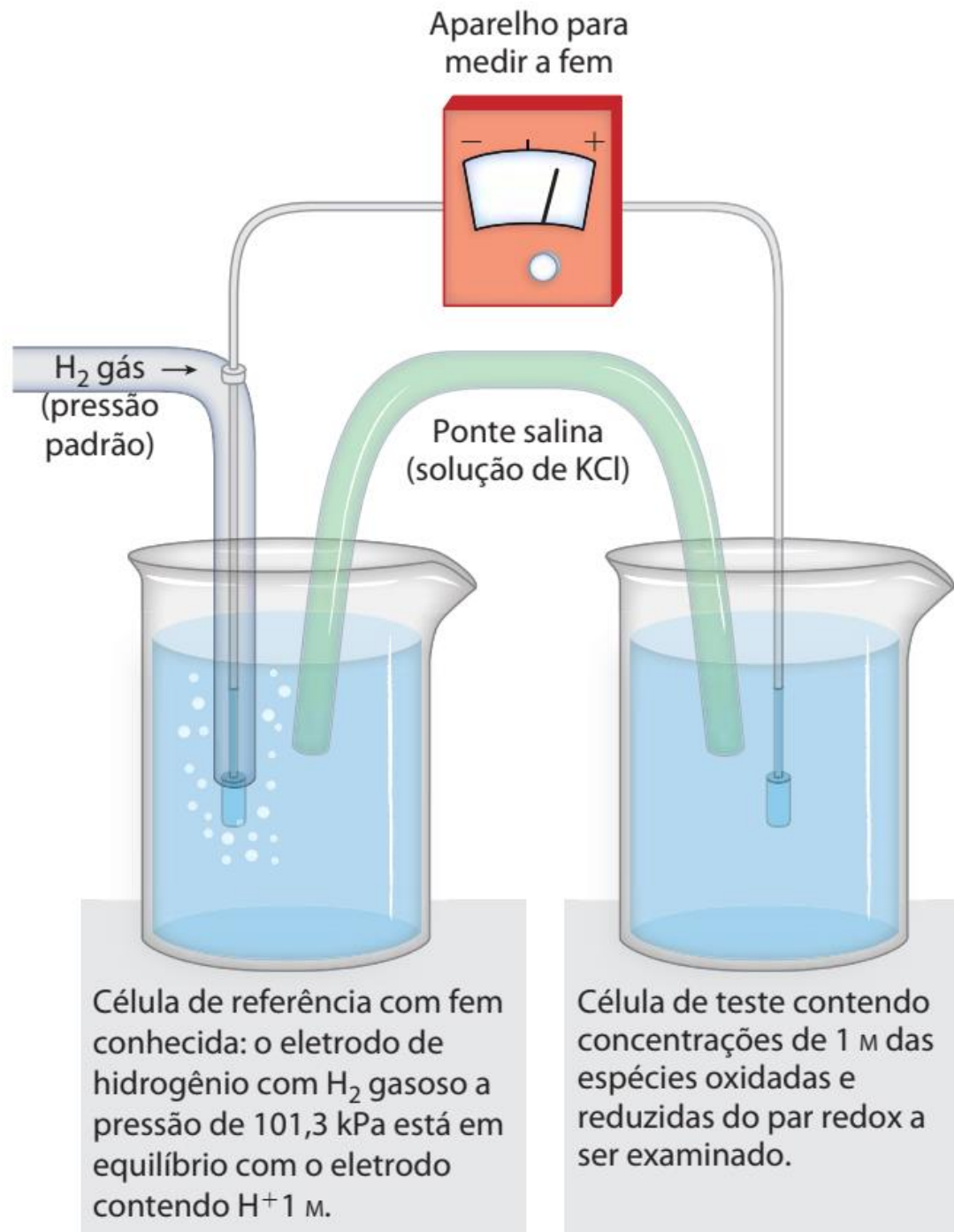




QBQ0204 – Fosforilação oxidativa

Felipe Jun Fuzita





O fluxo de elétrons é capaz de gerar trabalho

-Os elétrons fluem espontaneamente entre duas espécies químicas com diferentes afinidades.

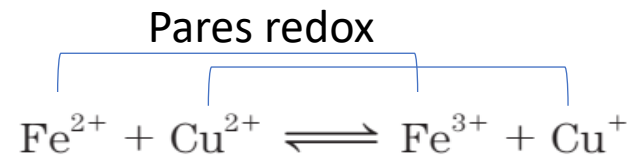
-É gerada uma força eletromotriz (fem).

-Em organismos vivos heterotróficos o alimento reduzido é oxidado.

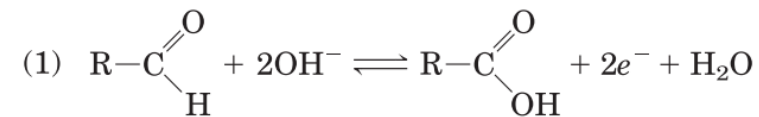
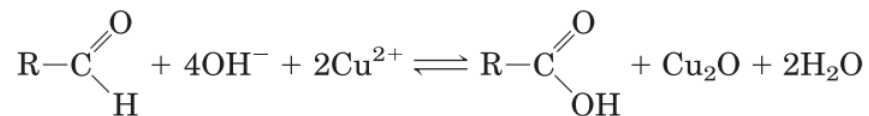
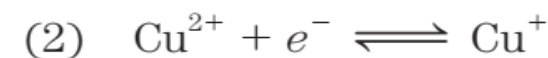
-O aceptor final de elétrons é o oxigênio (aeróbicos) e a reação exergônica.

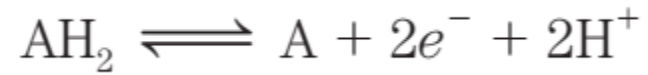
Metano	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} \end{array}$	8	Acetaldeído (aldeído)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{O} \end{array}$	3
Etano (alcano)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	7	Acetona (cetona)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{O} \quad \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	2
Eteno (alceno)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \quad \text{H} \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{H} \\ \vdots \quad \quad \vdots \\ \text{H} \quad \quad \text{H} \end{array}$	6	Ácido fórmico (ácido carboxílico)	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{O} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	2
Etanol (álcool)	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{O} : \text{H} \\ \vdots \quad \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	5	Monóxido de carbono	$\text{:C} : \text{:O} :$	2
Acetileno (alcino)	$\text{H} : \text{C} : \text{:C} : \text{H}$	5	Ácido acético (ácido carboxílico)	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{C} : \text{O} \\ \vdots \quad \vdots \quad \vdots \\ \text{H} \quad \text{O} \end{array}$	1
Formaldeído	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \vdots \\ \text{H} : \text{C} : \text{O} \\ \vdots \\ \text{H} \end{array}$	4	Dióxido de carbono	$\text{:O} : \text{:C} : \text{:O} :$	0

Estados de oxidação do carbono. Significa o quanto os elétrons compartilhados de uma ligação “pertencem” ao carbono ou ao outro átomo da ligação, sendo a eletronegatividade relativa que dita isso.

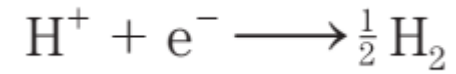


pode ser descrita nos termos de duas semirreações:

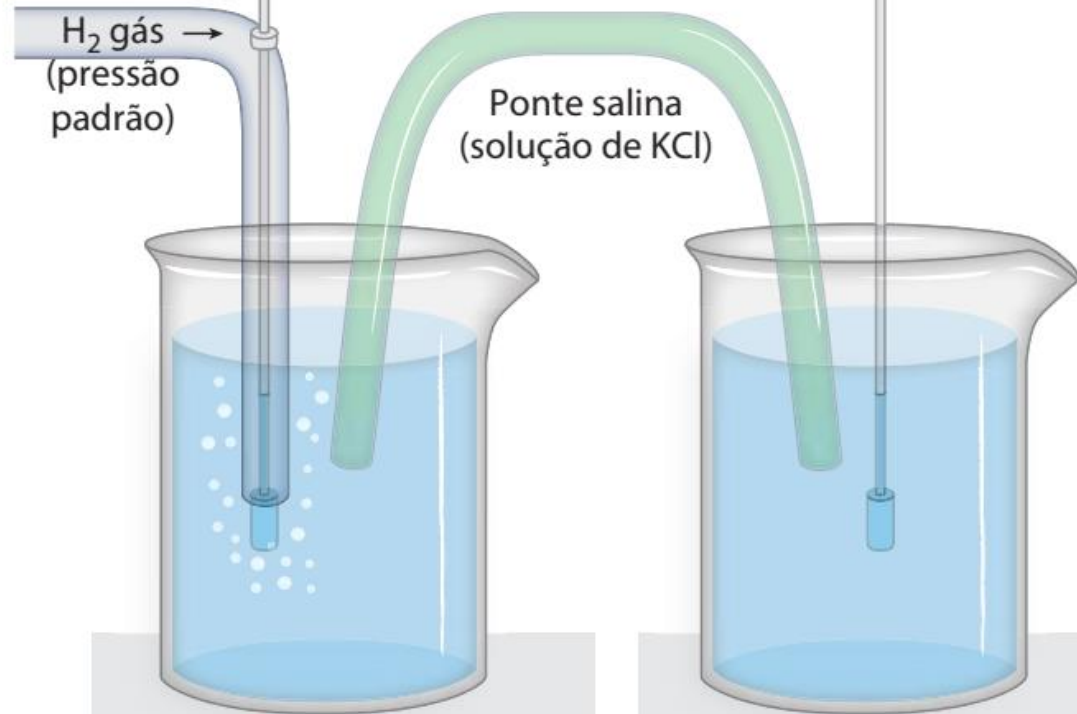
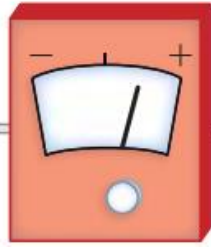




Em sistemas biológicos a unidade de oxidação mais comum é a transferência de 2 elétrons (e^{-}).



Aparelho para medir a fem



Célula de referência com fem conhecida: o eletrodo de hidrogênio com H_2 gasoso a pressão de 101,3 kPa está em equilíbrio com o eletrodo contendo $\text{H}^+ 1 \text{ M}$. pH zero

Célula de teste contendo concentrações de 1 M das espécies oxidadas e reduzidas do par redox a ser examinado. pH 7 $\rightarrow E^{o'}$

Potencial de redução padrão E° (Volts)

Os elétrons migram para o eletrodo com maior potencial de redução.

