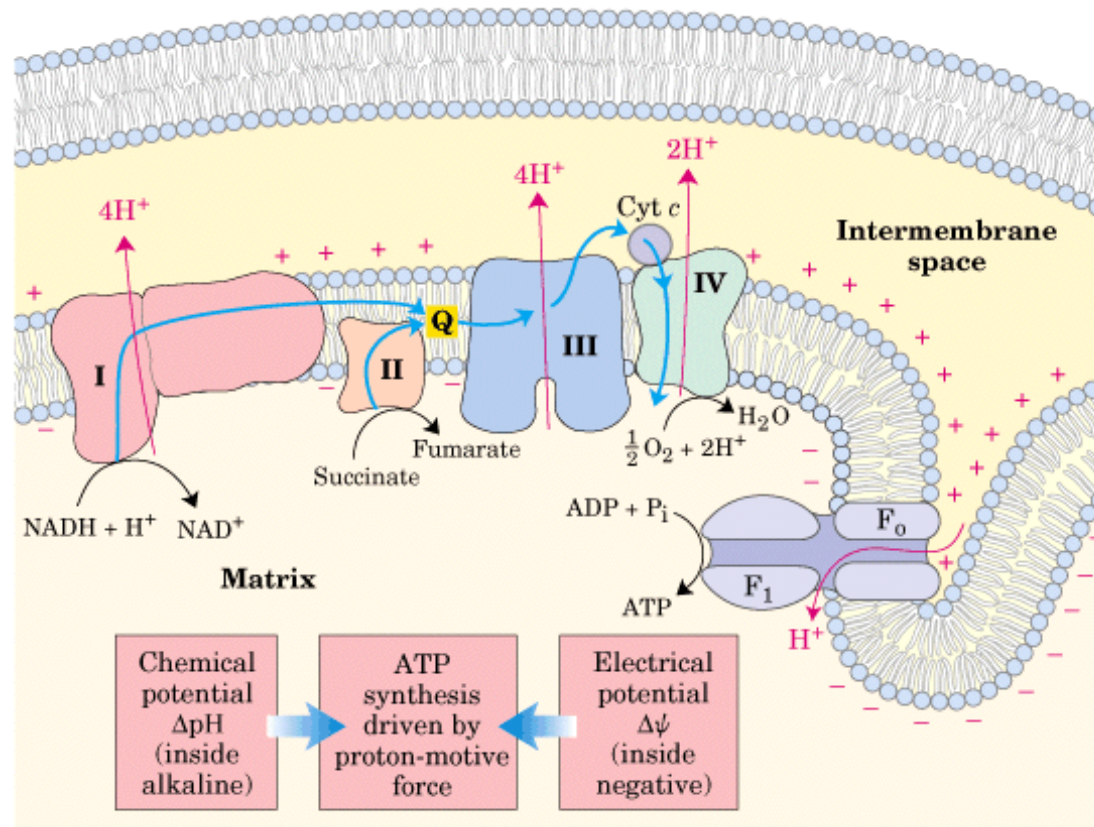
Reações catalizados por frações isolados in vitro

**TABELA 19-3** Os componentes proteicos da cadeia mitocondrial de transferência de elétrons

Proteína/complexo enzimático	Massa (kDa)	Número de subunidades*	Grupo(s) prostético(s)
I NADH-desidrogenase	850	43 (14)	FMN, Fe-S
II Succinato-desidrogenase	140	4	FAD, Fe-S
III Ubiquinona: citocromo <i>c</i> -oxidorreductase	250	11	Hemes, Fe-S
Citocromo <i>c</i> <sup>†</sup>	13	1	Heme
IV Citocromo-oxidase	160	13 (3-4)	Hemes; Cu <sub>A</sub> , Cu <sub>B</sub>

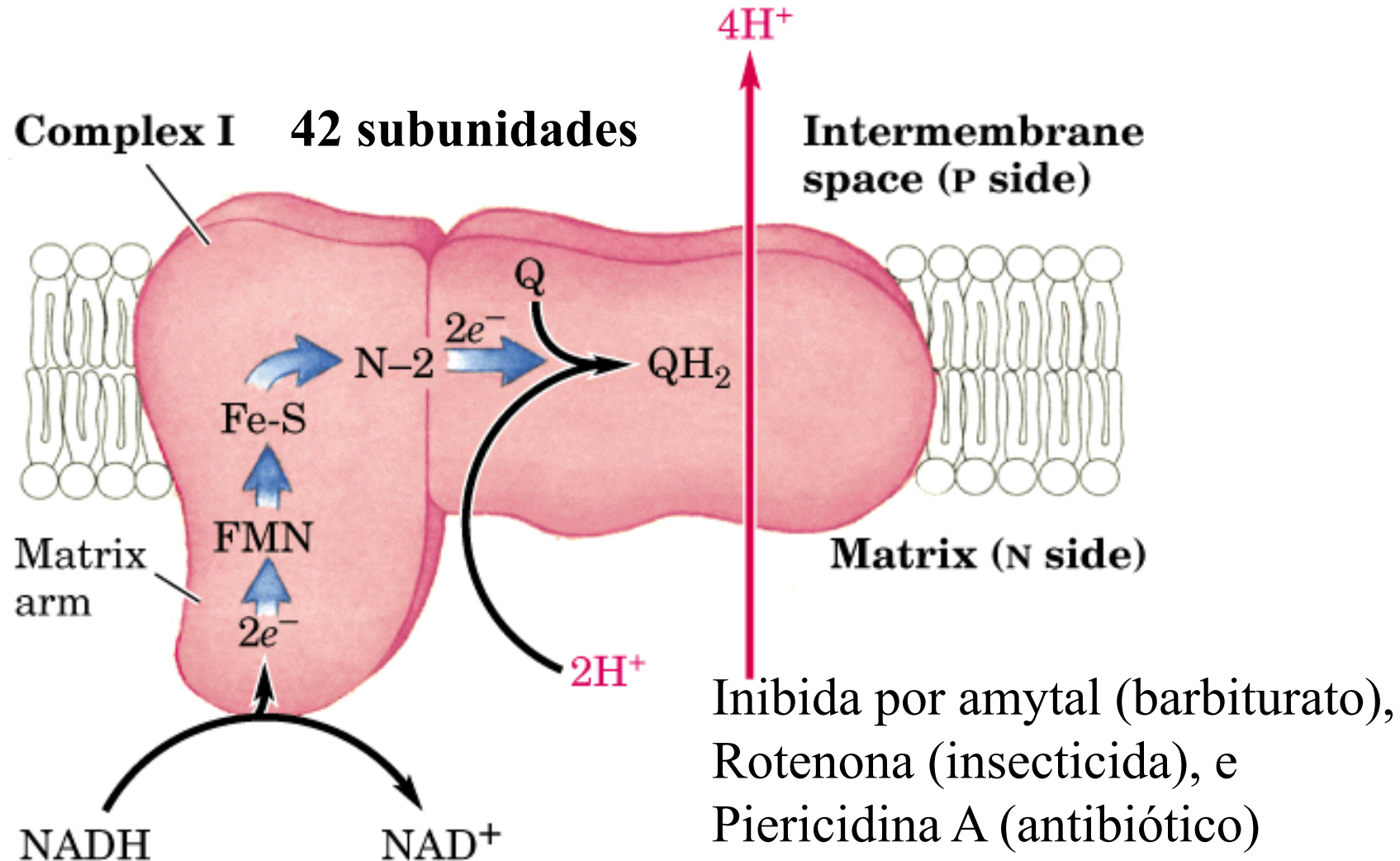
\*Número de subunidades em equivalentes bacterianos entre parênteses.

<sup>†</sup>O citocromo *c* não é parte do *c*

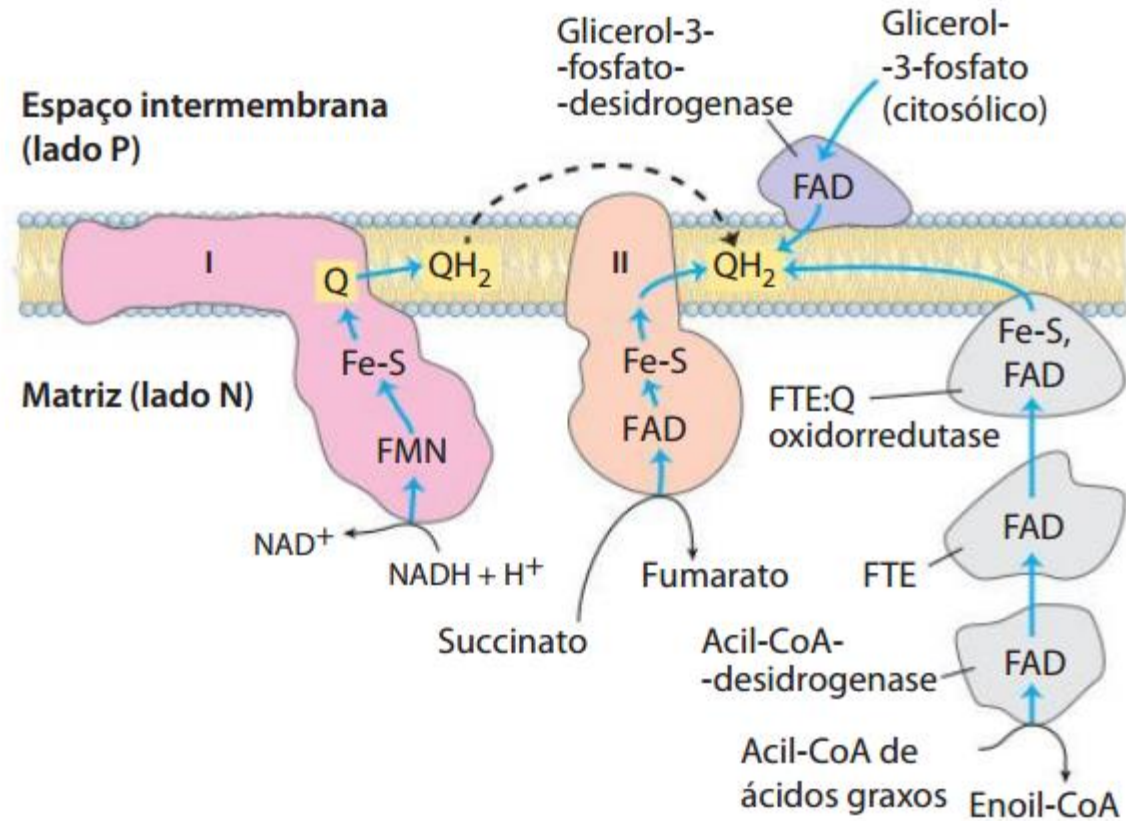


# Complexo I - NADH:ubiquinona oxidoreductase

Uma bomba de protons – utiliza a energia de transferência de elétrons para criar um gradiente de  $H^+$  através da membrana. A energia de transferência de  $e^-$  está momentaneamente guardada na forma desta gradiente.



Complexo I:  
recebe e<sup>-</sup> de  
NADH e  
transfere  
para citQ



**FIGURA 19-8** Via dos elétrons de NADH, succinato, acil-CoA de ácidos graxos e glicerol-3-fosfato para a ubiquinona. Ubiquinona (Q) é o pon-

Complexo II:  
Recebe e<sup>-</sup> de FADH<sub>2</sub>  
(em succinato desidrogenase no ciclo de Krebs)  
e transfere para cytQ.

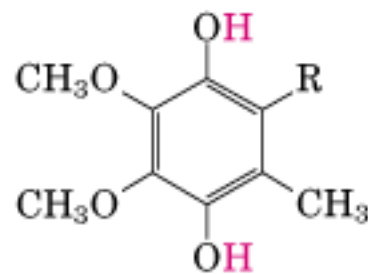
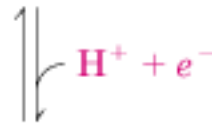
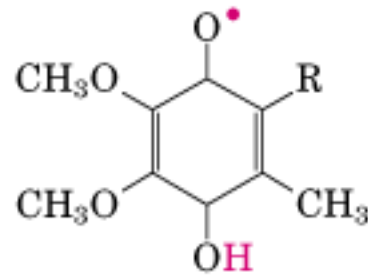
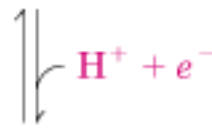
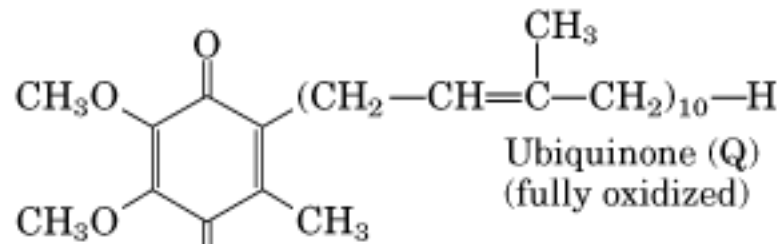
# Coenzima Q

ou

# Ubiquinona

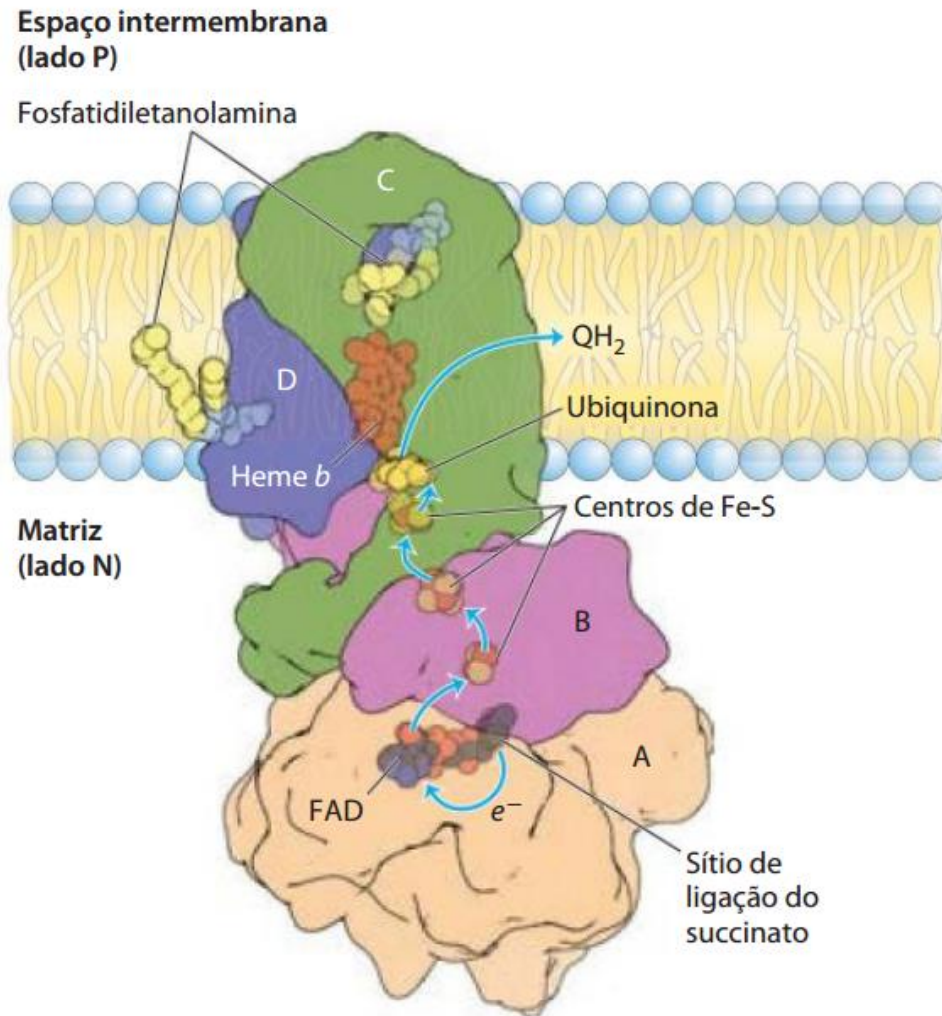
ou

“Q”