Valor **positivo** para quem **doa**, **negativo** para quem **recebe**.

$$E = E^\circ + \frac{RT}{n\mathcal{F}} \ln \frac{[\text{elétronceptor}]}{[\text{elétron doador}]}$$

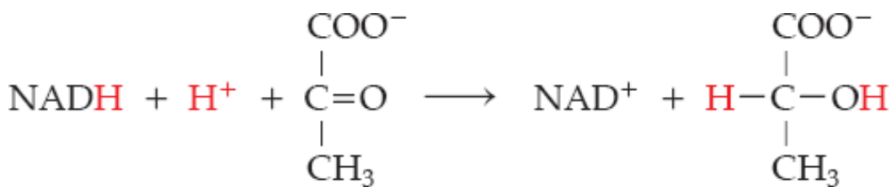
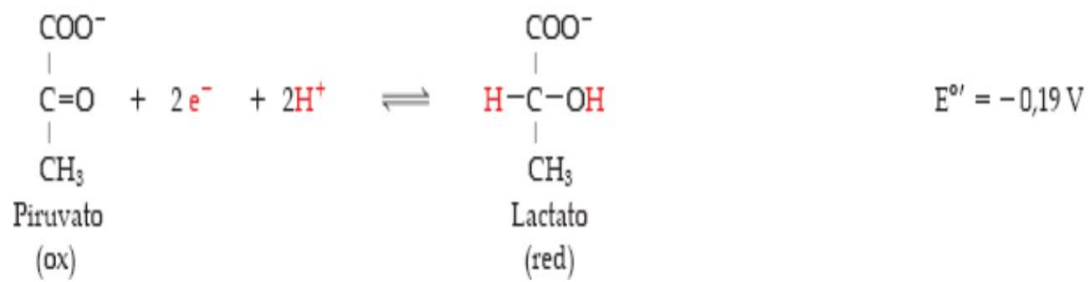
$$\Delta G'^{\circ} = -n\mathcal{F}\Delta E'^{\circ}$$

$$\Delta E^{o'} = E^{o'} \text{ do oxidante} - E^{o'} \text{ do redutor}$$

TABELA 13-7 Potenciais de redução padrão de algumas semirreações de importância biológica

Semirreação	$E'°(\text{V})$
$\frac{1}{2}\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}$	0,816
$\text{Fe}^{3+} + e^- \longrightarrow \text{Fe}^{2+}$	0,771
$\text{NO}_3^- + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	0,421
Citocromo <i>f</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>f</i> (Fe^{2+})	0,365
$\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ (ferricianeto) + $e^- \longrightarrow \text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$	0,36
Citocromo <i>a</i> ₃ (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>a</i> ₃ (Fe^{2+})	0,35
$\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2\text{O}_2$	0,295
Citocromo <i>a</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>a</i> (Fe^{2+})	0,29
Citocromo <i>c</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>c</i> (Fe^{2+})	0,254
Citocromo <i>c</i> ₁ (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>c</i> ₁ (Fe^{2+})	0,22
Citocromo <i>b</i> (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ citocromo <i>b</i> (Fe^{2+})	0,077
Ubiquinona + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ubiquinol + H_2	0,045
$\text{Fumarato}^{2-} + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{succinato}^{2-}$	0,031
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow \text{H}_2$ (em condições padrão, pH 0)	0,000

Crotonil-CoA + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ butiril-CoA	-0,015
Oxaloacetato ²⁻ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ malato ²⁻	-0,166
Piruvato ⁻ + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ lactato ⁻	-0,185
Acetaldeído + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ etanol	-0,197
FAD + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ FADH ₂	-0,219*
Glutationa + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ 2 glutationas reduzidas	-0,23
S + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ H ₂ S	-0,243
Ácido lipoico + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ ácido di-hidrolipoico	-0,29
$\text{NAD}^+ + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ NADH	-0,320
$\text{NADP}^+ + \text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ NADPH	-0,324
Acetoacetato + $2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ β -hidroxibutirato	-0,346
α -cetogluturato + $\text{CO}^2 + 2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ isocitrato	-0,38
$2\text{H}^+ + 2e^- \longrightarrow$ H ₂ (em pH 7)	-0,414
Ferredoxina (Fe^{3+}) + $e^- \longrightarrow$ ferredoxina (Fe^{2+})	-0,432



$\Delta E^{\circ'} = E^{\circ'} \text{ do oxidante} - E^{\circ'} \text{ do redutor}$

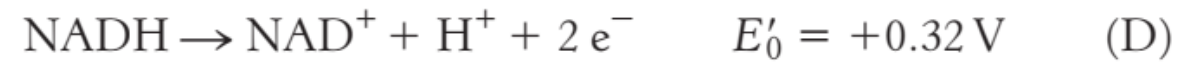
$$\Delta E^{\circ'} = -0,19 - (-0,32)$$

$$\Delta E^{\circ'} = +0,13 \text{ V}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -n \mathcal{F} \Delta E^{\circ'}$$

$$\Delta G^{\circ'} = -2 \times 96,5 \times 0,13$$

$$\Delta G^{\circ'} = -25,09 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

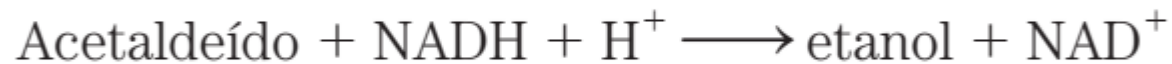


$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ'} &= -2 \times 96.48 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times -0.19 \text{ V} \\ &= +36.7 \text{ kJ mol}^{-1} (+8.8 \text{ kcal mol}^{-1}) \end{aligned}$$

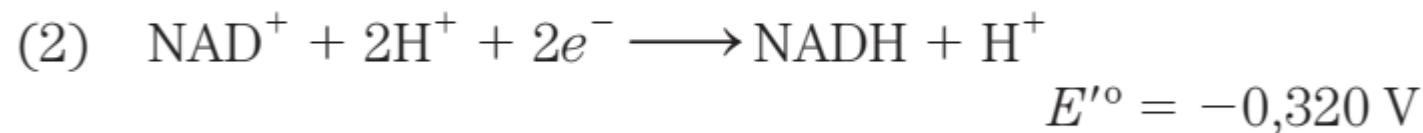
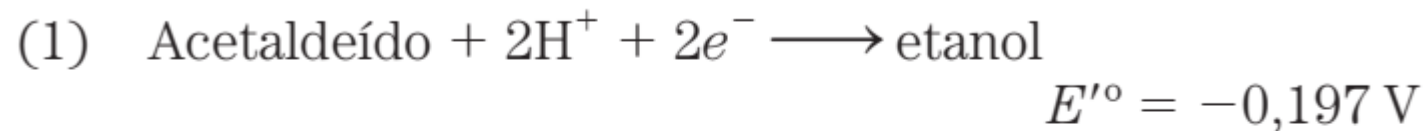
$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ'} &= -2 \times 96.48 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times +0.32 \text{ V} \\ &= -61.8 \text{ kJ mol}^{-1} (-14.8 \text{ kcal mol}^{-1}) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ'} &= \Delta G^{\circ'} \text{ (for reaction B)} + \Delta G^{\circ'} \text{ (for reaction D)} \\ &= +36.7 \text{ kJ mol}^{-1} + (-61.8 \text{ kJ mol}^{-1}) \\ &= -25.1 \text{ kJ mol}^{-1} (-6.0 \text{ kcal mol}^{-1}) \end{aligned}$$

Calcule a variação de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}$, para a reação em que o acetaldeído é reduzido pelo transportador de elétron biológico NADH:



Em seguida, calcule a variação de energia livre *real*, ΔG , quando a [acetaldeído] e a [NADH] forem de 1 M, e a [etanol] e a [NAD⁺] forem de 0,1 M. As semirreações relevantes e seus valores de E'° são:



Lembre-se que, por convenção, $\Delta E'^{\circ}$ é o valor de E'° do acceptor de elétrons menos o E'° do doador de elétrons.

Solução: Como o acetaldeído é o acceptor dos elétrons ($n = 2$) vindos do NADH, $\Delta E'^{\circ} = -0,197 \text{ V} - (-0,320 \text{ V}) = 0,123 \text{ V}$. Portanto,

$$\begin{aligned}\Delta G'^{\circ} &= -n \mathcal{F} \Delta E'^{\circ} = -2(96,5 \text{ kJ/V} \cdot \text{mol})(0,123 \text{ V}) \\ &= -23,7 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

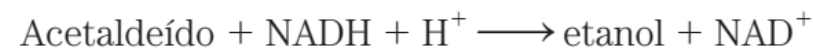
Esta é a variação de energia livre para a reação de oxidação-redução a 25°C e pH 7, quando acetaldeído, etanol, NAD^+ e NADH estão presentes em concentrações de 1,0 M.

Para calcular o ΔG quando a [acetaldeído] e a [NADH] forem de 1 M e a [etanol] e a [NAD^+] forem de 0,1 M, utilizam-se a Equação 13-4 e a variação de energia livre padrão calculada acima:

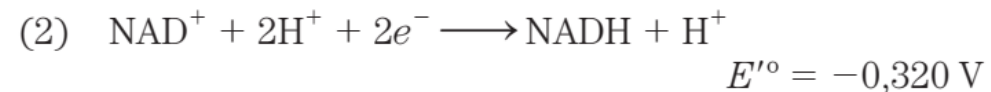
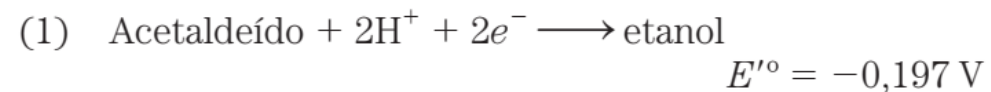
$$\begin{aligned}\Delta G &= \Delta G'^{\circ} + RT \ln \frac{[\text{etanol}] [\text{NAD}^+]}{[\text{acetaldeído}] [\text{NADH}]} \\ &= -23,7 \text{ kJ/mol} + \\ &\quad (8,315 \text{ J/mol} \cdot \text{K})(298 \text{ K}) \ln \frac{(0,100 \text{ M})(0,100 \text{ M})}{(1,00 \text{ M})(1,00 \text{ M})} \\ &= -23,7 \text{ kJ/mol} + (2,48 \text{ J/mol}) \ln 0,01 \\ &= -35,1 \text{ kJ/mol}\end{aligned}$$

Esta é a variação de energia livre real dos pares redox nas concentrações especificadas.

Calcule a variação de energia livre padrão, $\Delta G'^{\circ}$, para a reação em que o acetaldeído é reduzido pelo transportador de elétron biológico NADH:



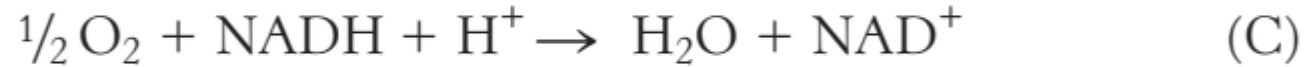
Em seguida, calcule a variação de energia livre *real*, ΔG , quando a [acetaldeído] e a [NADH] forem de 1 M, e a [etanol] e a [NAD^+] forem de 0,1 M. As semirreações relevantes e seus valores de E'° são:



Lembre-se que, por convenção, $\Delta E'^{\circ}$ é o valor de E'° do acceptor de elétrons menos o E'° do doador de elétrons.



The combination of the two half-reactions, as it proceeds in the electron-transport chain, yields

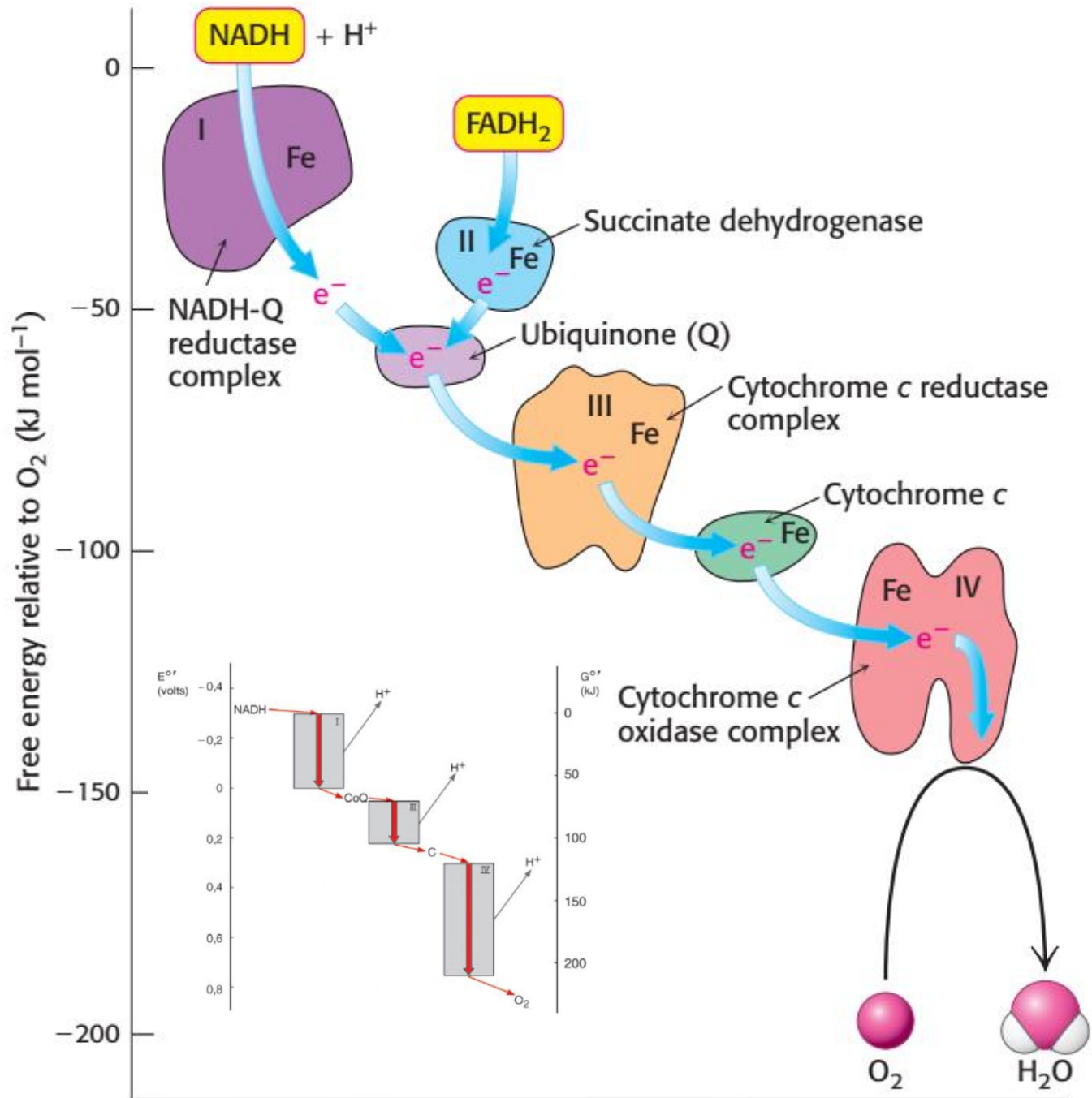


The standard free energy for this reaction is then given by

$$\begin{aligned} \Delta G^{\circ'} &= (-2 \times 96.48 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times +0.82 \text{ V}) - \\ &\quad (-2 \times 96.48 \text{ kJ mol}^{-1} \text{ V}^{-1} \times 0.32 \text{ V}) \\ &= -158.2 \text{ kJ mol}^{-1} - 61.9 \text{ kJ mol}^{-1} \\ &= -220.1 \text{ kJ mol}^{-1} \quad (-52.6 \text{ kcal mol}^{-1}) \end{aligned}$$

O valor para a **síntese** de ATP é 31 kJ/mol.

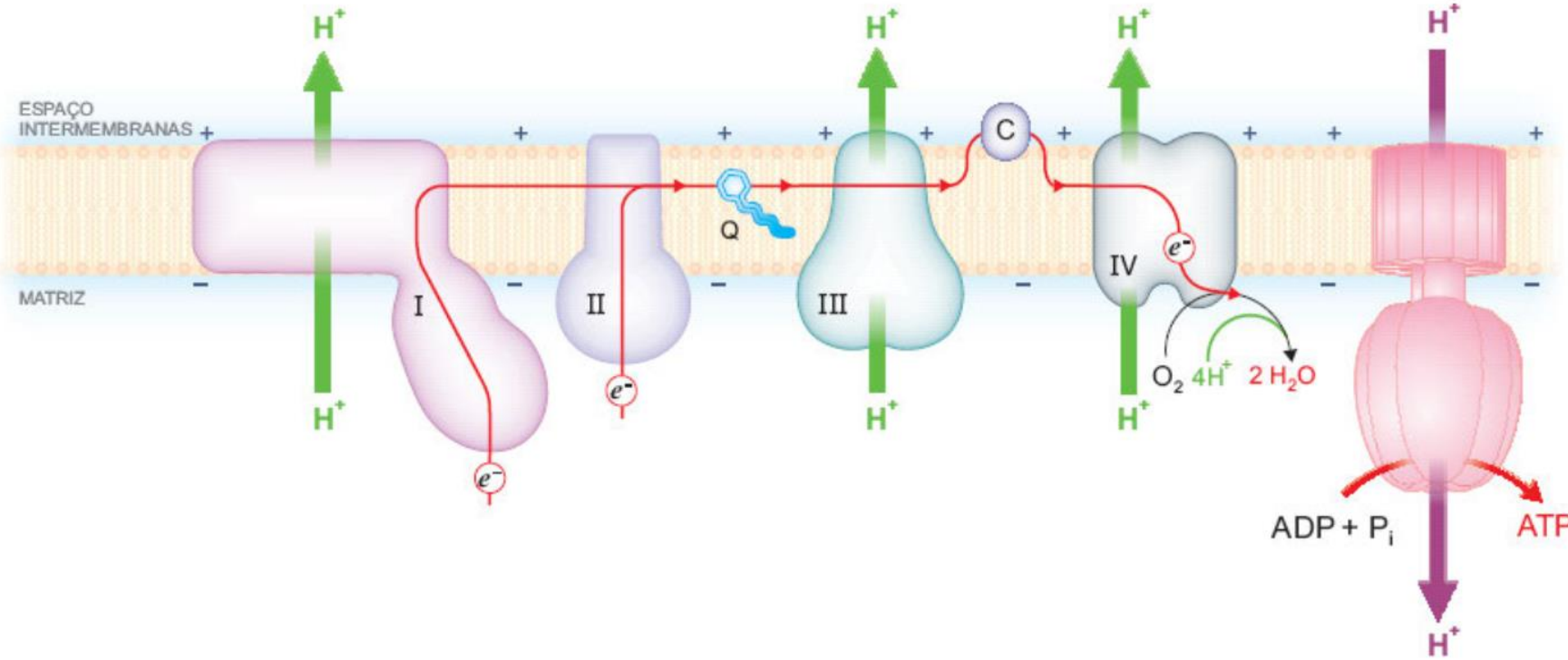
A **transferência** de elétrons das **coenzimas reduzidas** até o **oxigênio** ocorre em **etapas**.



Os complexos da cadeia de transporte de elétrons se encontram na membrana interna da mitocôndria.

A energia da transferência de elétrons é utilizada para o bombeamento de prótons da matriz mitocondrial para o espaço intermembranas.

	Par oxidado/reduzido	E°9 (volts)
	NAD ⁺ /NADH	- 0,32
Complexo I	FMN/FMNH ₂	- 0,30
	Centros Fe-S ox/red ¹	- 0,38 a - 0,27
	Fumarato/Succinato	+ 0,03
Complexo II	FAD/FADH ₂	- 0,04
	Centros Fe-S ox/red	- 0,03 a 10,06
	Citocromo <i>b</i> ox/red	- 0,08
	CoQ/CoQH ₂	+ 0,05
Complexo III	Heme <i>b</i> ₅₆₆ ox/red ²	- 0,03
	Heme <i>b</i> ₅₆₂ ox/red	+ 0,03
	Centros Fe-S ox/red	+ 0,28
	Citocromo <i>c</i> ₁ ox/red	+ 0,22
	Citocromoc ox/red	+ 0,24
Complexo IV	Citocromo <i>a</i> ox/red	+ 0,29
	Cu ²⁺ /Cu ¹⁺	+ 0,34
	Citocromo <i>a</i> ₃ ox/red	+ 0,55
	O ₂ /H ₂ O	+ 0,82



Q = ubiquinona (coenzima Q)