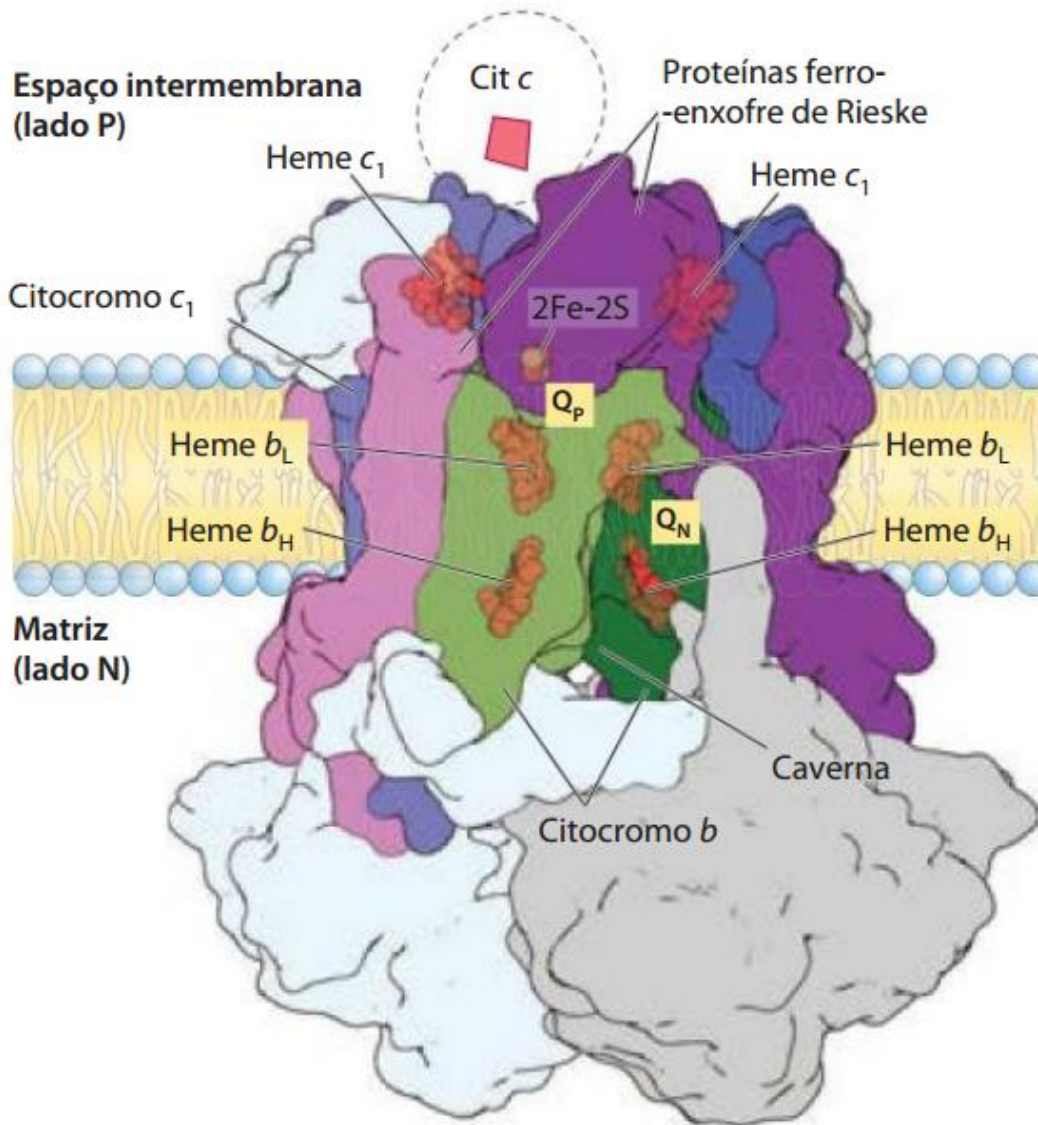
# Complexo II - succinato desidrogenase



Complexo II:  
Recebe e<sup>-</sup> de  
FADH<sub>2</sub>  
(em succinato  
desidrogenase no ciclo  
de Krebs)  
e transfere para  
cytQ.

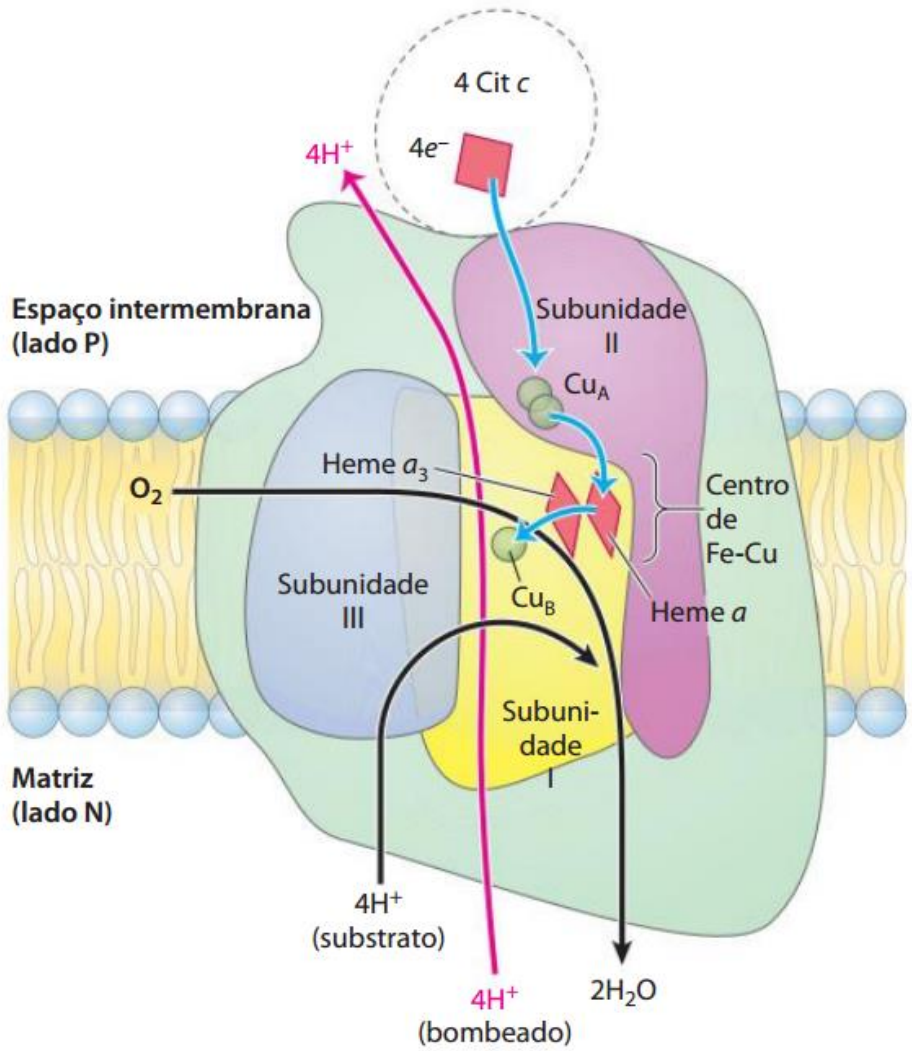
**FIGURA 19-10** Estrutura do complexo II (succinato-desidrogenase). (PDB ID 1ZOY) Este complexo (aqui está apresentada a enzima do co-

# Complexo III - ubiquinona:citocromo c oxidoreductase



Acopla a transferência de elétrons da ubiquinona (QH<sub>2</sub>) para o citocromo c com o transporte de prótons (4) da matriz para o espaço intermembranas

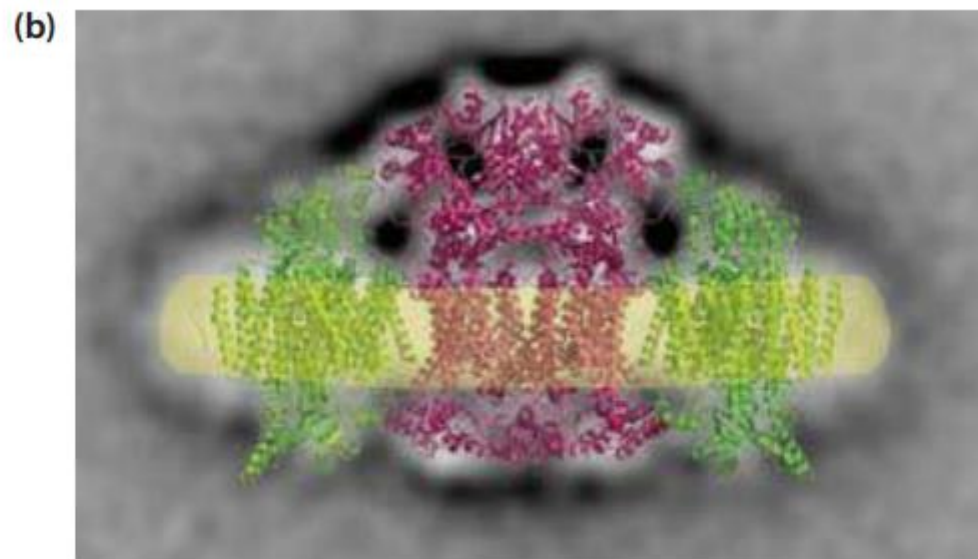
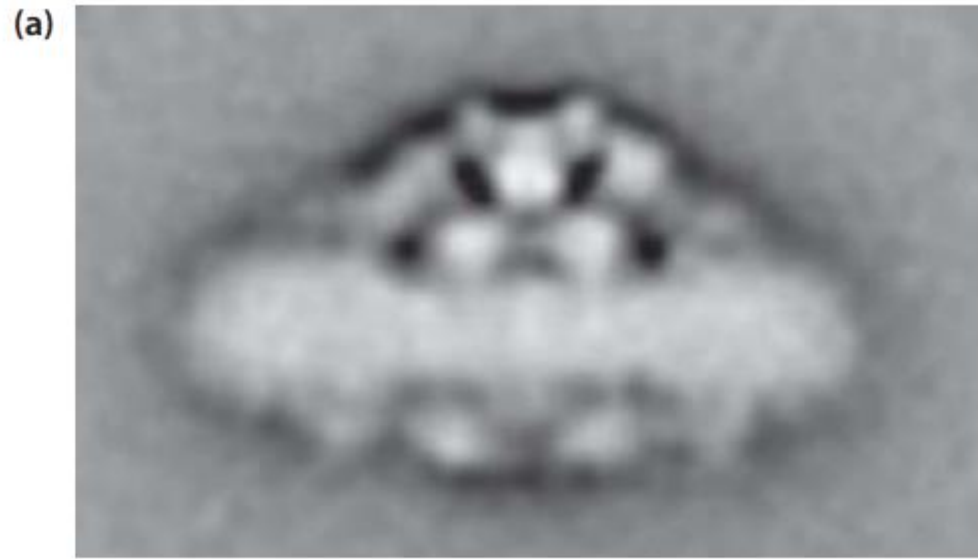
**Complexo IV - Citocromo oxidase: transfere e- de citc para O<sub>2</sub>, formando H<sub>2</sub>O**



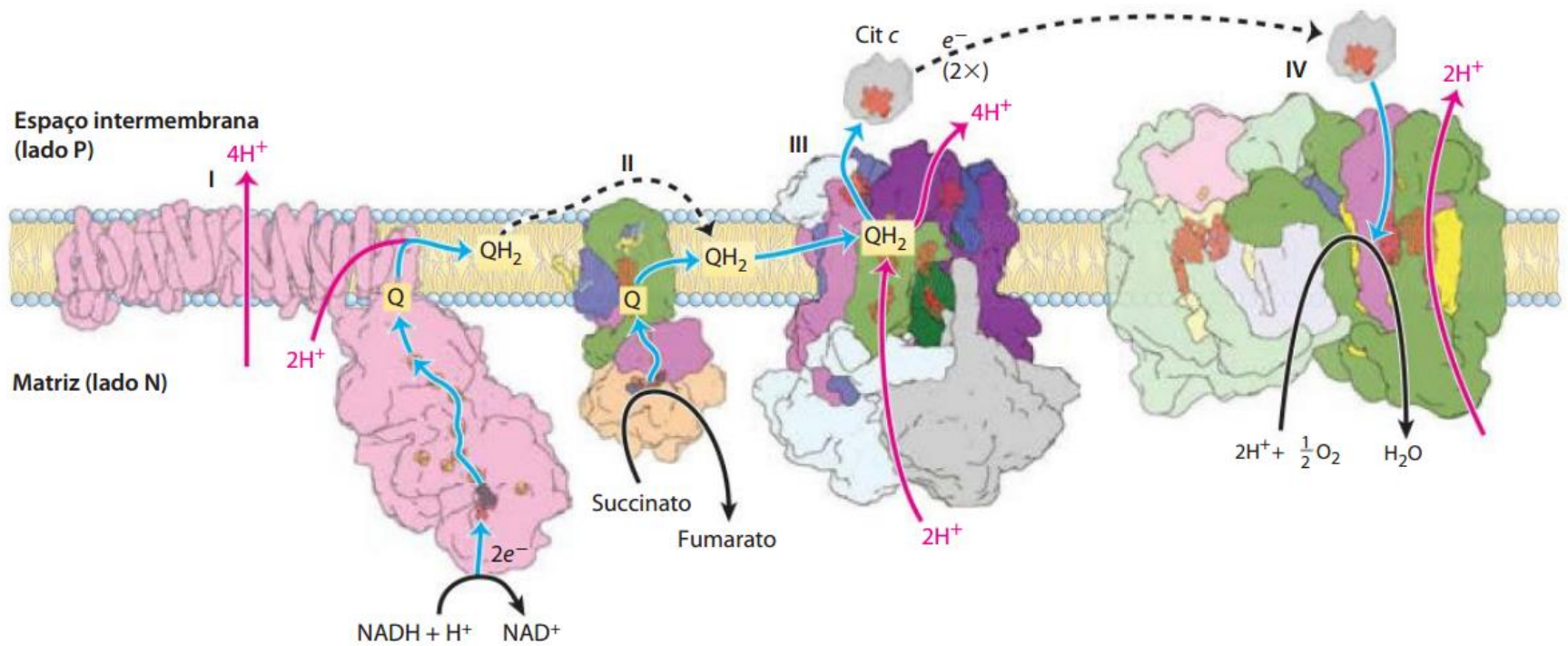
**FIGURA 19-14** Via dos elétrons pelo complexo IV. As três proteínas cru-



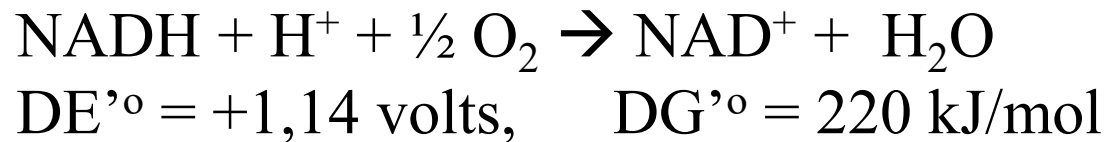




**FIGURA 19-15** Um suposto respirassomo composto por complexos III e IV. (a) Supercomplexos purificados contendo complexos III e IV de

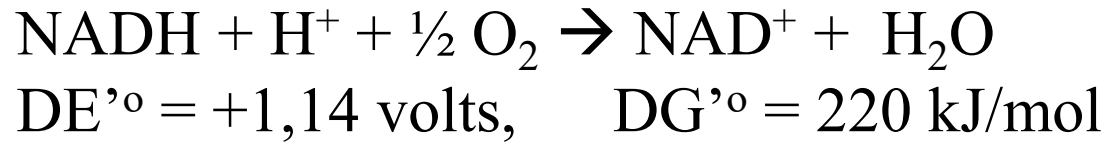


**FIGURA 19-16** Resumo do fluxo de elétrons e prótons pelos quatro complexos da cadeia respiratória.



Esta reação resultante é altamente exergônica. Para o par redox  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ,  $E'^{\circ}$  é  $-0,320 \text{ V}$ , e, para o par  $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ ,  $E'^{\circ}$  é  $0,816 \text{ V}$ . O  $\Delta E'^{\circ}$  para esta reação é, portanto,  $1,14 \text{ V}$ , e a variação na energia livre padrão (ver Equação 13-7, p. 531) é

$$\begin{aligned} \Delta G'^{\circ} &= -n\mathcal{F}\Delta E'^{\circ} && (19-6) \\ &= -2(96,5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(1,14 \text{ V}) \\ &= -220 \text{ kJ/mol (de NADH)} \end{aligned}$$



Esta reação resultante é altamente exergônica. Para o par redox  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ,  $E'^{\circ}$  é  $-0,320 \text{ V}$ , e, para o par  $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ ,  $E'^{\circ}$  é  $0,816 \text{ V}$ . O  $\Delta E'^{\circ}$  para esta reação é, portanto,  $1,14 \text{ V}$ , e a variação na energia livre padrão (ver Equação 13-7, p. 531) é

$$\begin{aligned} \Delta G'^{\circ} &= -n\mathcal{F}\Delta E'^{\circ} && (19-6) \\ &= -2(96,5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(1,14 \text{ V}) \\ &= -220 \text{ kJ/mol (de NADH)} \end{aligned}$$

Mas esse número é maior! (mais negativa)





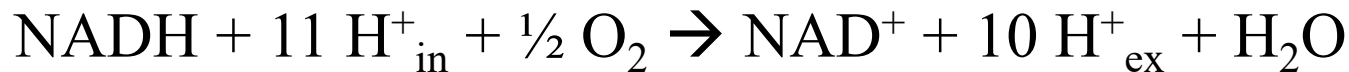
Esta reação resultante é altamente exergônica. Para o par redox  $\text{NAD}^+/\text{NADH}$ ,  $E'^{\circ}$  é  $-0,320 \text{ V}$ , e, para o par  $\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$ ,  $E'^{\circ}$  é  $0,816 \text{ V}$ . O  $\Delta E'^{\circ}$  para esta reação é, portanto,  $1,14 \text{ V}$ , e a variação na energia livre padrão (ver Equação 13-7, p. 531) é

$$\begin{aligned} \Delta G'^{\circ} &= -n\mathcal{F}\Delta E'^{\circ} && (19-6) \\ &= -2(96,5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(1,14 \text{ V}) \\ &= -220 \text{ kJ/mol (de NADH)} \end{aligned}$$

Mas esse número é maior! (mais negativa)



**Energia liberado pela oxidação é guardado na forma de um gradiente de  $\text{H}^+$ .**



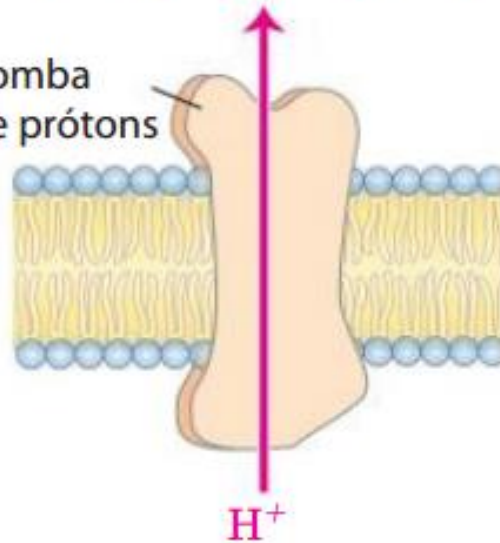
“Força protomotiva” =  $\Delta G = RT \ln(C_p/C_n) + Z\mathcal{F}\Delta y = 200 \text{ kJ per } 10 \text{ H}^+$

Energia da gradiente de  $\text{H}^+$  ( $\Delta \text{pH}=0,75$ )      Energia de diferença de carga ( $\Delta y=0,2 \text{ V}$ )

Lado P  
 $[H^+]_P = C_2$



Bomba  
de prótons



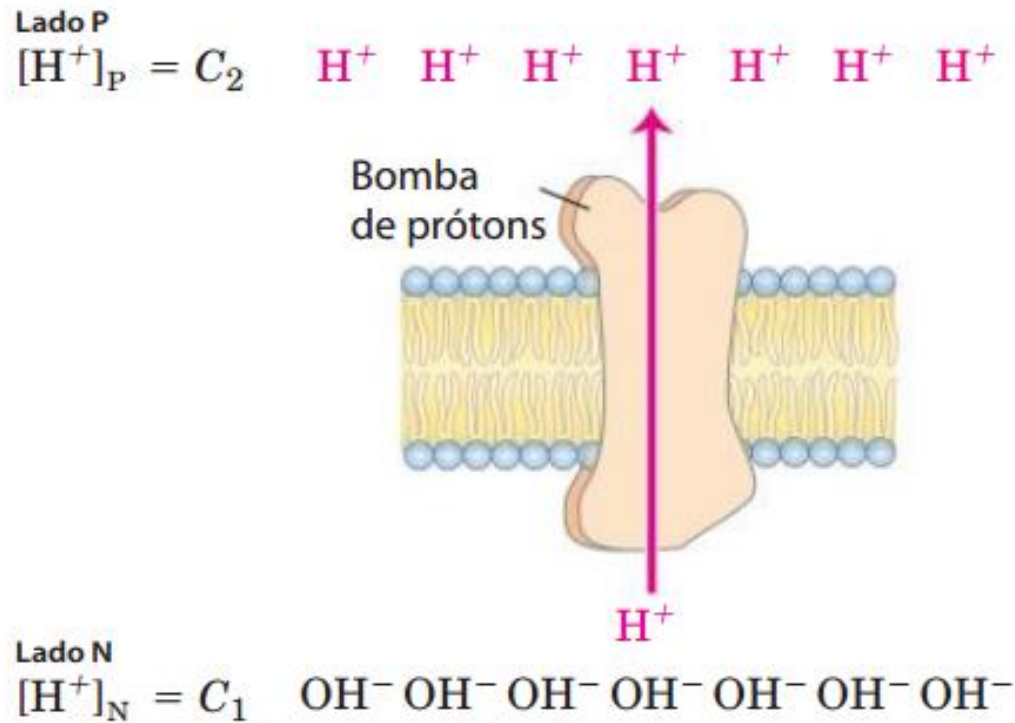
Lado N  
 $[H^+]_N = C_1$



$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1) + Z \mathcal{F} \Delta \psi$$

$$= 2,3RT \Delta pH + \mathcal{F} \Delta \psi$$

**FIGURA 19-17** Força próton-motriz.



$$\Delta G = RT \ln (C_2/C_1) + Z \mathcal{F} \Delta \psi$$

$$= 2,3RT \Delta pH + \mathcal{F} \Delta \psi$$

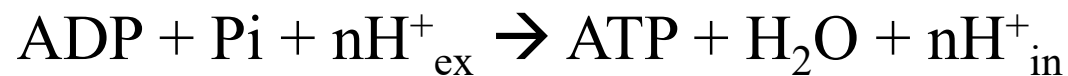
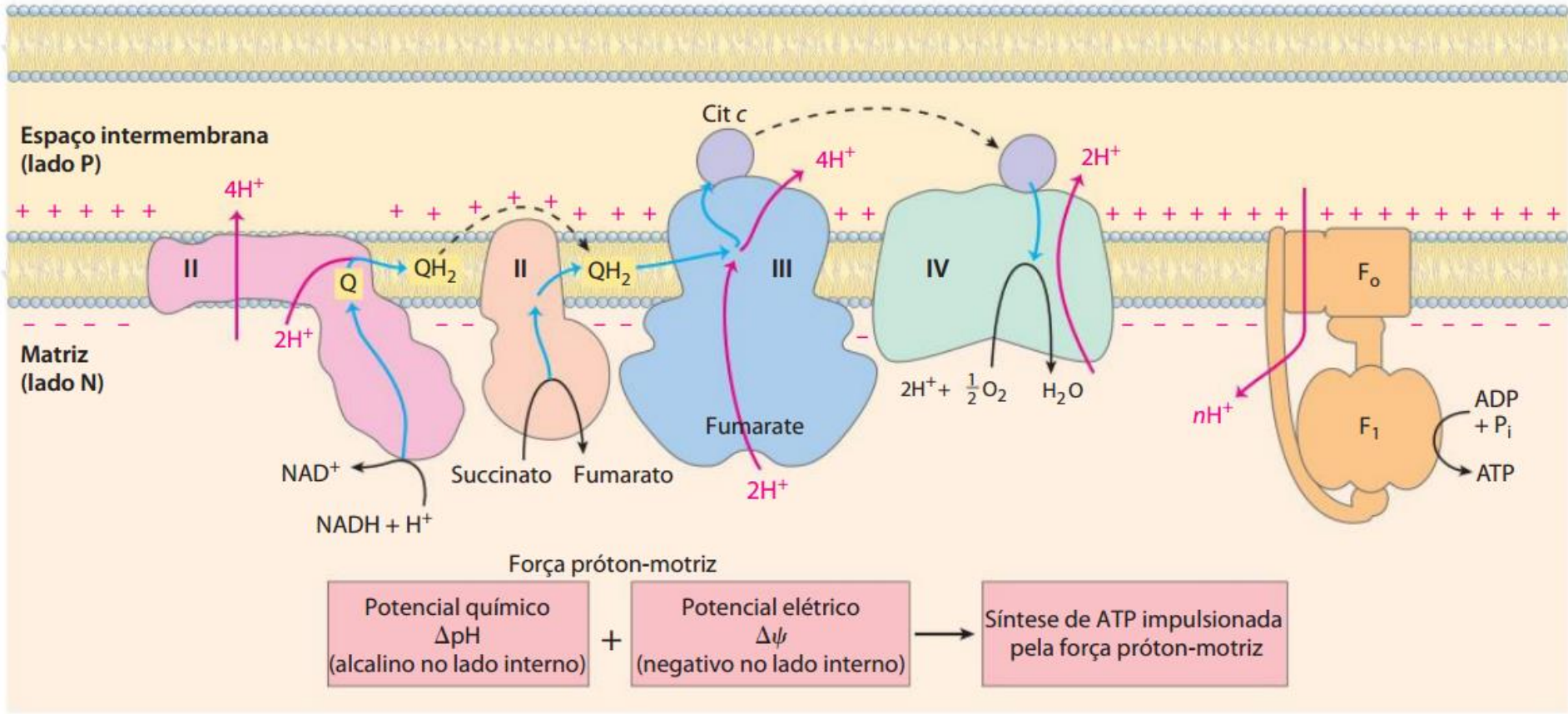
**FIGURA 19-17** Força próton-motriz.