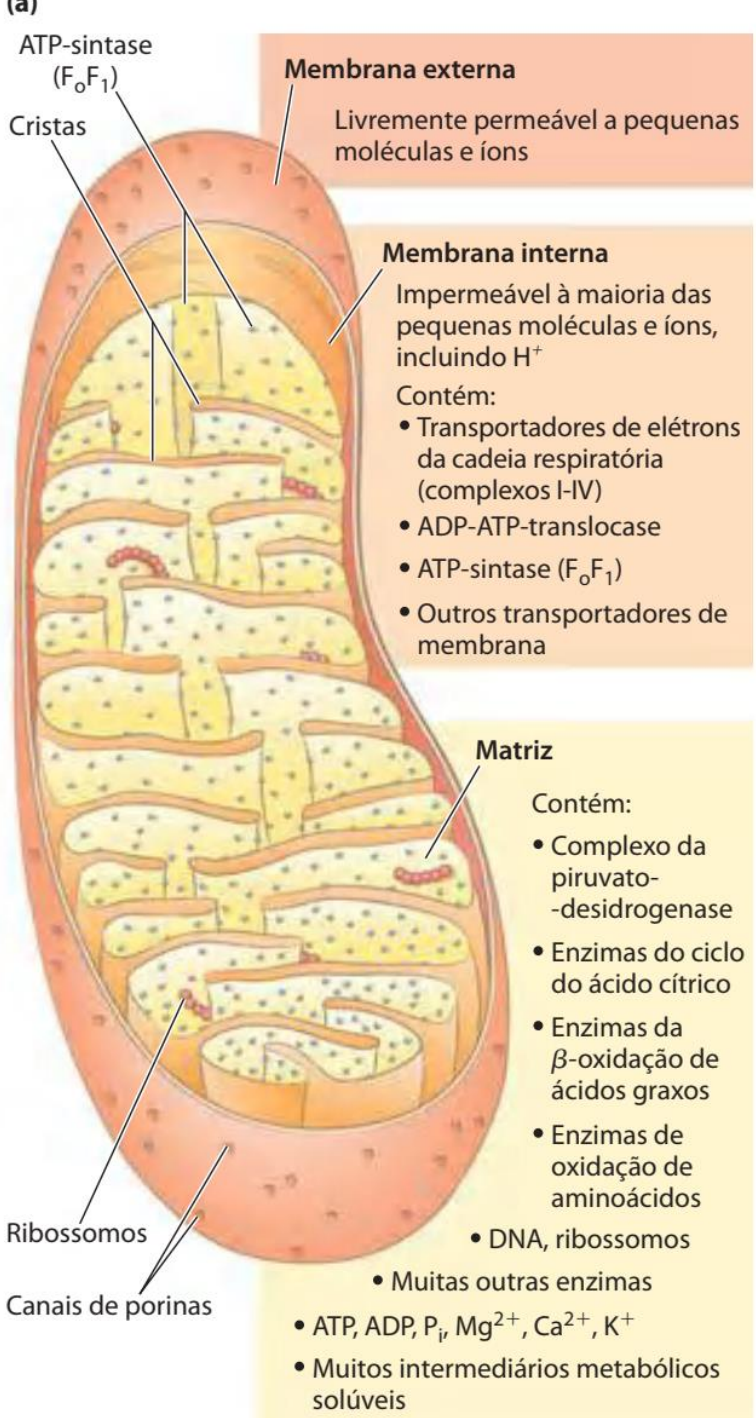
C = citocromo C

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

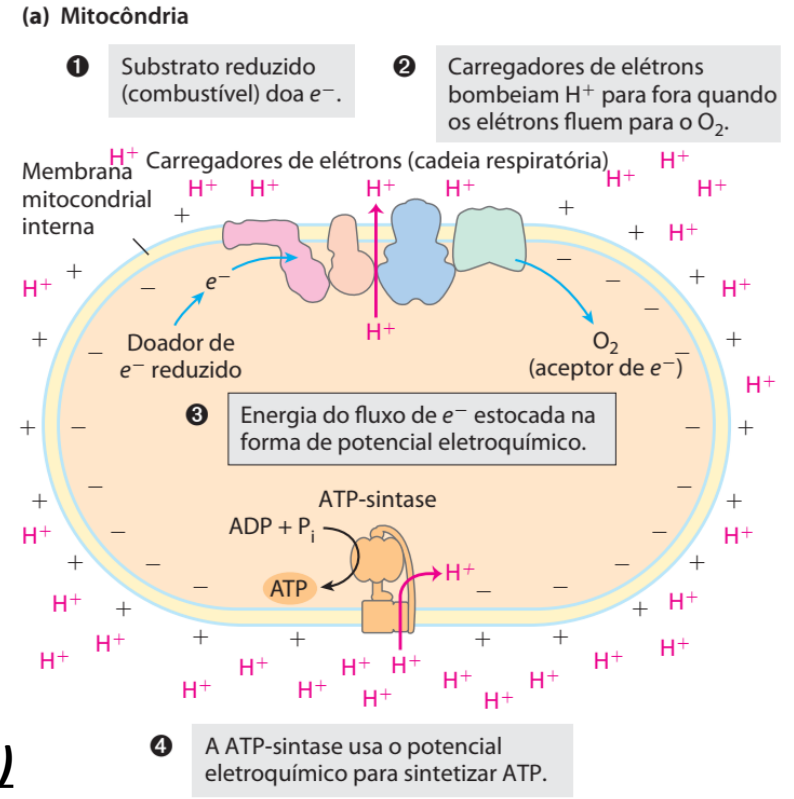
Proteína/complexo enzimático	Massa (kDa)	Número de subunidades*	Grupo(s) prostético(s)
I NADH-desidrogenase	850	43 (14)	FMN, Fe-S
II Succinato-desidrogenase	140	4	FAD, Fe-S
III Ubiquinona: citocromo <i>c</i> -oxidorreductase	250	11	Hemes, Fe-S
Citocromo <i>c</i> [†]	13	1	Heme
IV Citocromo-oxidase	160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

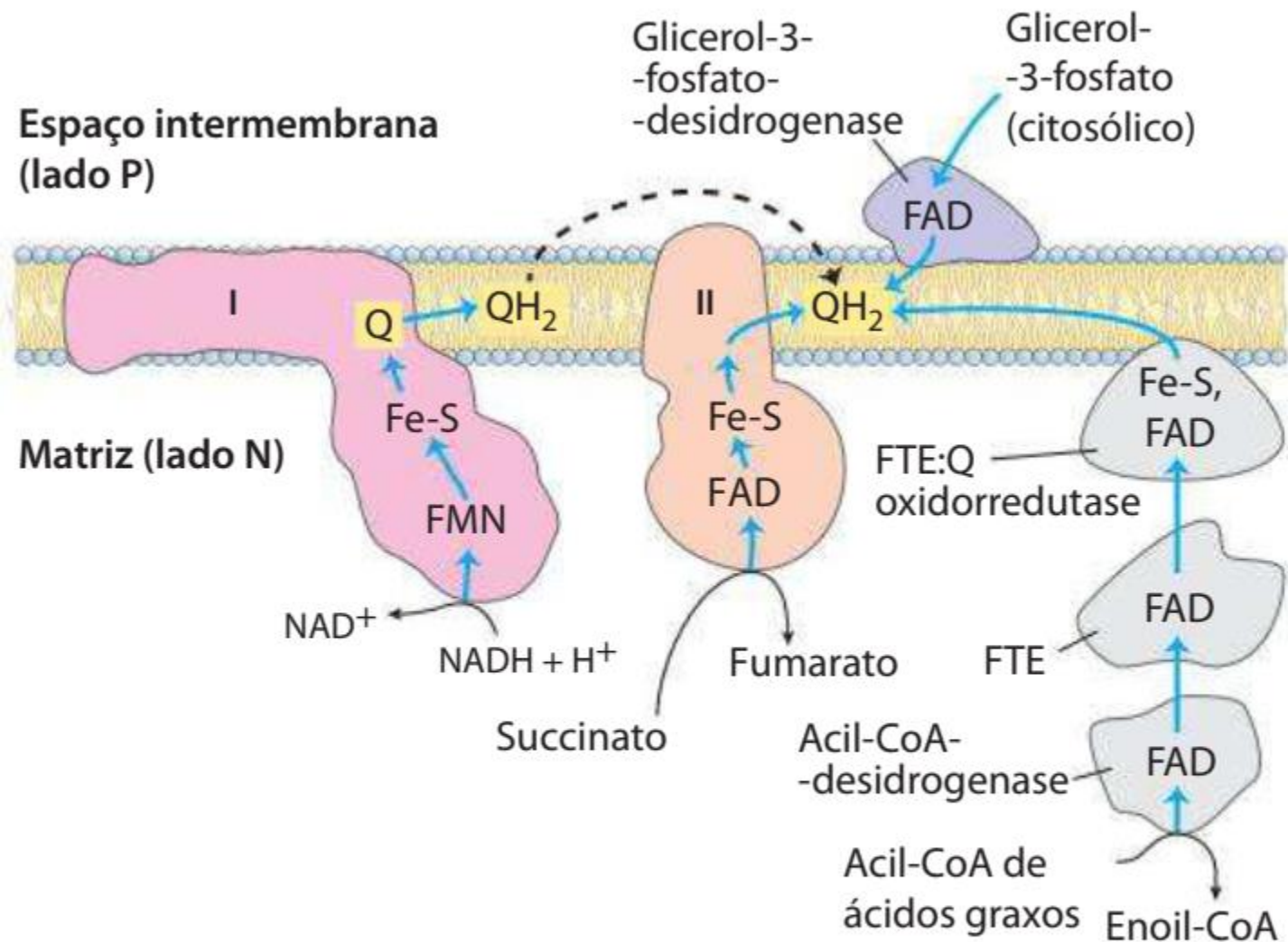
*Número de subunidades em equivalentes bacterianos entre parênteses.

[†]O citocromo *c* não é parte do complexo enzimático; ele se move entre os complexos III e IV como proteína livremente solúvel.



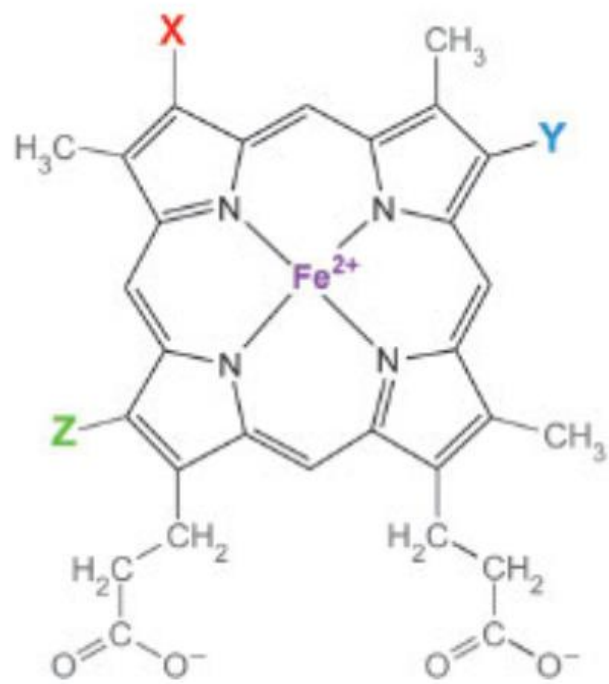
O gradiente de prótons é formado entre o espaço intermembranas (↑) e a matriz mitocondrial (↓).



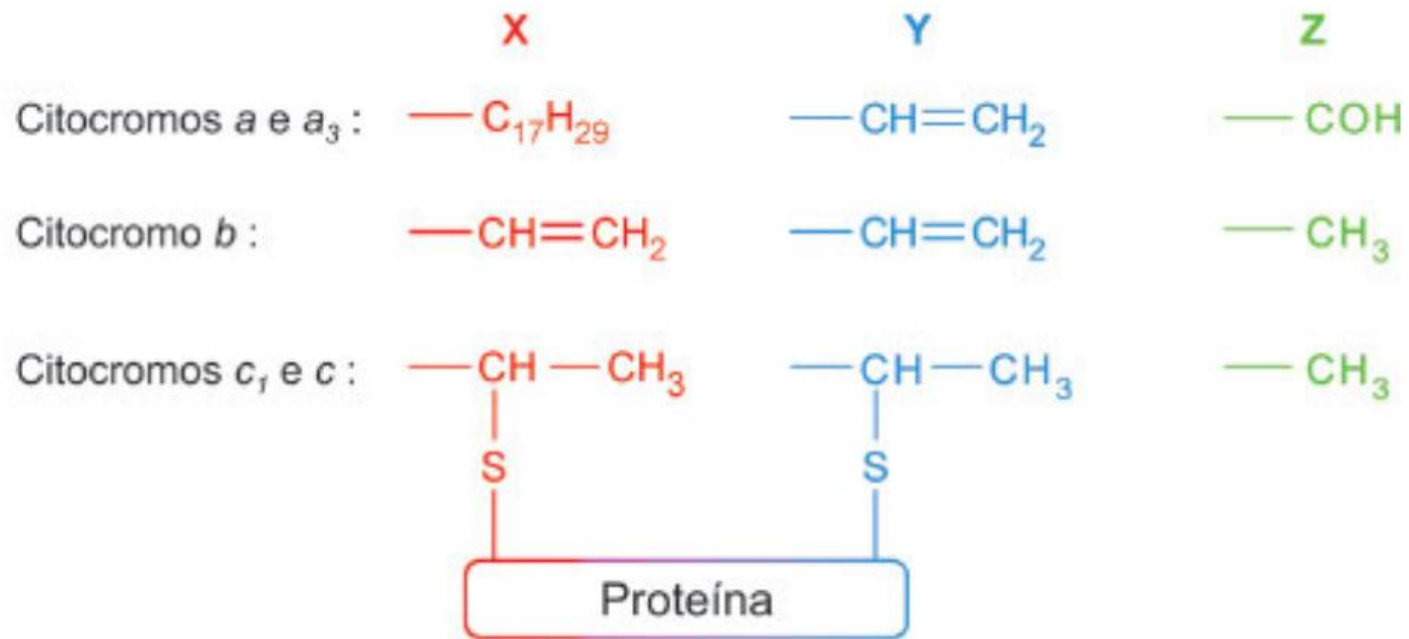


Quando a coenzima é o **FAD**, **não** há passagem pelo **complexo I**.