Energia estocada no gradiente

- Energia potencial química
- Energia potencial elétrica

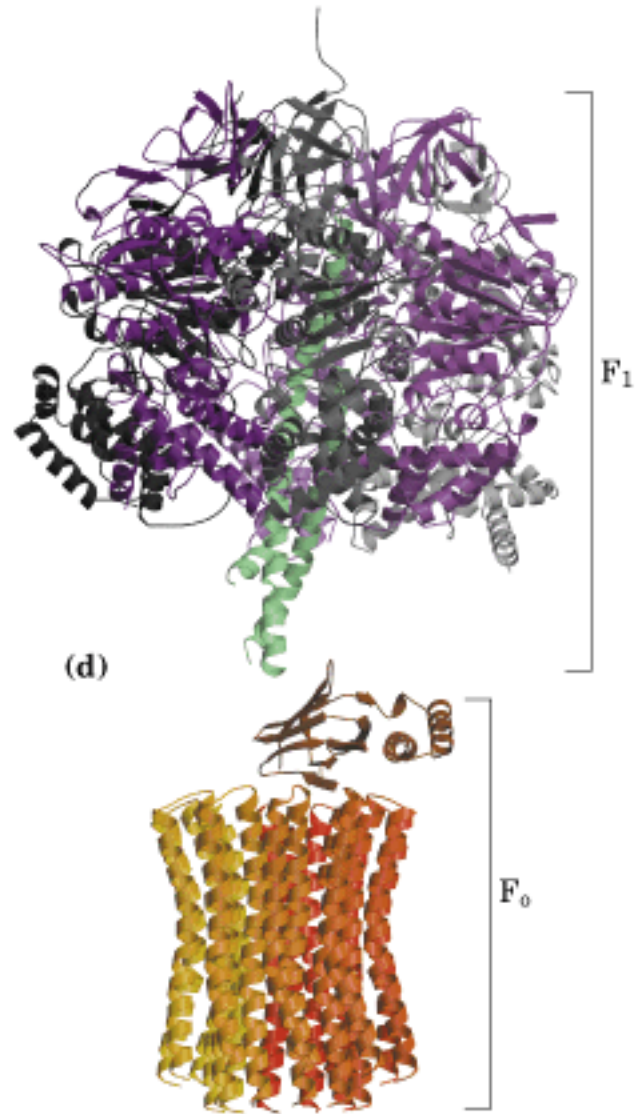


# “Modelo quimiosmótico” de geração de ATP a partir de gradiente de H<sup>+</sup>

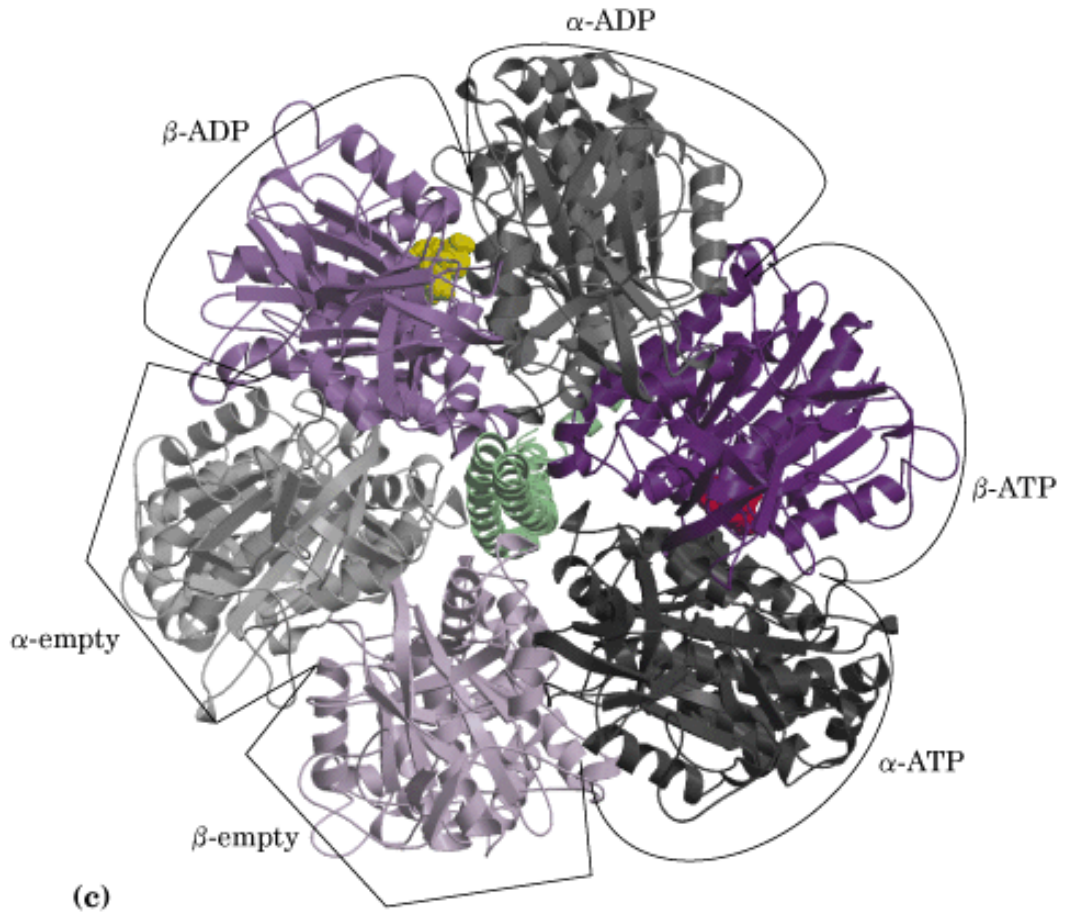
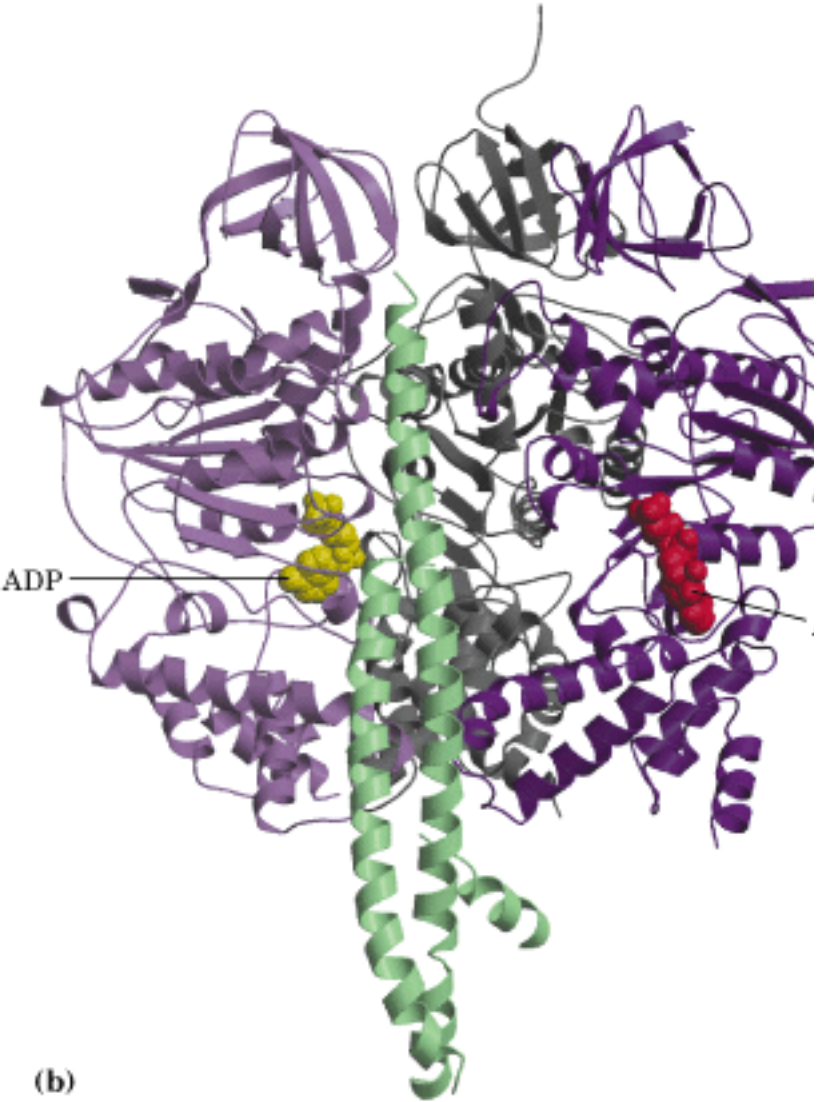


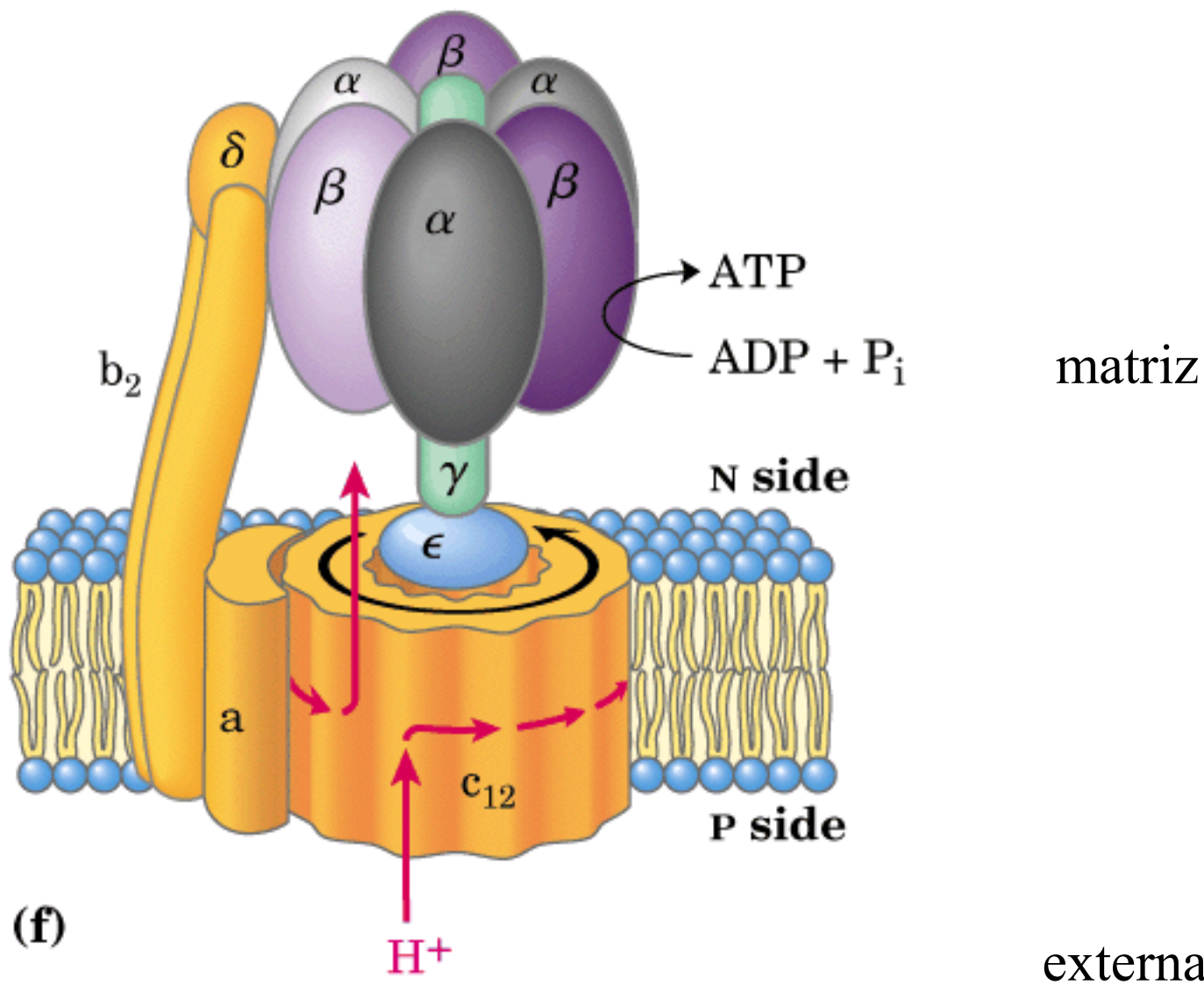


# $F_0F_1$ ATP sintase

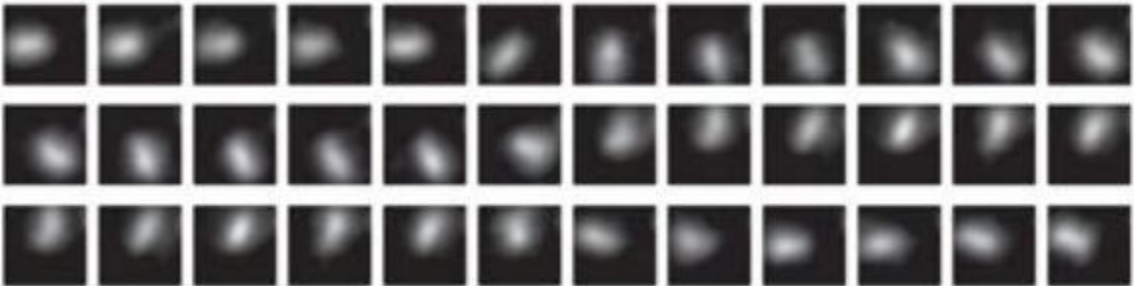
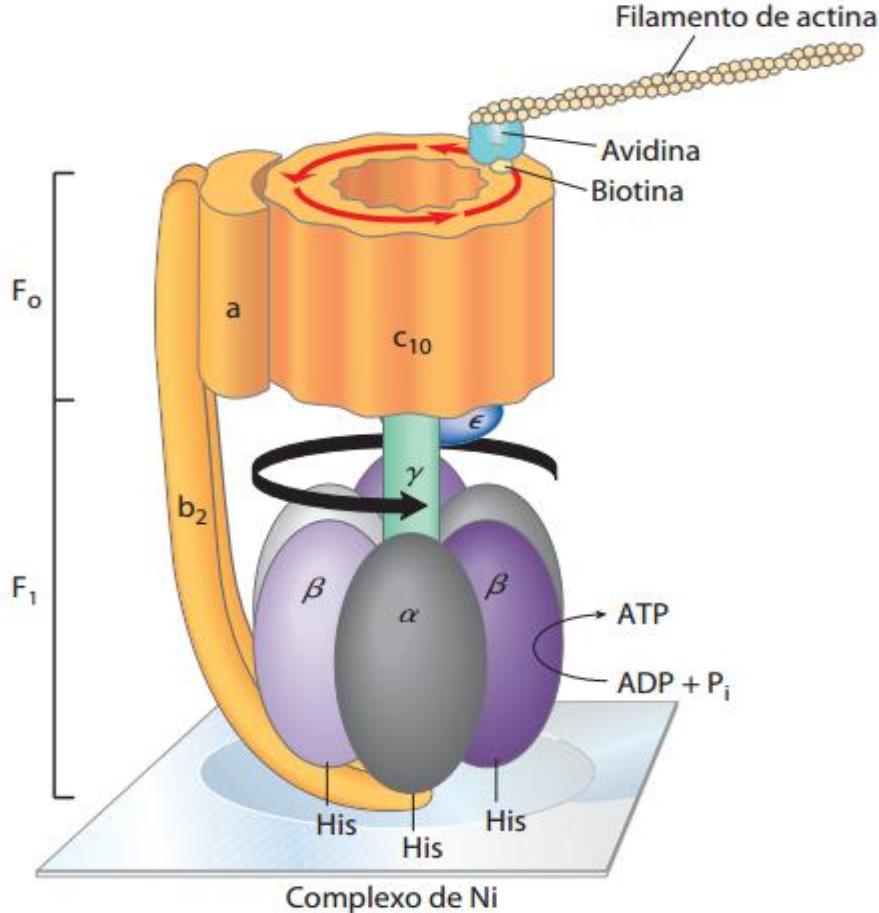


Complexo  $F_1 = \alpha_3\beta_3\gamma\delta\varepsilon$





# $\gamma$ ou C-biotina-avidin-actina (fluorescente)



<https://www.youtube.com/watch?v=A2my52zQA6k>

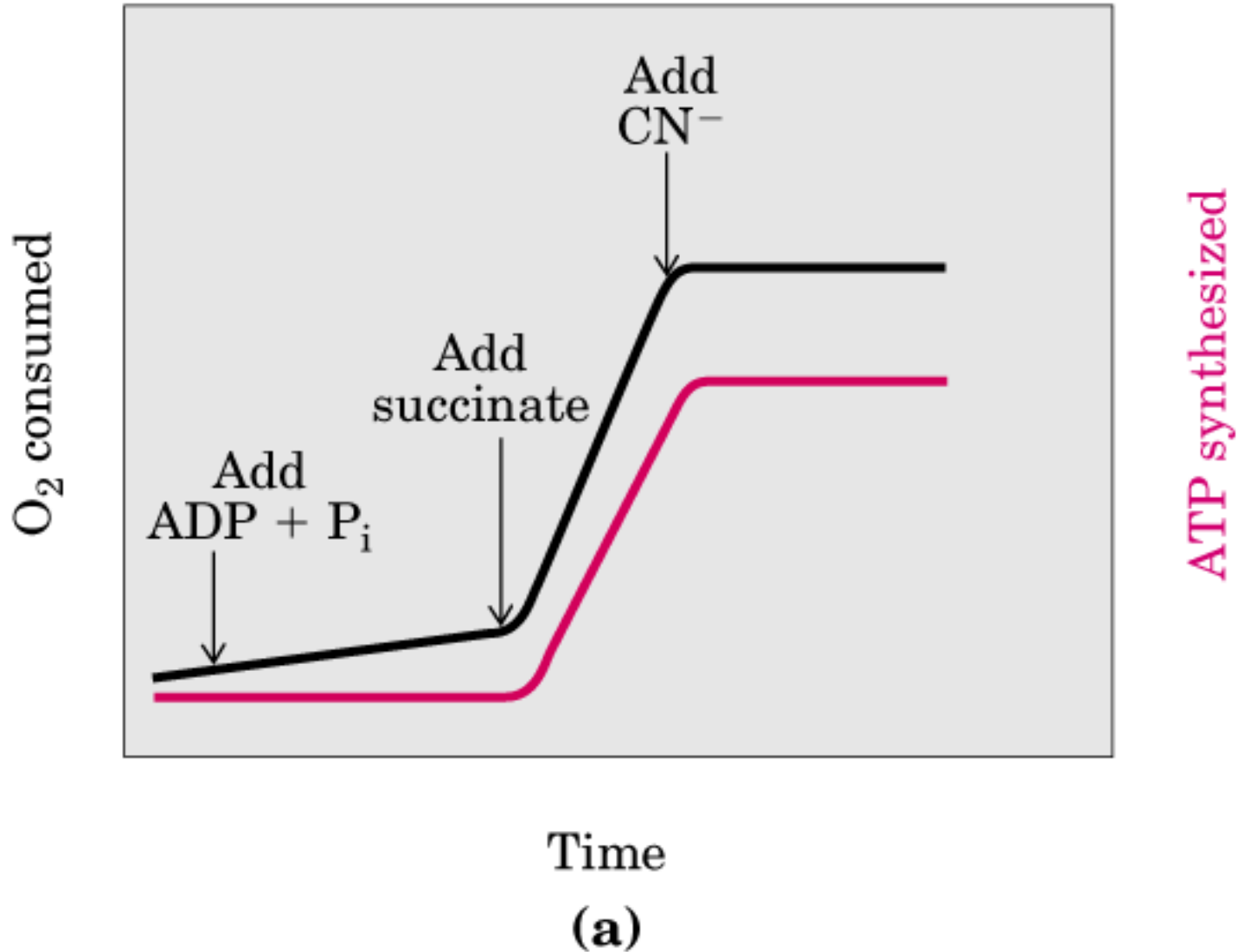
table 19-4

**Some Agents That Interfere with Oxidative Phosphorylation or Photophosphorylation**

Type of interference	Compound*	Target/mode of action
Inhibition of electron transfer	Cyanide	Inhibit cytochrome oxidase
	Carbon monoxide	
Inhibition of ATP synthase	Antimycin A	Blocks electron transfer from cytochrome <i>b</i> to cytochrome <i>c</i> <sub>1</sub>
	Myxothiazol	
	Rotenone	Prevent electron transfer from Fe-S center to ubiquinone
	Amytal	
	Piericidin A	
	DCMU	
Inhibition of phosphorylation from electron transfer	Aurovertin	Inhibits F <sub>1</sub>
	Oligomycin	Inhibit F <sub>0</sub> and CF <sub>0</sub>
	Venturicidin	
	DCCD	Blocks proton flow through F <sub>0</sub> and CF <sub>0</sub>
Uncoupling of phosphorylation from electron transfer	FCCP	Hydrophobic proton carriers
	DNP	
	Valinomycin	K <sup>+</sup> ionophore
	Thermogenin	Forms proton-conducting pores in inner membrane of brown fat mitochondria
Inhibition of ATP-ADP exchange	Attractyloside	Inhibits adenine nucleotide translocase

\*DCMU is 3-(3,4-dichlorophenyl)-1,1-dimethylurea; DCCD, dicyclohexylcarbodiimide; FCCP, cyanide-*p*-trifluoromethoxyphenylhydrazone; DNP, 2,4-dinitrophenol.

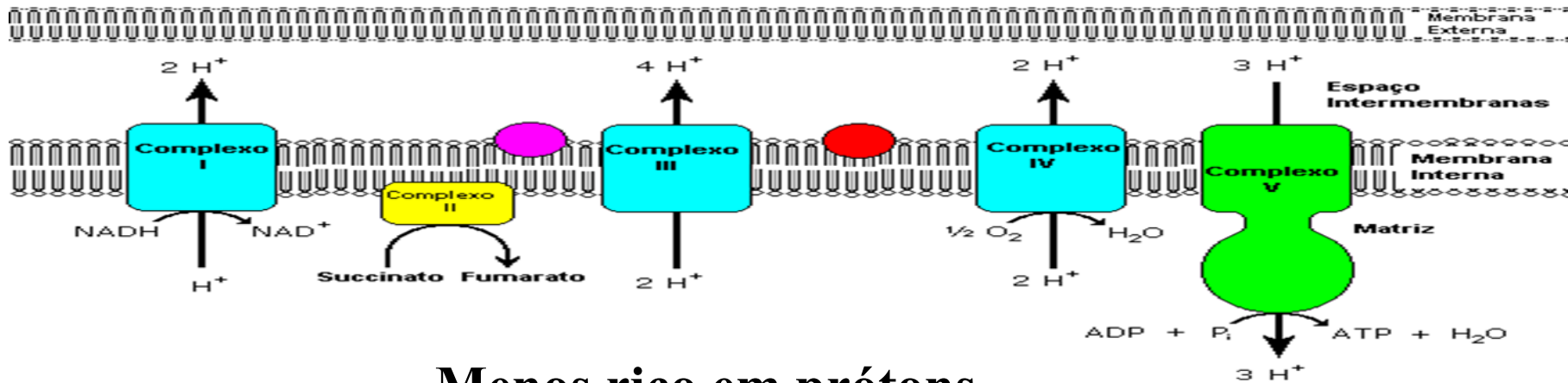
# Acoplamento de síntese de ATP e consumo de O<sub>2</sub>



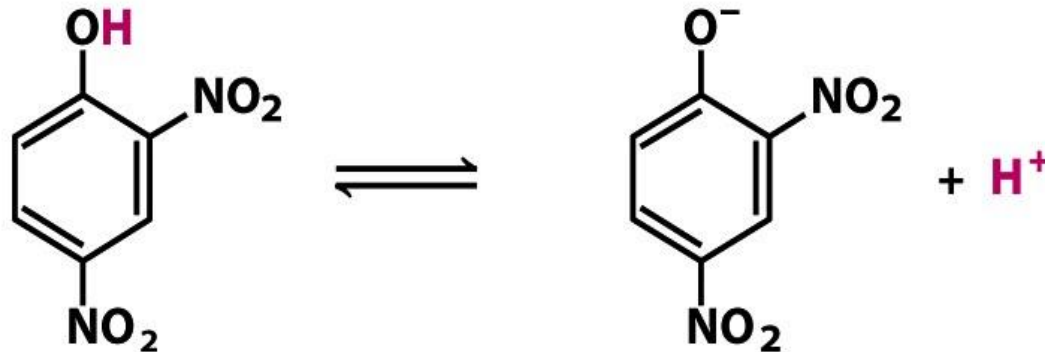


# Desacoplador DNP

Rico em prótons

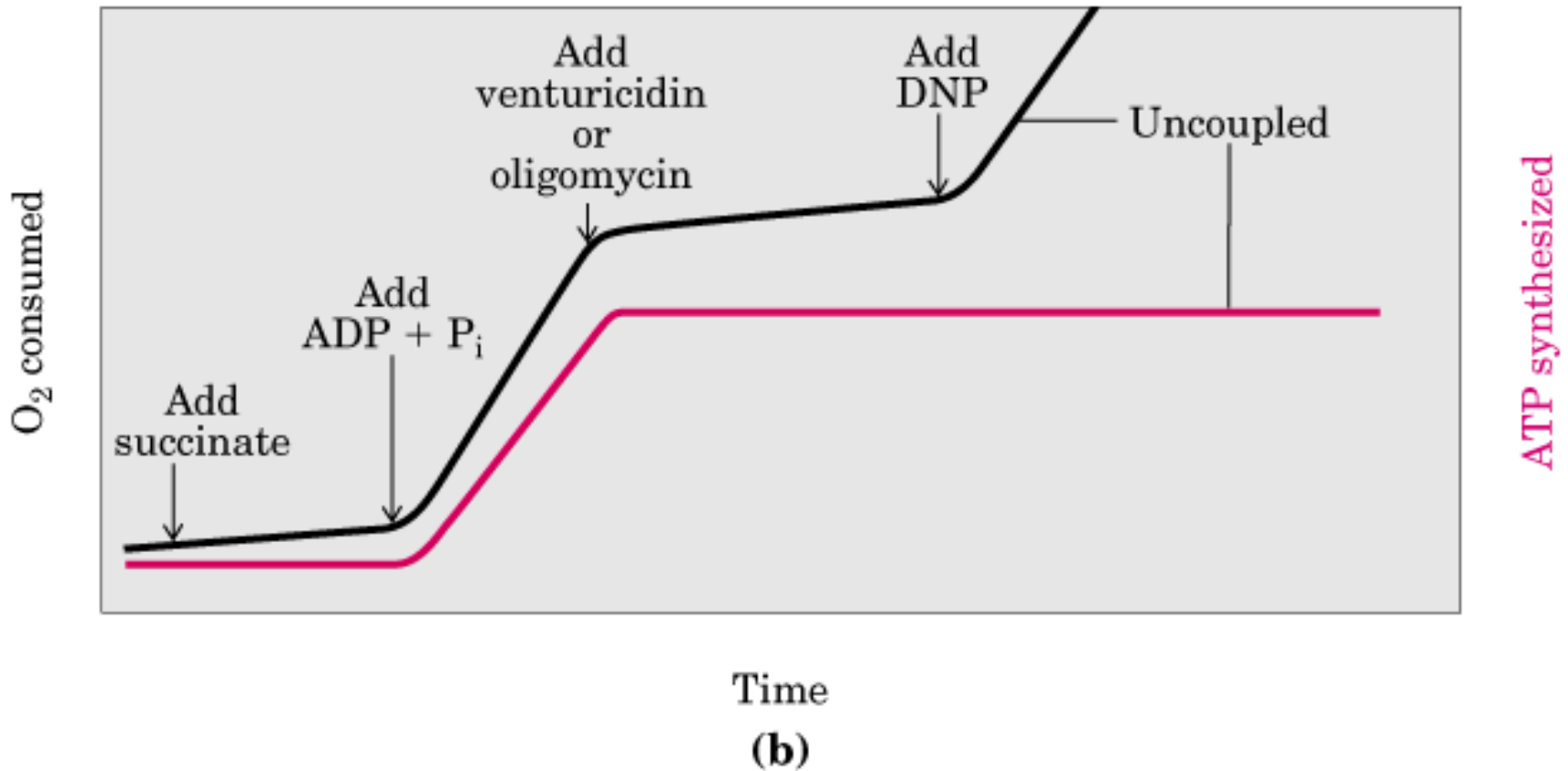


Menos rico em prótons





# Desacoplamento de consumo de $O_2$ e a síntese de ATP



## Perigosa pílula que promete queimar gordura volta à moda entre os jovens

Da BBC Mundo

🕒 20 dezembro 2015



 Compartilhar



THINKSTOCK

Muitos consumiam o DNP na década de 30 para perder peso mas a substância foi proibida depois de ser considerada 'extremamente perigosa' (Foto: Thinkstock)

**O aumento do consumo de um perigoso composto que promete "queimar" a gordura do corpo está preocupando autoridades de saúde pública em todo o mundo.**

A substância 2,4-dinitrofenol, mais conhecida como DNP, era usada originalmente para a fabricação de explosivos, mas está sendo cada vez mais comercializada de forma ilegal pela internet em forma de cápsulas, pó ou creme, sendo procurada por pessoas que querem emagrecer ou reduzir a porcentagem de gordura em seu corpo.