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 ponto de entrada para os elétrons derivados das reações do citosol, a partir de

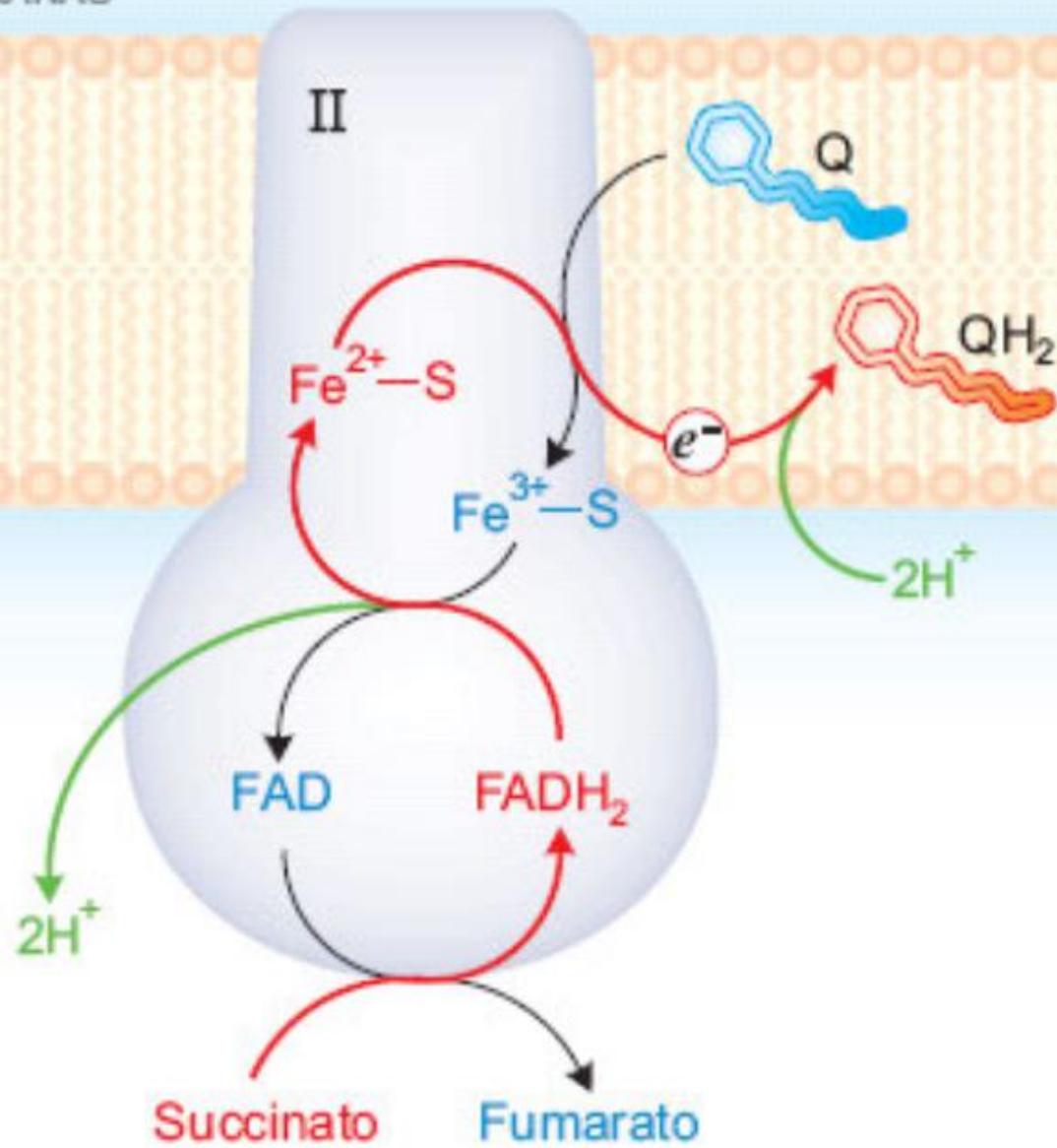


Grupo heme



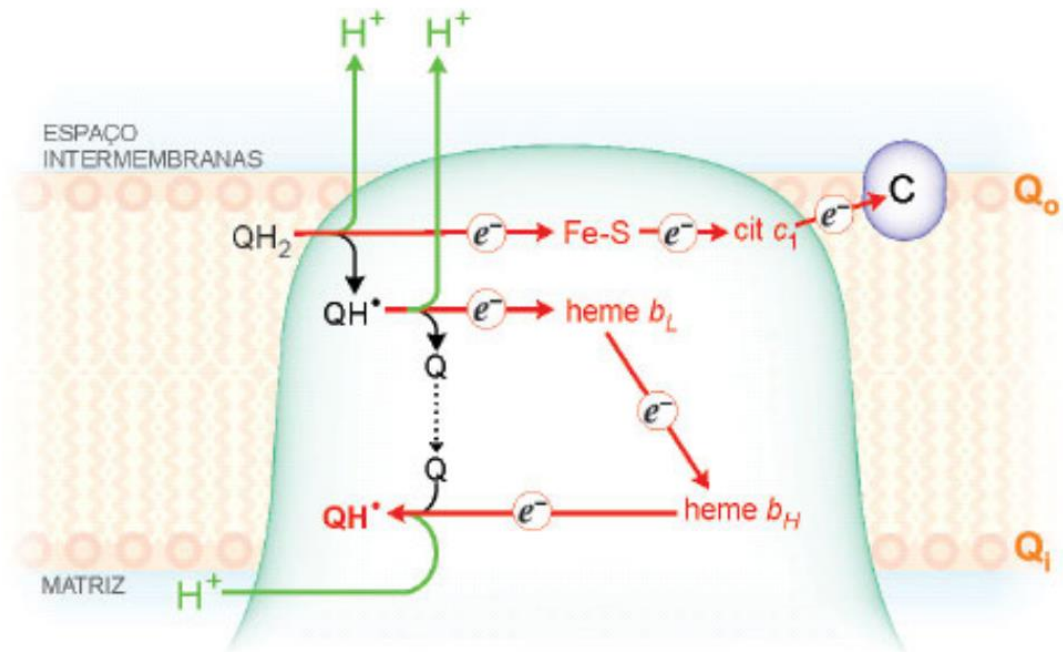
ESPAÇO INTERMEMBRANAS

MATRIZ



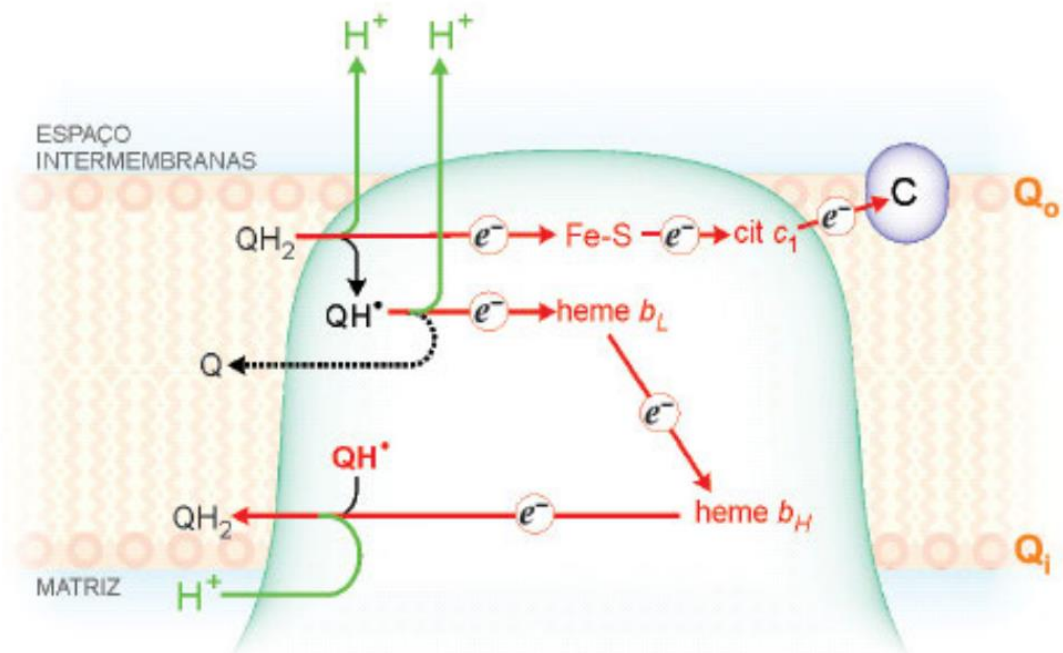
O complexo II é a succinato desidrogenase do Ciclo de Krebs.

(a)

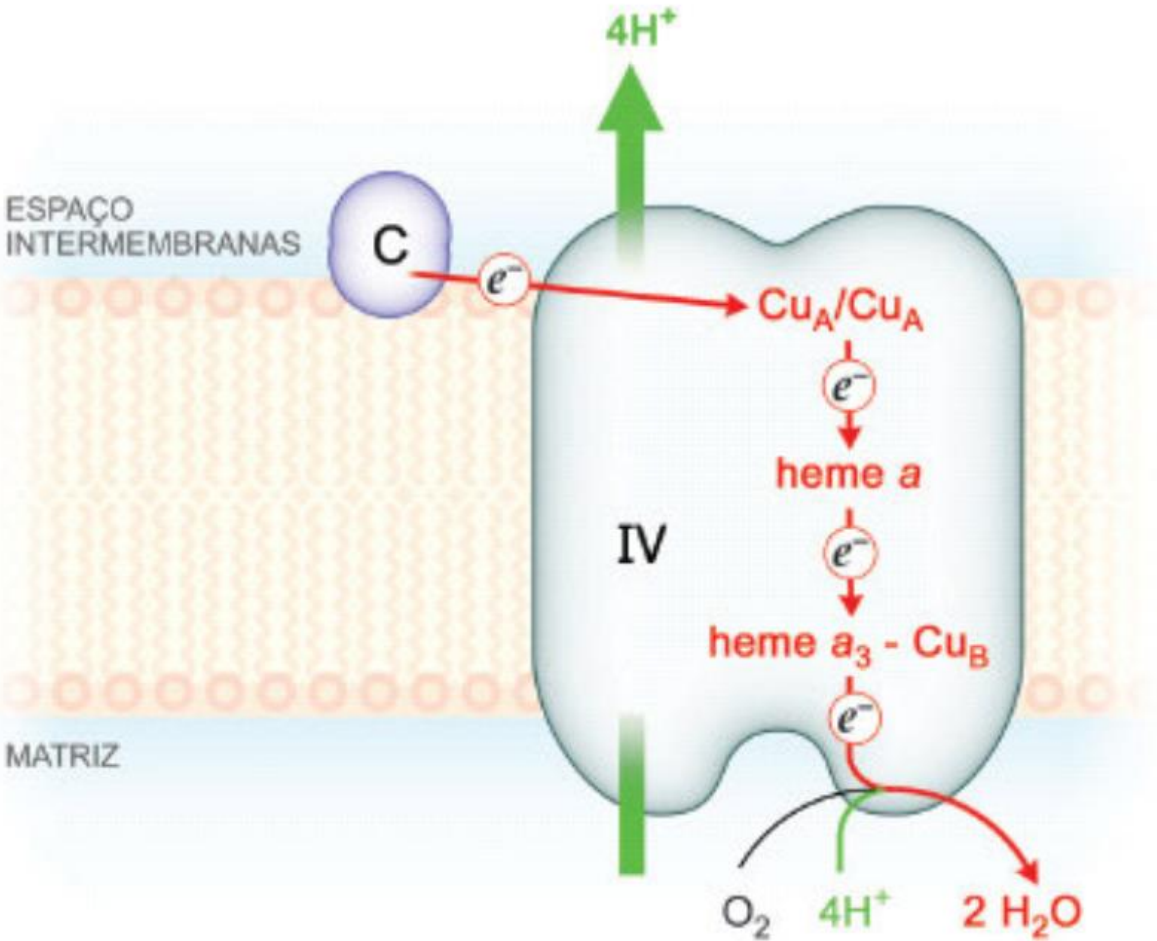


Complexo III

b)