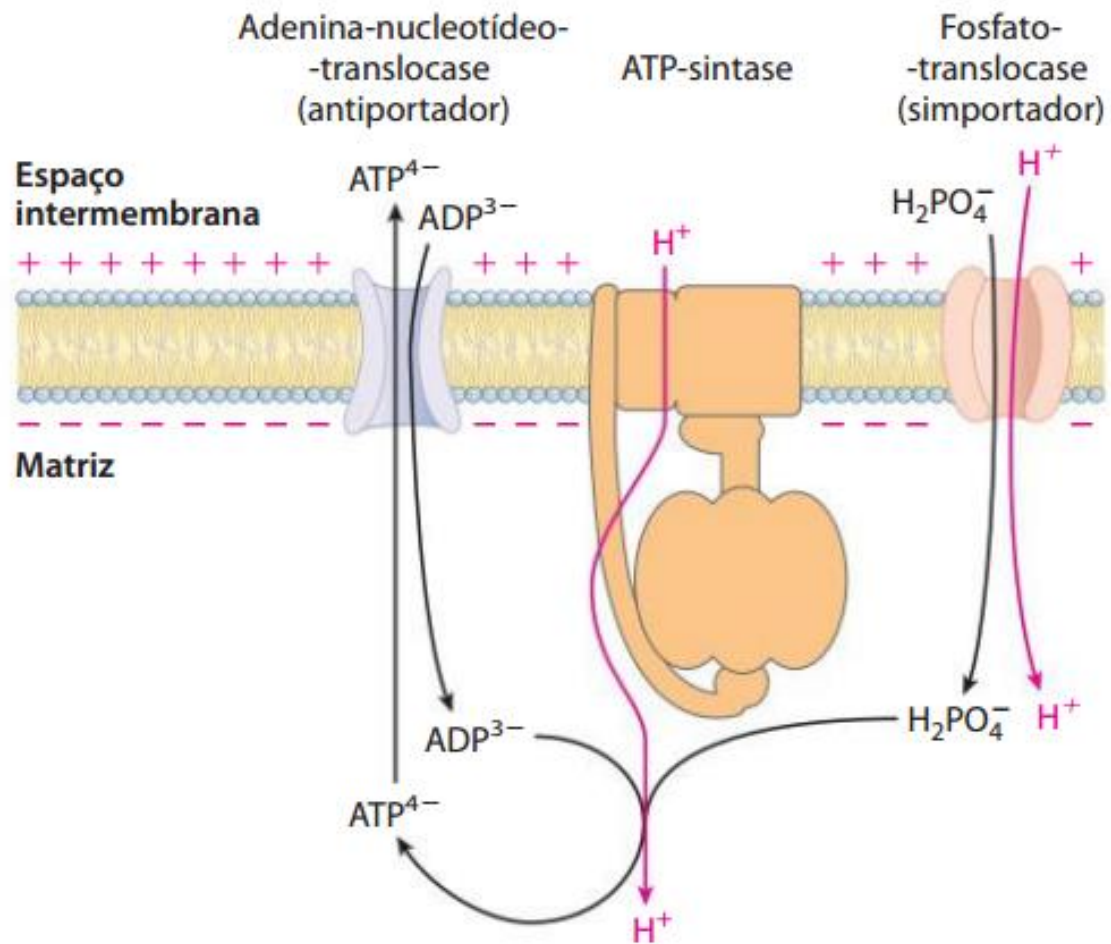
Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), o DNP "já causou doenças graves e mortes em vários países nos últimos três anos".

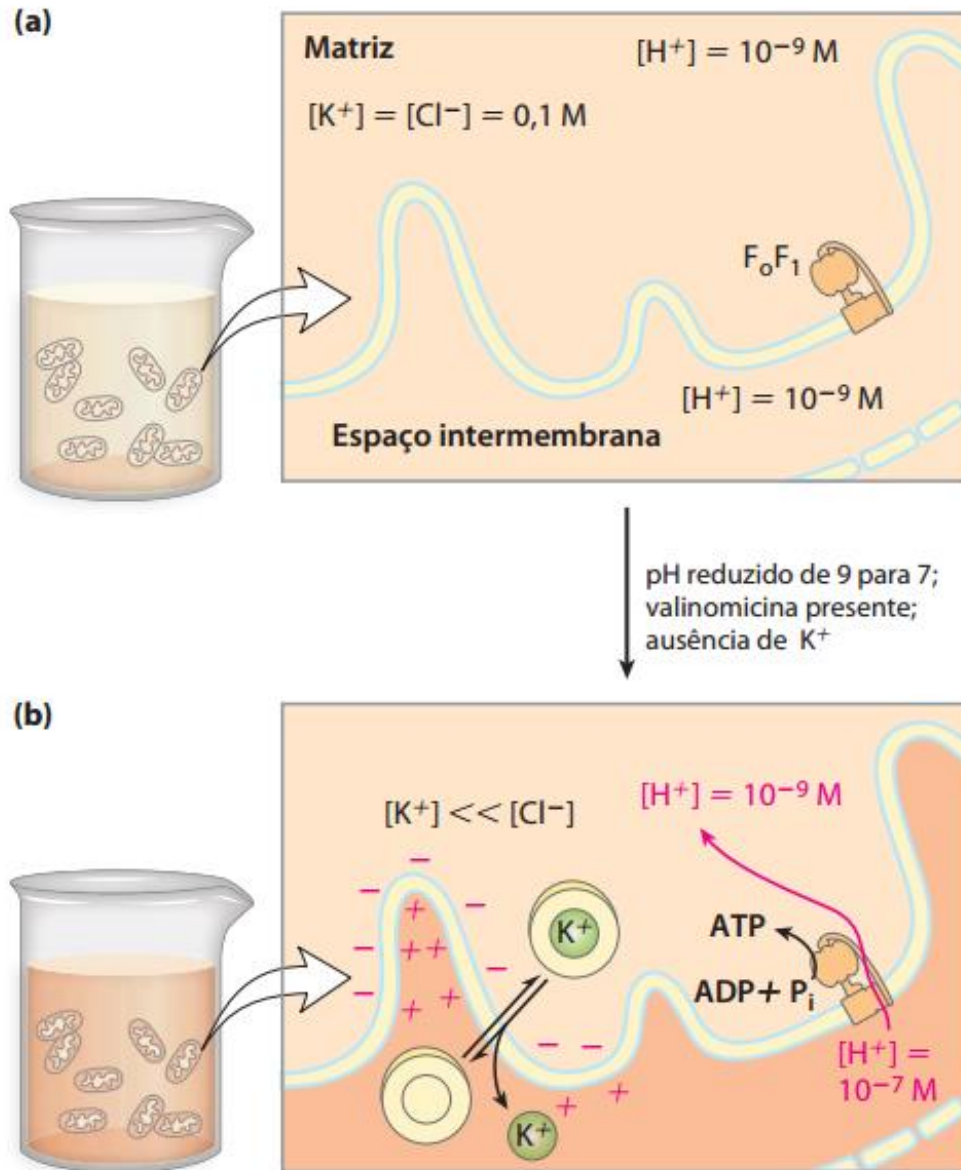


THINKSTOCK

Muitos consumiam o DNP na década de 30 para perder peso mas a substância foi proibida depois de ser considerada 'extremamente perigosa' (Foto: Thinkstock)

Como o ATP produzido na matriz mitocondrial chega ao citosol?



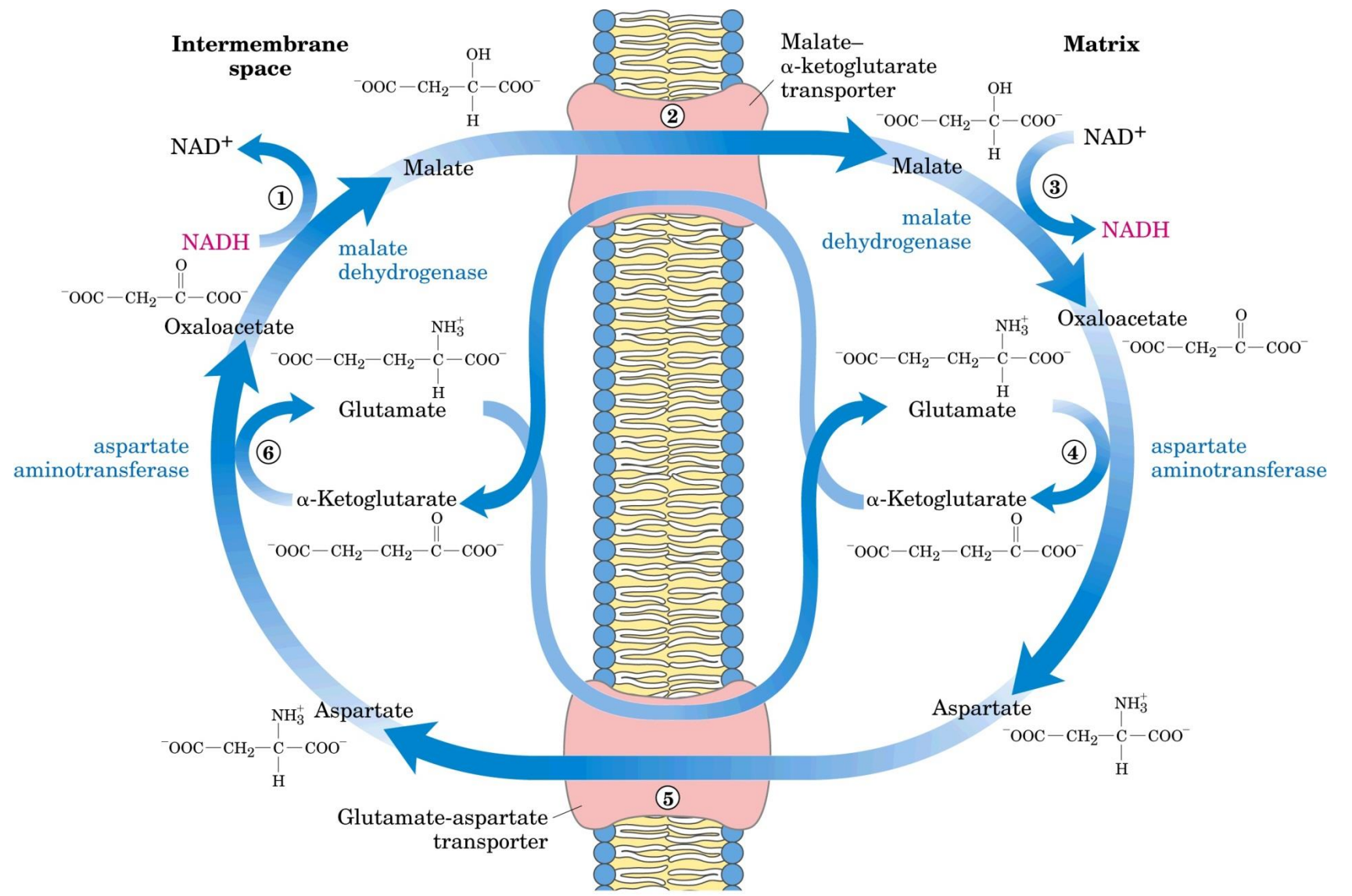


**FIGURA 19-22** Evidência para o papel de um gradiente de prótons na síntese de ATP.

E como o NADH produzido no citosol, via glicolítica, é oxidado na matriz mitocondrial?

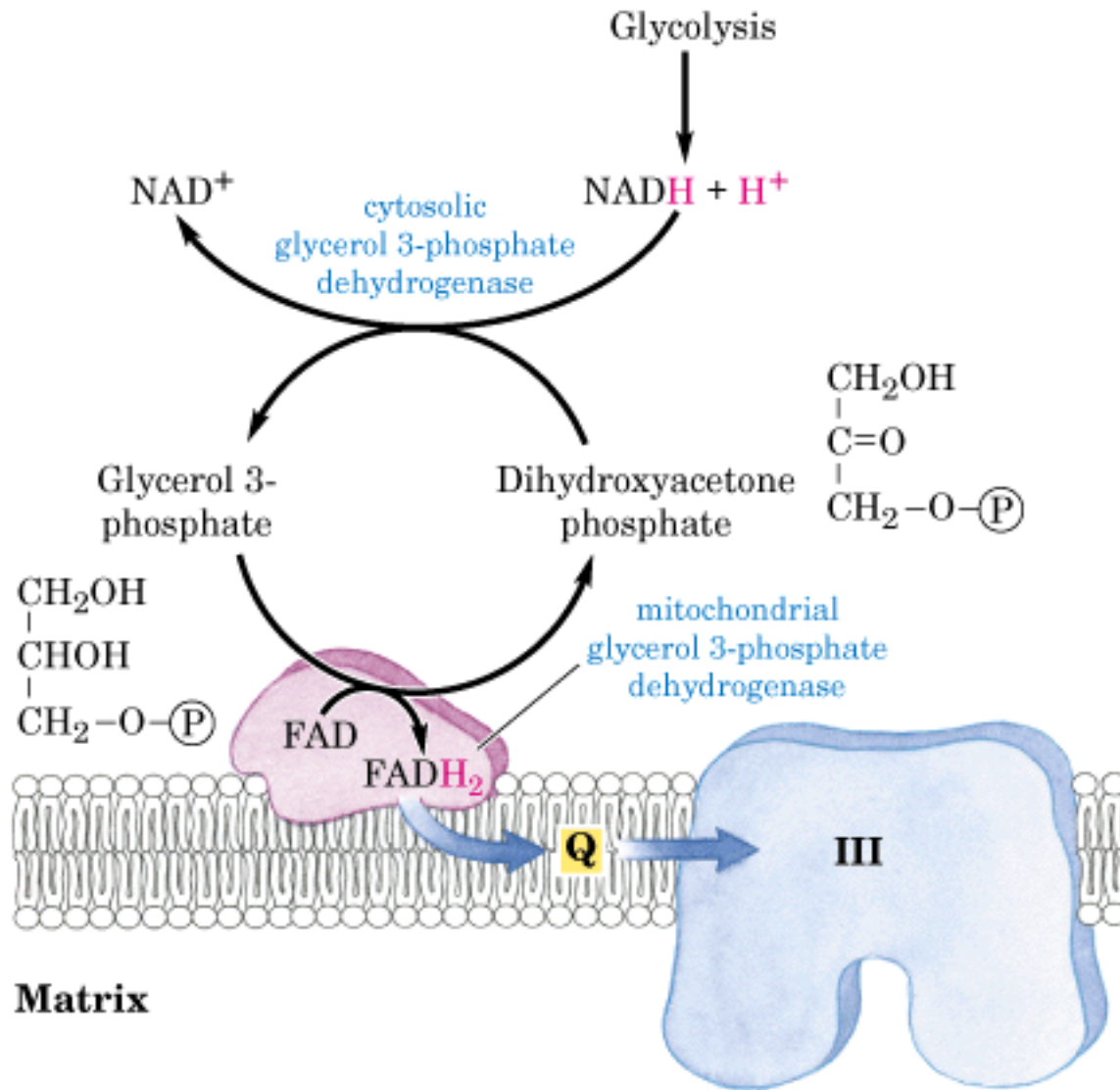


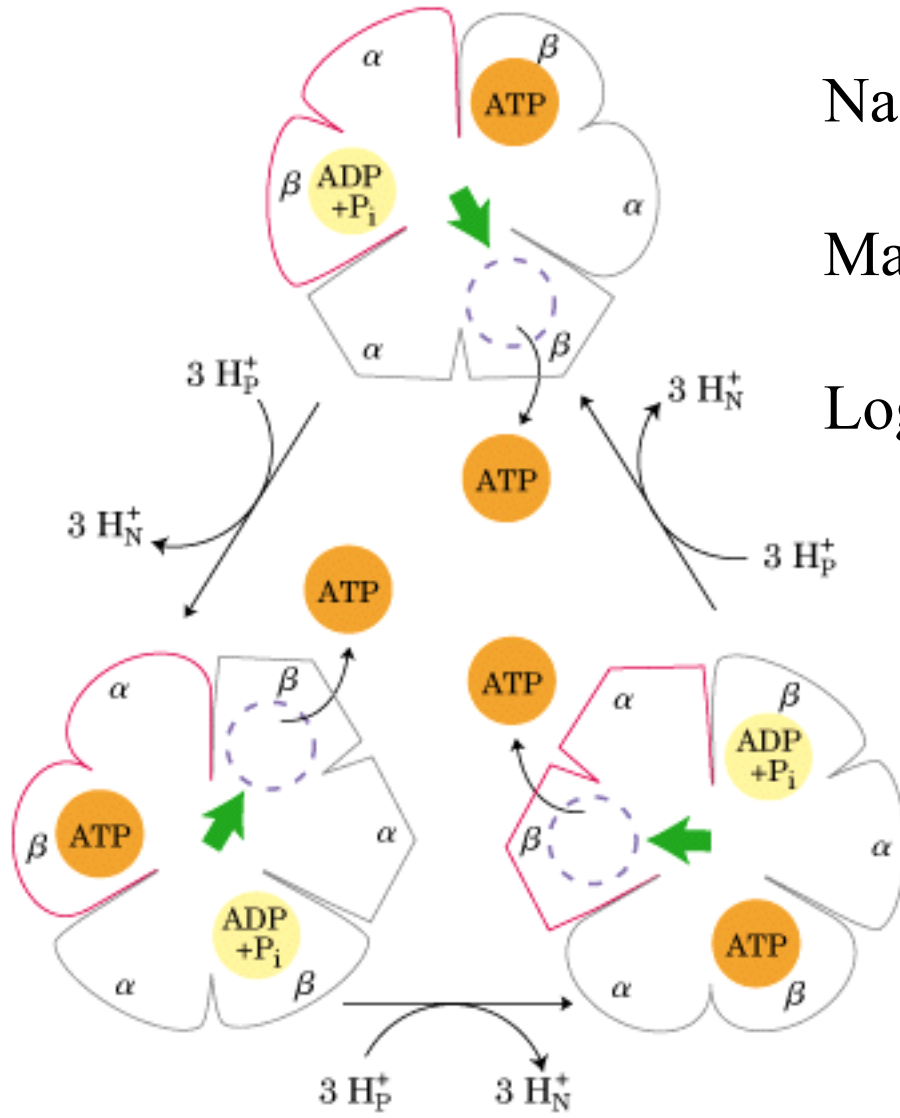
# Lançadeira malato-aspartato: transferência de $\text{NADH}_{\text{cit}}$ para mitocôndria





# Lançadeira glicerol - fosfato





Na sintase, cada 3 H<sup>+</sup> produz 1 ATP

Mas precisa 1 H<sup>+</sup> para transportar Pi

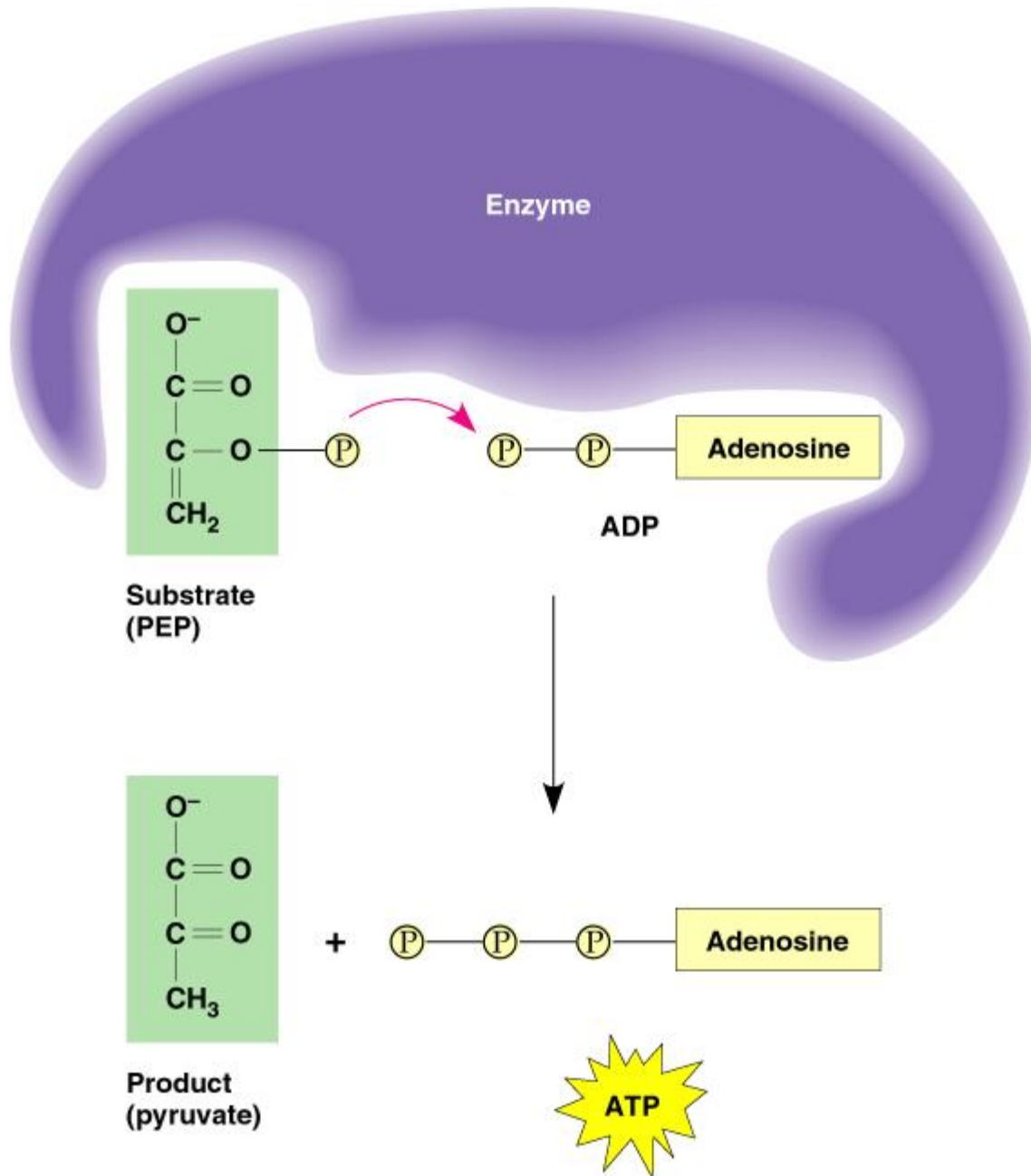
Logo, 4 H<sup>+</sup>/ATP

Logo: NADH desloca 10 H<sup>+</sup> e produz 2,5 ATP

FADH<sub>2</sub> desloca 6 H<sup>+</sup> e produz 1,5 ATP

# Respiração celular

- Glicólise
  - Glicose  $\rightarrow$  2 piruvato
  - Reações redox liberam NADH
  - Citossol
- Ciclo de Krebs
  - Piruvato  $\rightarrow$  CO<sub>2</sub>
  - Reações redox liberam NADH
  - Matriz mitocondrial
- Transporte de elétrons
  - Aceita elétrons (do NADH)
  - Gera ATP
  - Membrana interna