Complexo IV



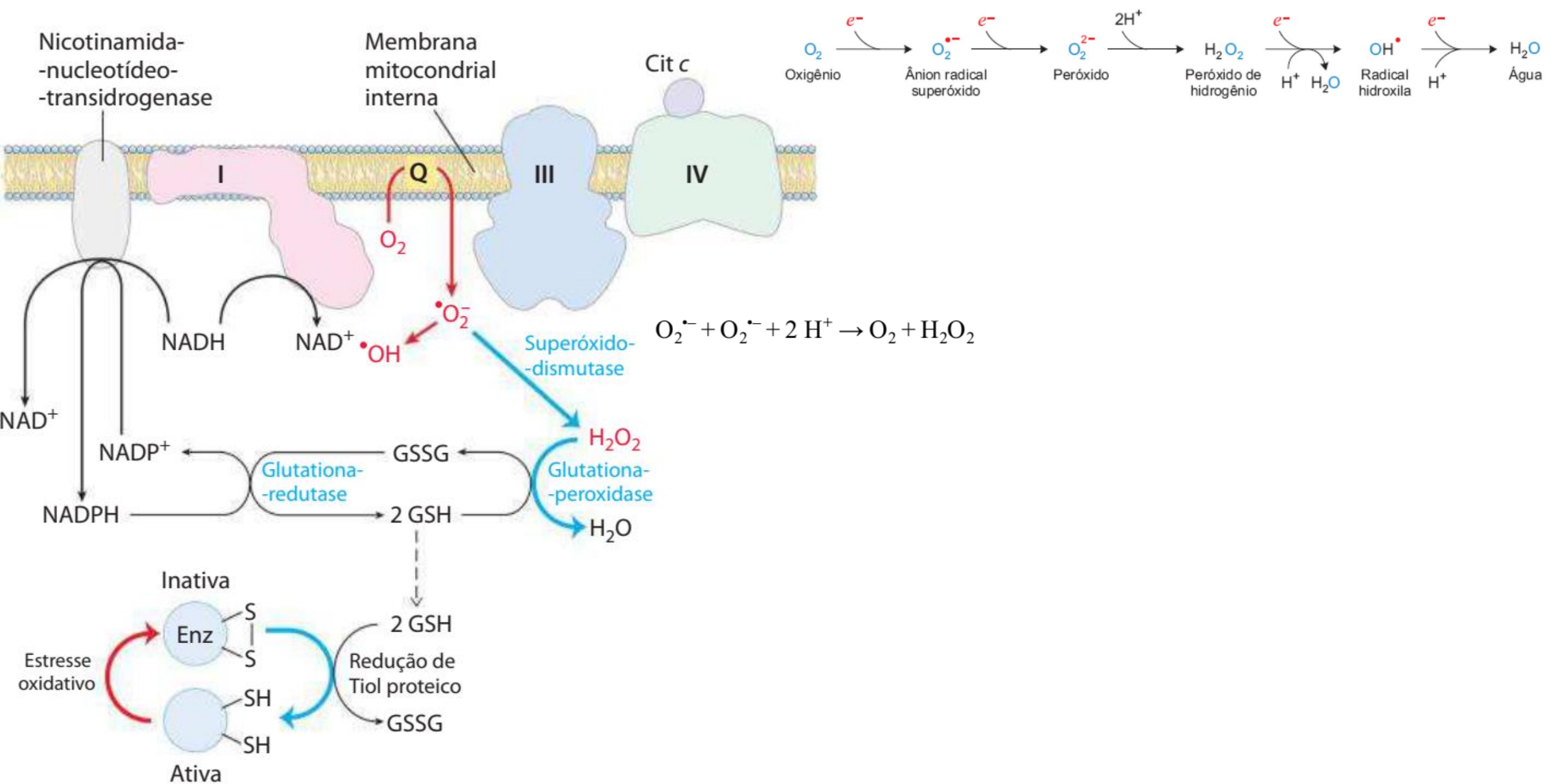
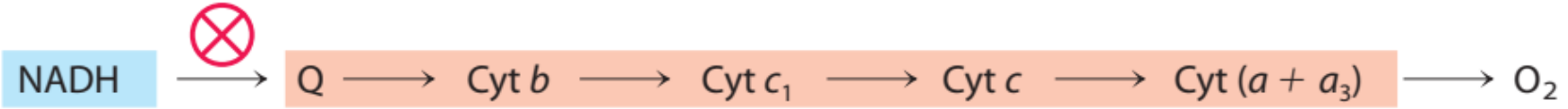
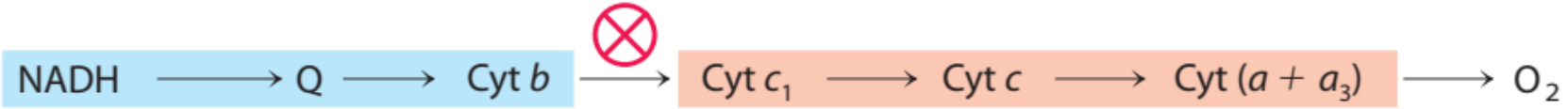


FIGURA 19-18 Formação de ERO nas mitocôndrias e defesas mitocondriais. Quando a taxa de entrada de elétrons na cadeia respiratória

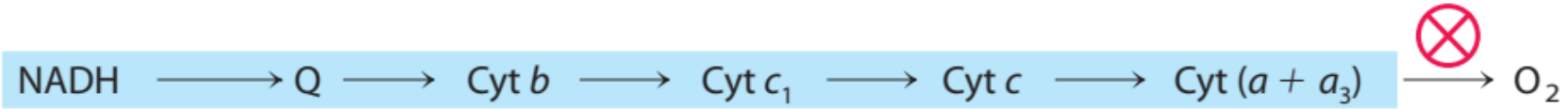
rotenona

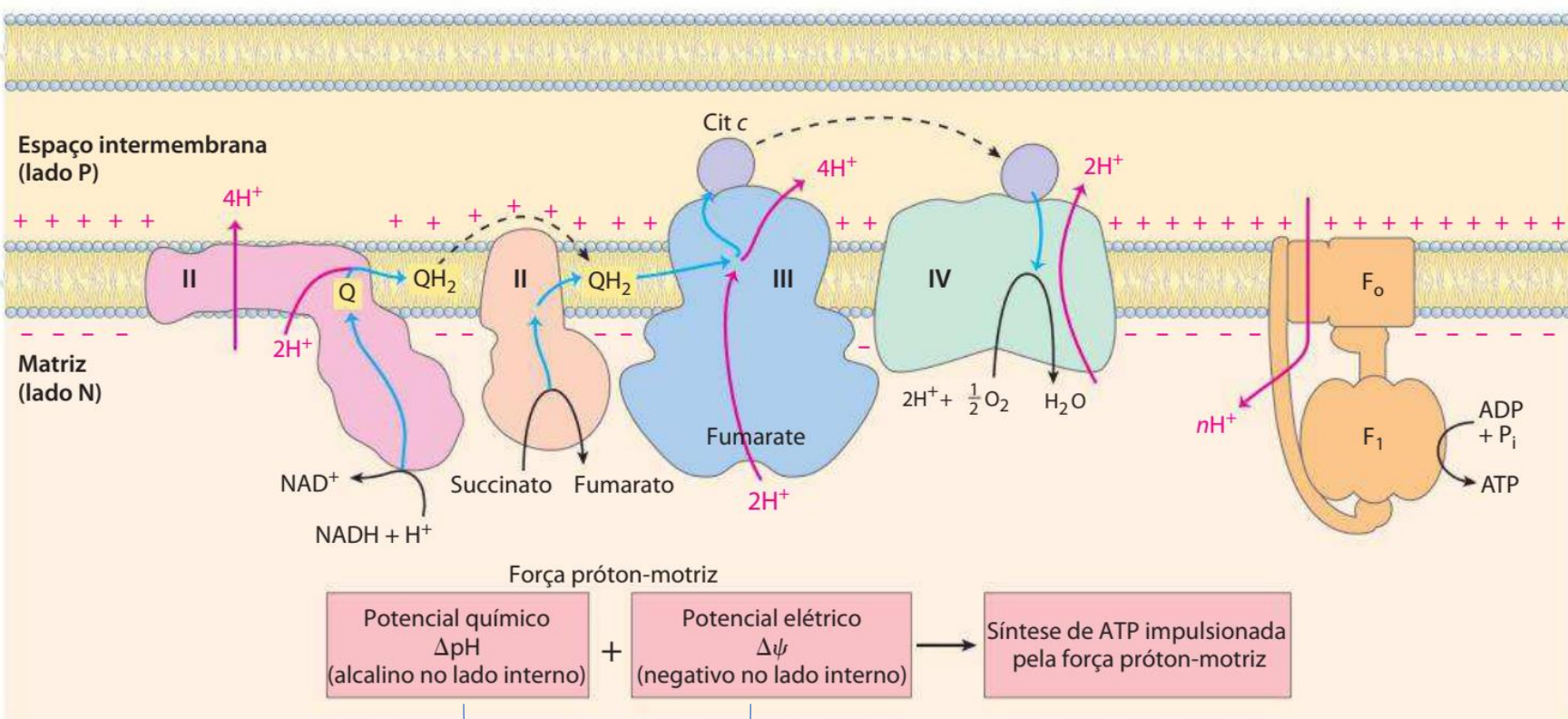


antimicina A



CN⁻ ou CO





Impermeável a prótons.

Retorno dos prótons é **espontâneo**, ocorre pela **ATP-sintase** gerando energia para síntese de ATP.

Acoplamento quimiosmótico.

Gradiente eletroquímico

Quanto maior o gradiente, mais “difícil” energeticamente a transferência de elétrons na cadeia.

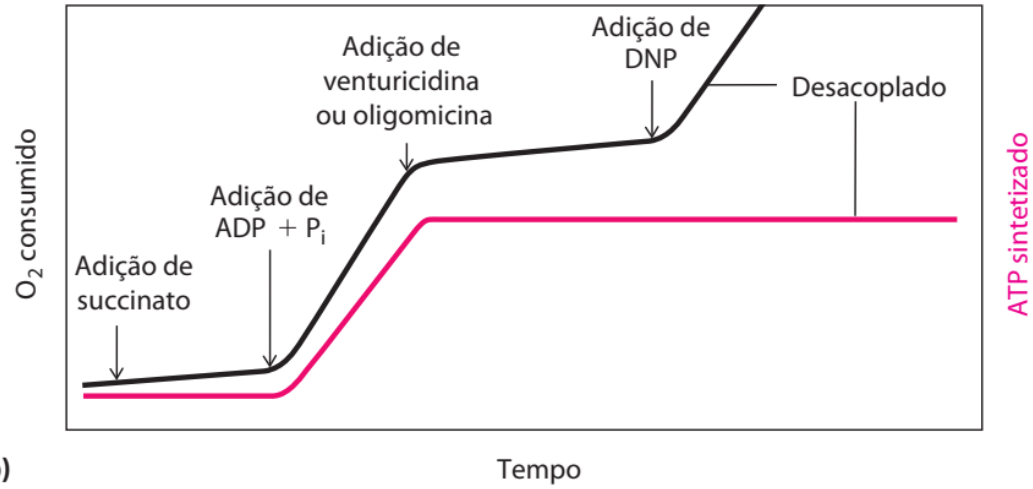
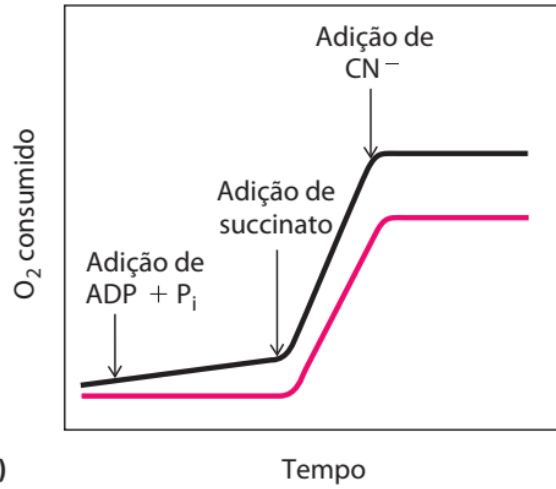
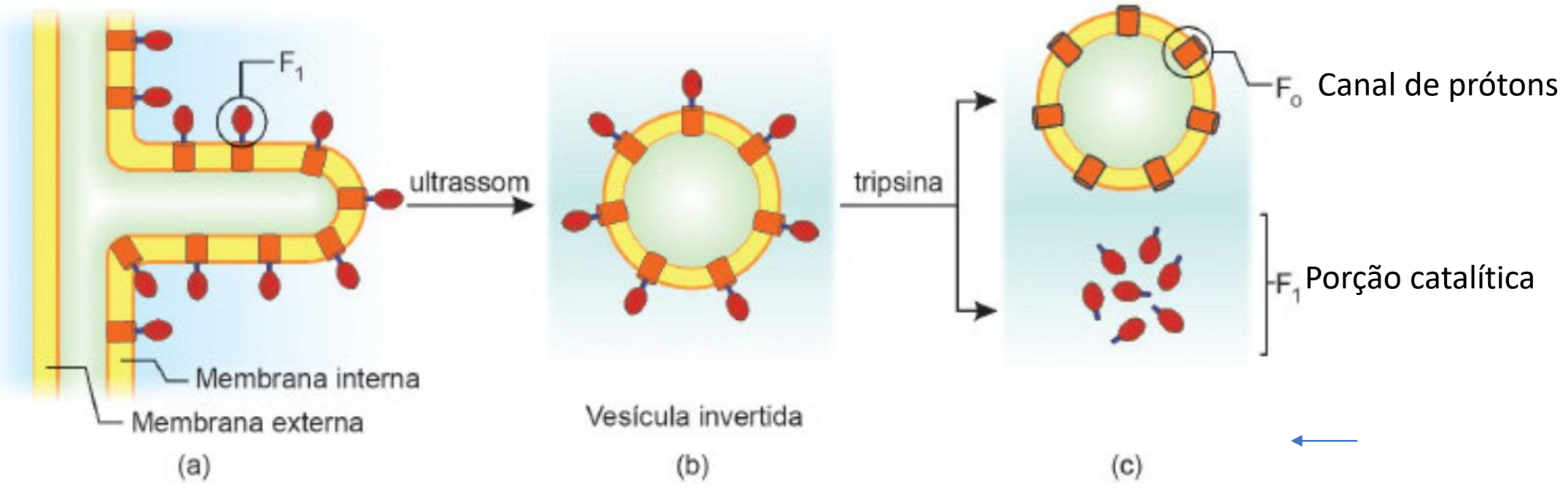