**Fosforilação ao nível do substrato**

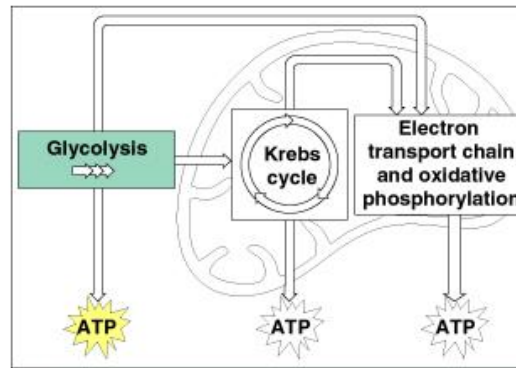
**+**

**Fosforilação oxidativa**

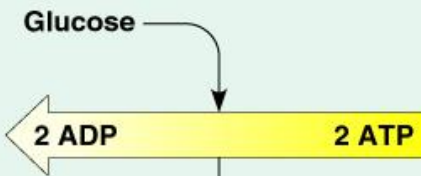


**38 ATP**

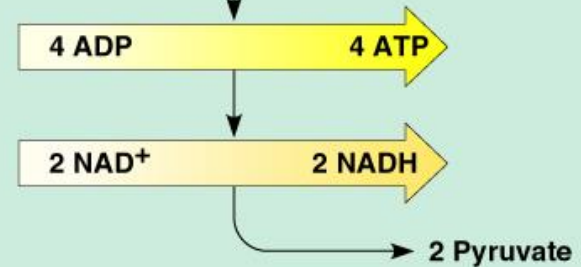
# Glicólise



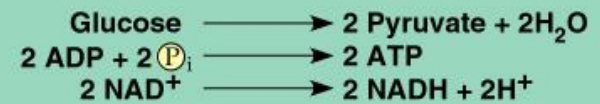
## ENERGY-INVESTMENT PHASE



## ENERGY-PAYOFF PHASE

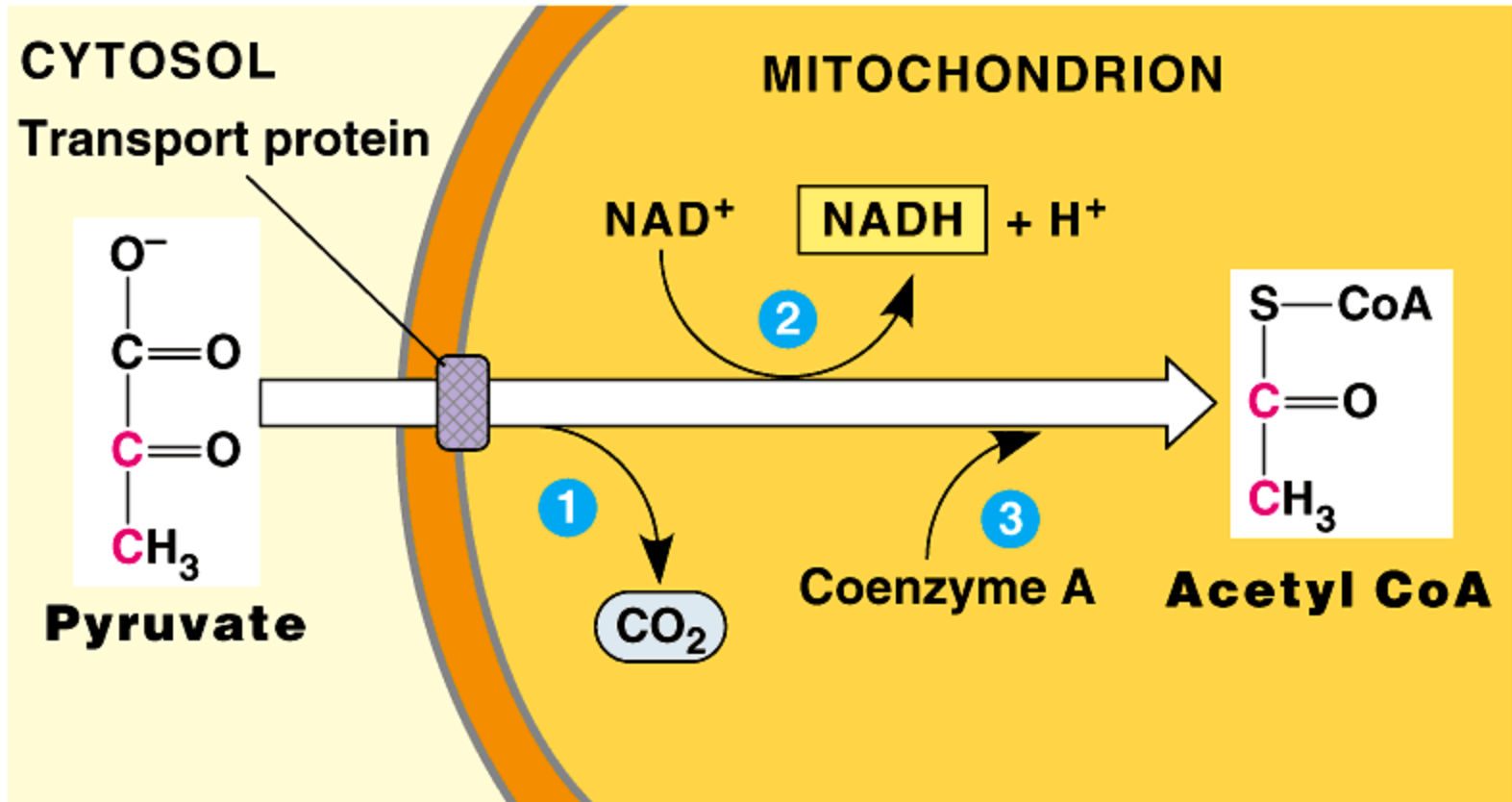


## NET



# Piruvato → acetil CoA

1. CO<sub>2</sub> liberado
2. Acetato formado (NAD<sup>+</sup> → NADH)
3. Coenzima A ligado

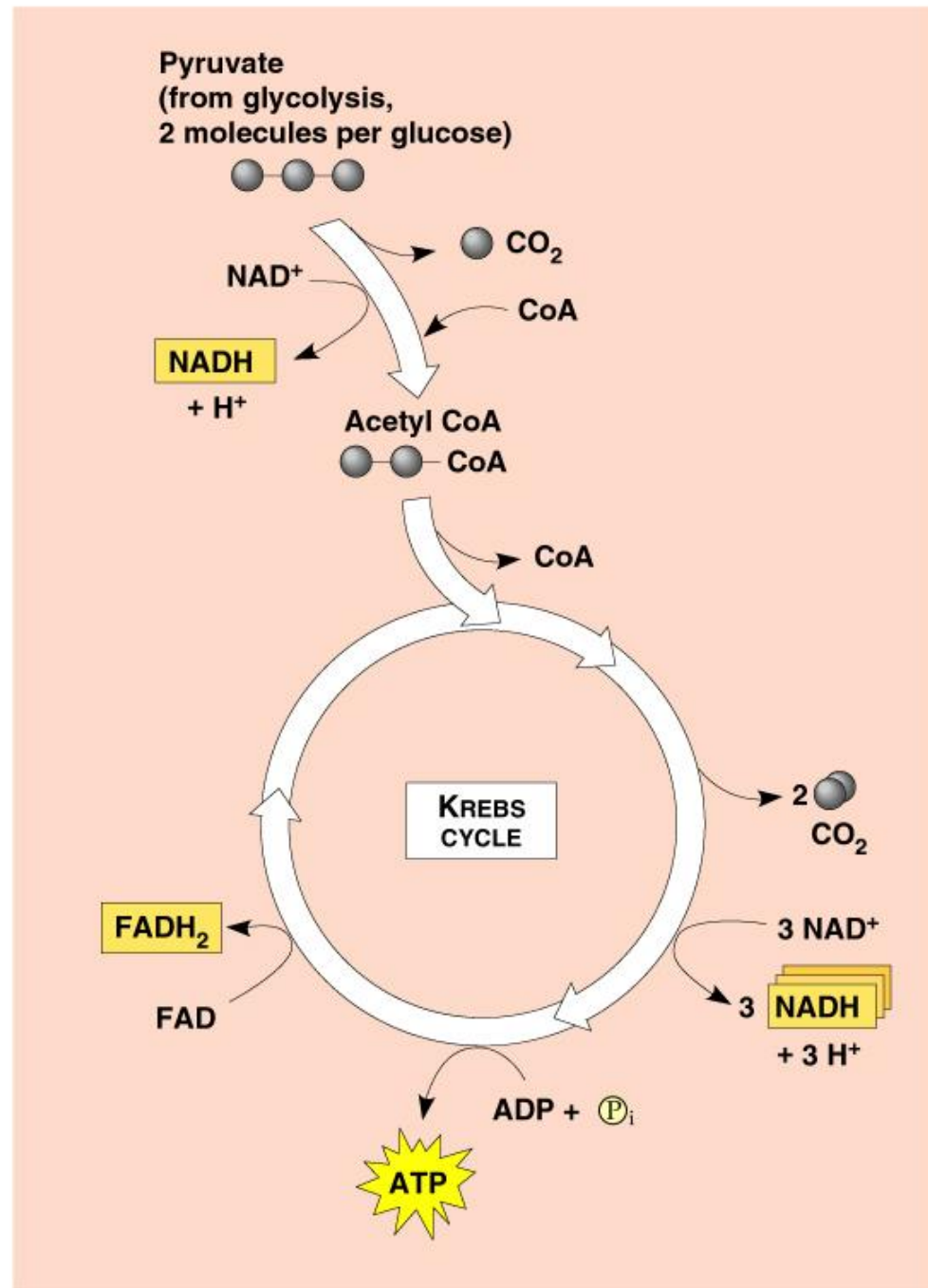


# Ciclo de Krebs

Acetil-CoA (2 Carbonos)



Atualmente 2 Acetil-CoA da glicólise !!



**table 19–5****ATP Yield from Complete Oxidation of Glucose**

<b>Process</b>	<b>Direct product</b>	<b>Final ATP</b>
Glycolysis	2 NADH (cytosolic) 2 ATP	3 or 5* 2
Pyruvate oxidation (two per glucose)	2 NADH (mitochondrial matrix)	5
Acetyl-CoA oxidation in citric acid cycle (two per glucose)	6 NADH (mitochondrial matrix)  2 FADH <sub>2</sub> 2 ATP or 2 GTP	15  3 2
Total yield per glucose		30 or 32

\*The number depends on which shuttle system transfers reducing equivalents into mitochondria.



Glicolise (2 ATP +2 NADH)

+

Acetyl CoA synthesis (2 NADH)

+

Ciclo de Krebs (1 ATP + 3 NADH + 1 FADH)

+

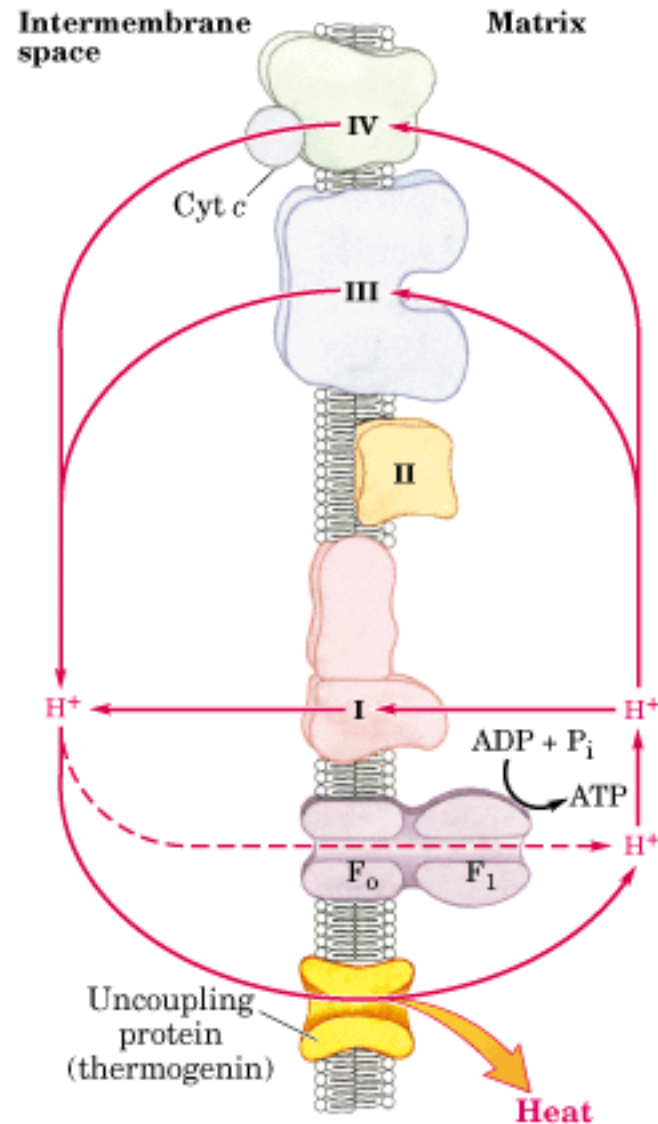
Ciclo de Krebs (1 ATP + 3 NADH + 1 FADH)

---

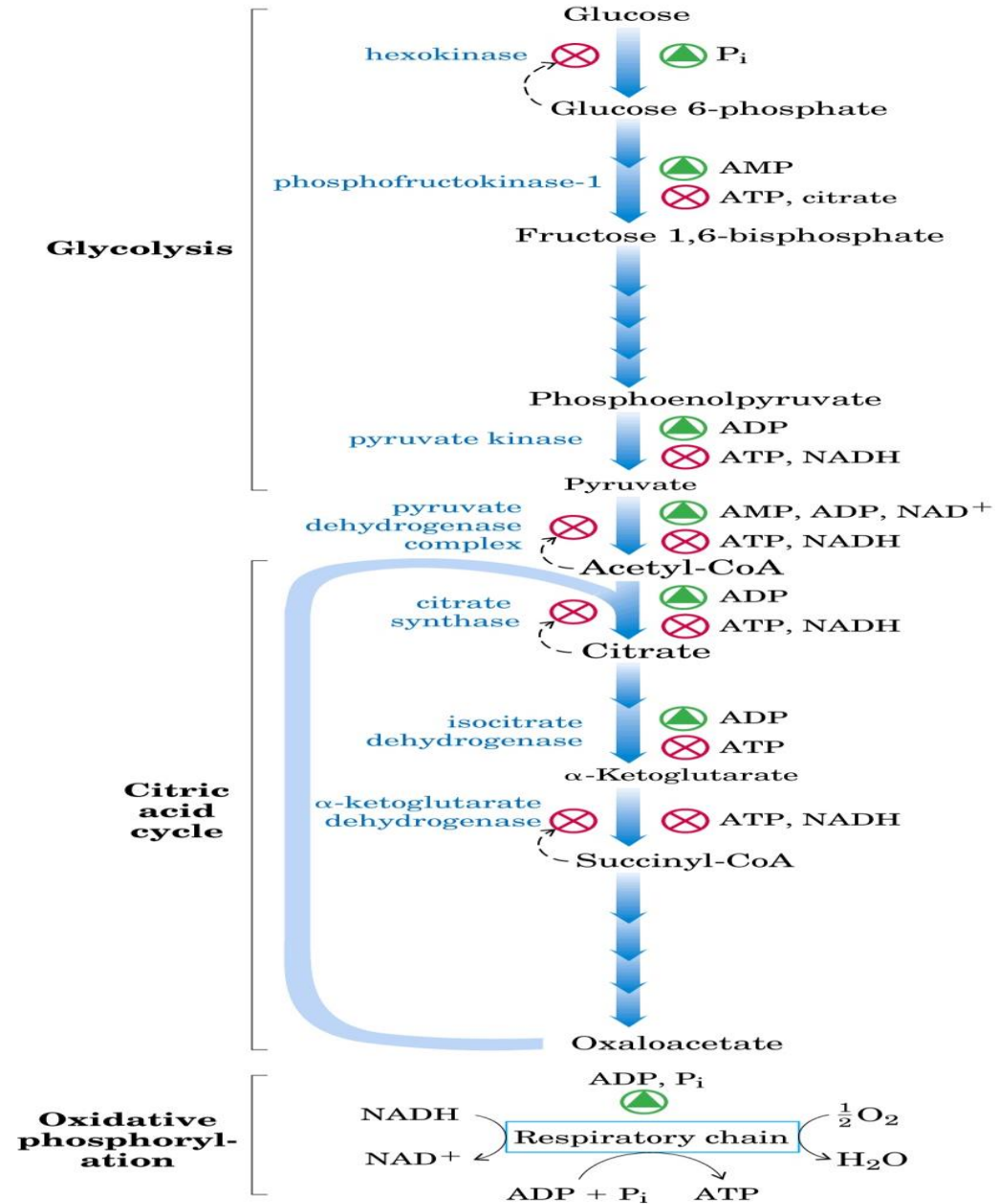
4 ATP + 10 NADH + 2 FADH

<https://www2.ib.unicamp.br/lte/bdc/visualizarMaterial.php?idMaterial=524#.W8eJGtdKgdU>

**Desacoplamento de mitocôndria em tecido adiposo marrom de mamíferos recém-nascidos produz calor**



# Regulação das vias de produção de ATP



Fim!?

Obrigado



Antoine Lavoisier, 1743-1794

O químico francês Antoine Lavoisier reconheceu que de alguma forma os animais transformam os combustíveis químicos (alimentos) em calor e que esse processo de respiração é essencial para a vida. Ele observou que

...em geral, a respiração é nada mais que a combustão lenta de carbono e hidrogênio, semelhante à que ocorre em uma lâmpada ou vela acesa e, desse

ponto de vista, animais que respiram são corpos combustíveis que queimam e consomem a si próprios... Alguém poderia dizer que essa analogia entre combustão e respiração não passou despercebida pelos poetas, ou ainda pelos filósofos da antiguidade, já tendo sido relatada e interpretada por eles. Esse fogo roubado dos céus, essa tocha de Prometeu, não representa apenas uma ideia engenhosa e poética, ela é um retrato fiel das operações da natureza, pelo menos para os animais que respiram; portanto, alguns podem dizer, com os antigos, que a tocha da vida ilumina a si mesma no momento em que a criança respira pela primeira vez, e ela só se extingue na morte.<sup>1</sup>