FIGURA 19-20 Acoplamento da transferência de elétrons e da síntese de ATP em mitocôndrias.

Em experimentos para a demonstração do acoplamento, as mitocôndrias são suspensas em um meio tamponado, e um eletrodo de O_2 monitora o consumo de O_2 . Em intervalos, amostras são removidas e analisadas para a presença de ATP. **(a)** A adição isolada de $ADP + P_i$ resulta em pequeno ou nenhum aumento da respiração (consumo de O_2 ; em preto) ou da síntese de ATP (em cor-de-rosa). Quando succinato é adicionado, a respiração inicia imediatamente e ATP é sintetizado. A adição de

cianeto (CN^-), que bloqueia a transferência de elétrons entre a citocromo-oxidase (complexo IV) e o O_2 , inibe tanto a respiração quanto a síntese de ATP. **(b)** Mitocôndrias providas de succinato respiram e sintetizam ATP somente quando $ADP + P_i$ são adicionados. A adição posterior de venturicidina ou oligomicina, inibidores da ATP-sintase, bloqueia a síntese de ATP e a respiração. Dinitrofenol (DNP) é um desacoplador, permitindo que a respiração continue sem a síntese de ATP.



Síntese de ATP ocorre mesmo na ausência de transporte de elétrons, desde que haja gradiente de pH (vesículas invertidas em meio alcalino).

A membrana interna precisa estar intacta e capaz de formar o gradiente.

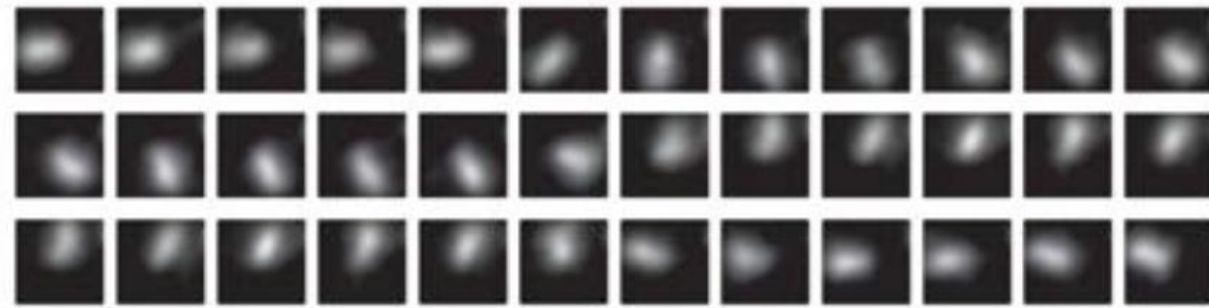
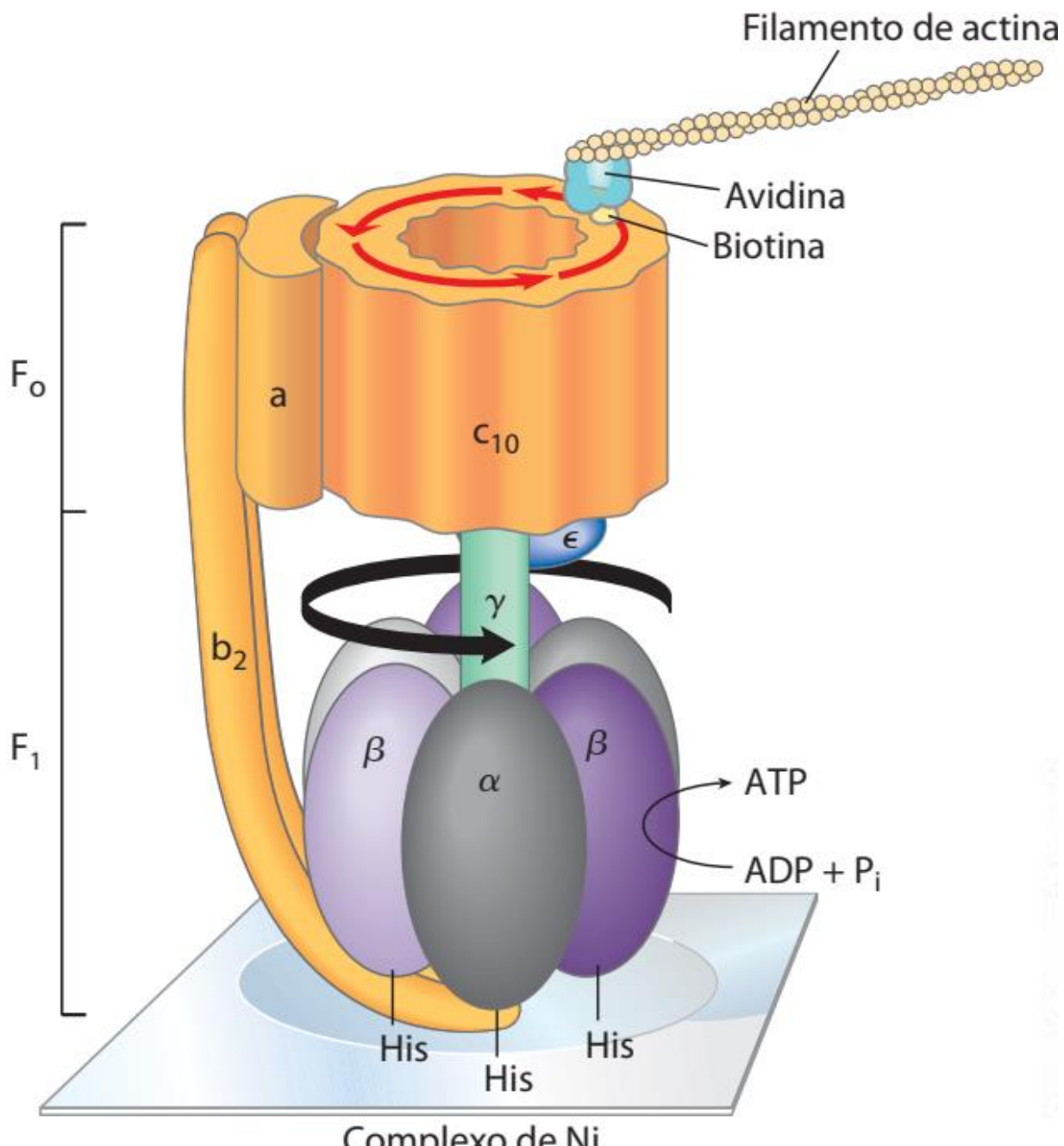


FIGURA 19-27 Demonstração experimental da rotação de F_0 e γ . F_1 geneticamente modificado para conter uma sequência de resíduos de His adere-se firmemente a uma lâmina de microscópio coberta com um complexo de Ni; a biotina é covalentemente ligada a uma subunidade c de F_0 . A proteína avidina, que liga firmemente a biotina, está covalentemente ligada a longos filamentos de actina marcada com uma sonda fluorescente. A ligação biotina-avidina agora liga filamentos de actina à subunidade c. Quando o ATP é fornecido como substrato para a atividade ATPásica de F_1 , observa-se o filamento marcado rodar continuamente em uma direção, provando que o cilindro F_0 de subunidades c gira. Em outro experimento, um filamento de actina fluorescente foi ligado diretamente à subunidade γ . A série de micrografias fluorescentes (ler da esquerda para a direita) mostra a posição do filamento de actina em intervalos de 133 ms. Observe que, à medida que o filamento gira, ele faz um salto discreto a cada cerca de 11 quadros de imagens. Presumivelmente, o cilindro e o eixo se movem como uma unidade.

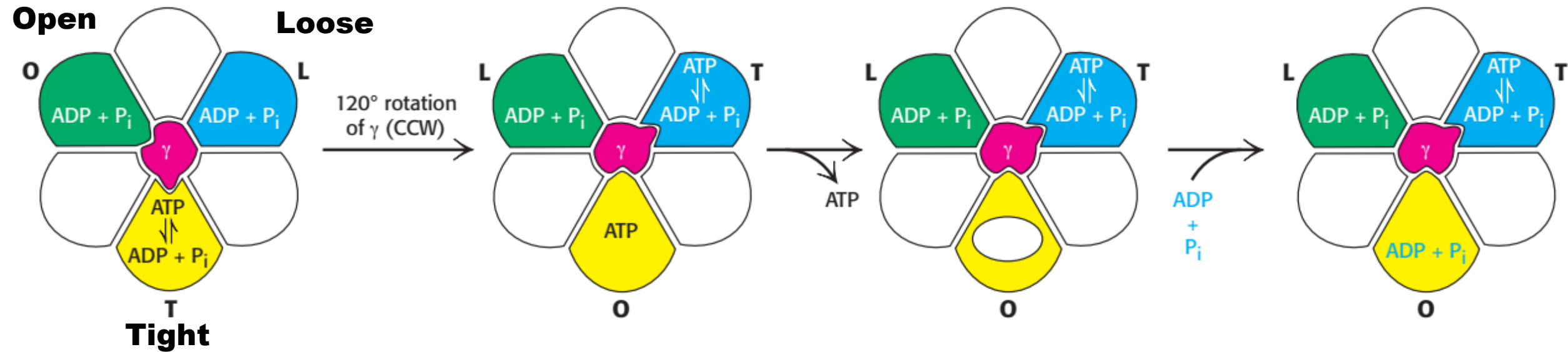


Figure 18.28 Binding-change mechanism for ATP synthase.

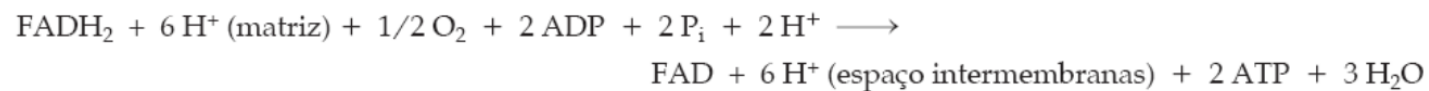
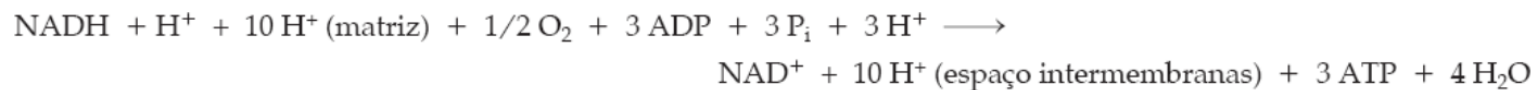
The rotation of the γ subunit interconverts the three β subunits. The subunit in the T (tight) form interconverts ADP and P_i and ATP but does not allow ATP be released. When the γ subunit is rotated by 120 degrees in a counterclockwise (CCW) direction, the T-form subunit is converted into the O form, allowing ATP release. ADP and P_i can then bind to the O-form subunit. An additional 120-degree rotation (not shown) traps these substrates in an L-form subunit.

Rendimento da oxidação da glicólise.

Etapas	I	II	III	I+II+III	IV	Mols de ATP formados
Coenzimas produzidas	2 NADH	2 NADH	6 NADH 2 FADH ₂	10 NADH 2 FADH ₂	30 ATP 4 ATP	30 4
Fosforilação no nível do substrato	2 ATP	—	2 ATP	4 ATP	—	4
<i>Total</i>						38

- I. Glicose a 2 piruvato
- II. 2 piruvato a 2 acetil-CoA
- III. 2 acetil-CoA pelo ciclo de Krebs
- IV. NADH e FADH₂ pela cadeia de transporte de elétrons e fosforilação oxidativa.

Razão P/O – ATPs formados por átomoms de oxigênio consumido



Esses valor varia por diversos fatores, não é trivial de calcular.

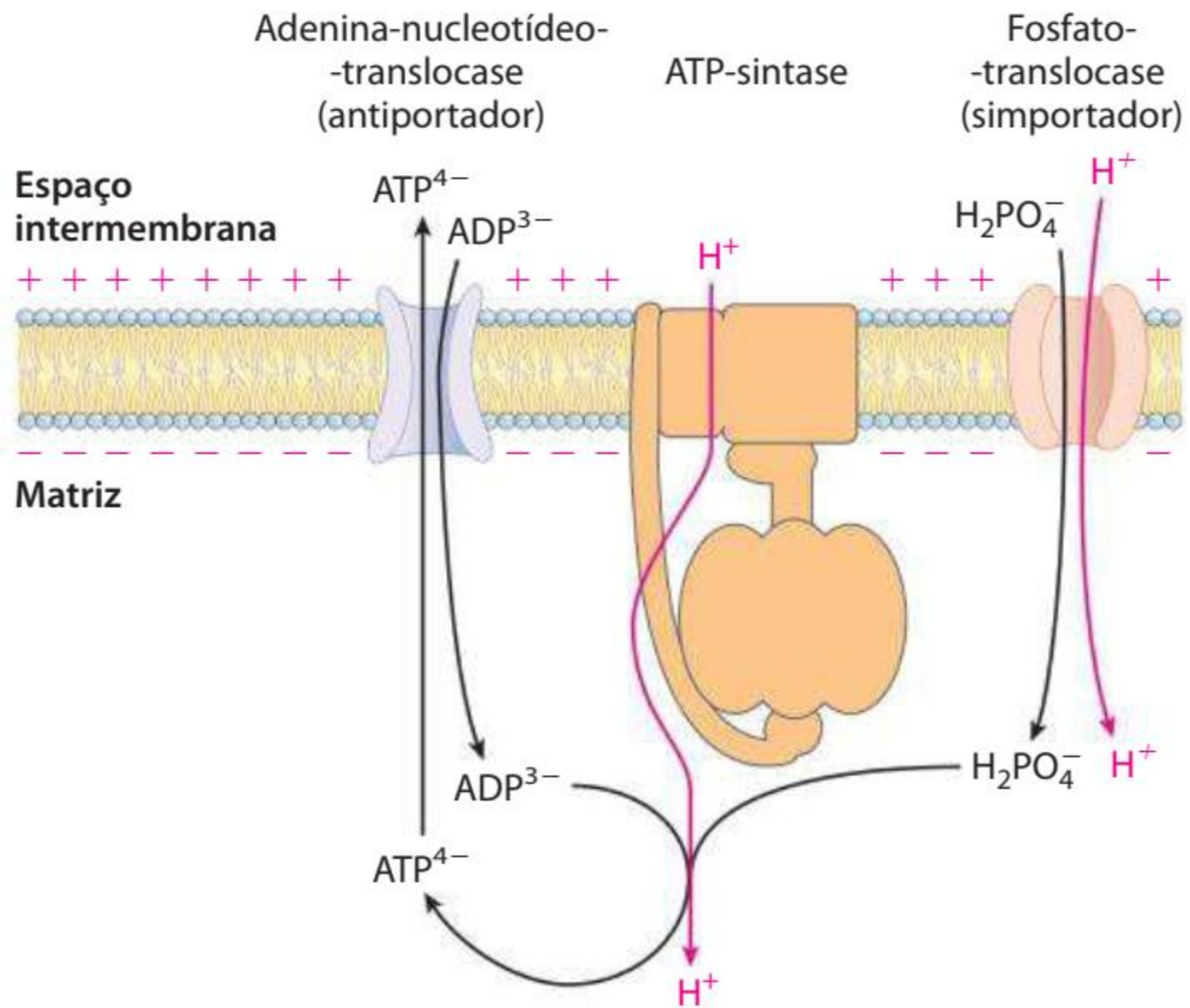


FIGURA 19-30 Adenina-nucleotídeo e fosfato-translocases. Sistemas

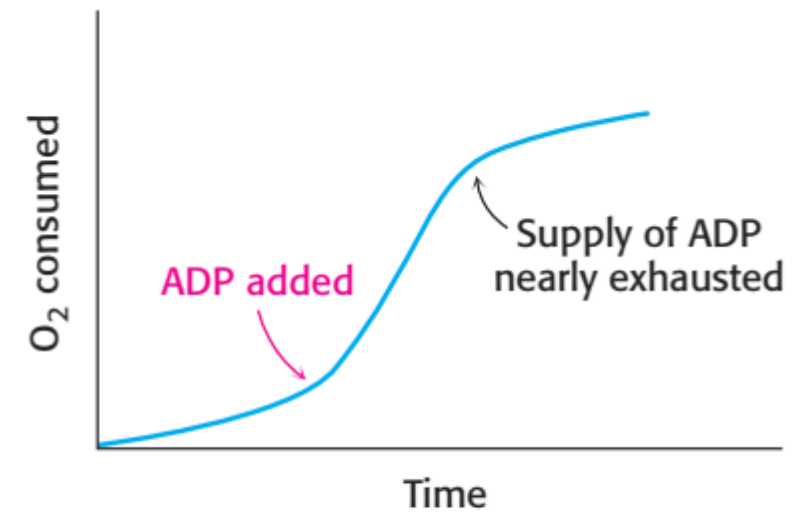
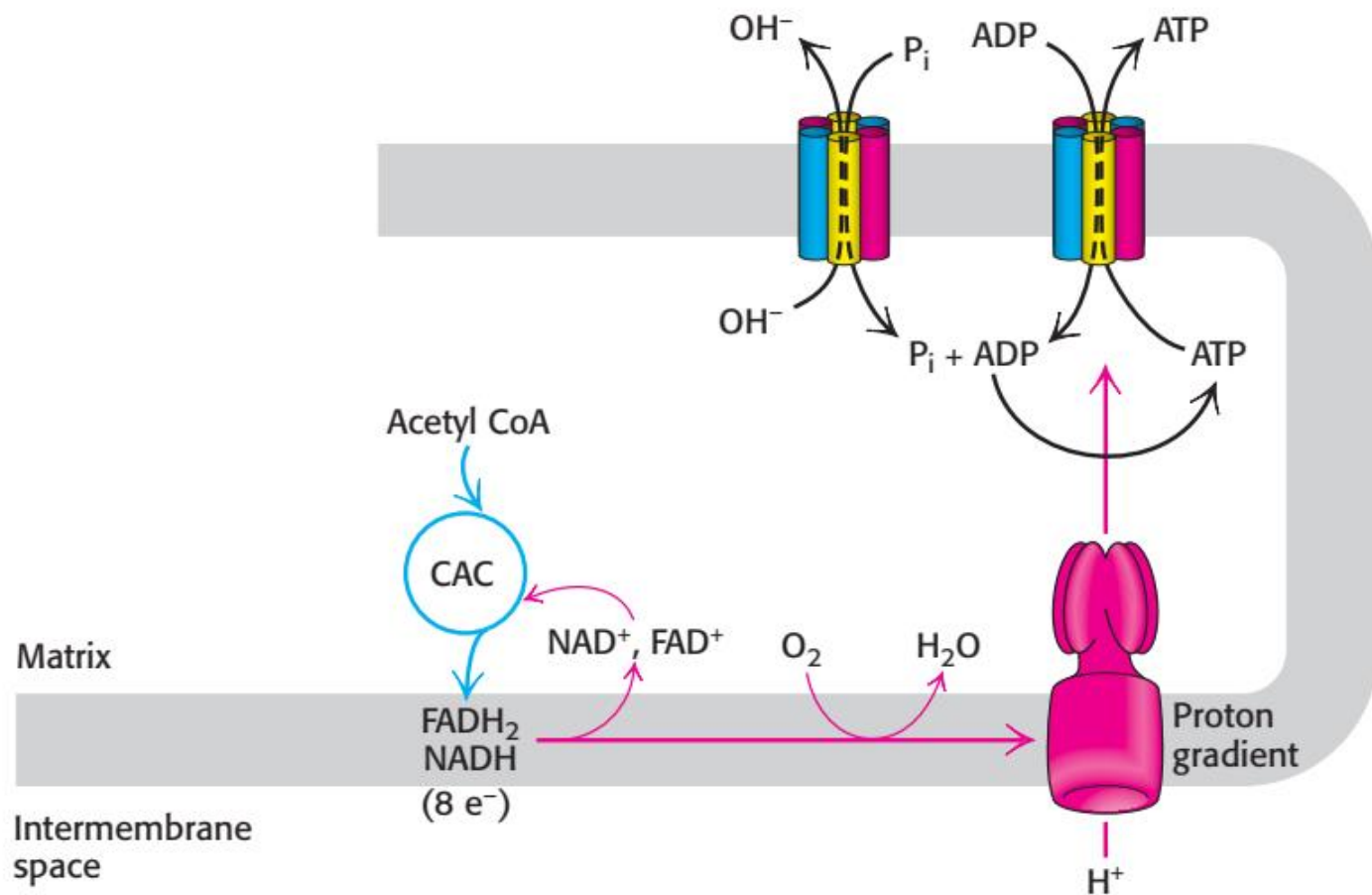


Figure 18.39 Respiratory control. Electrons are transferred to O₂ only if ADP is concomitantly phosphorylated to ATP.

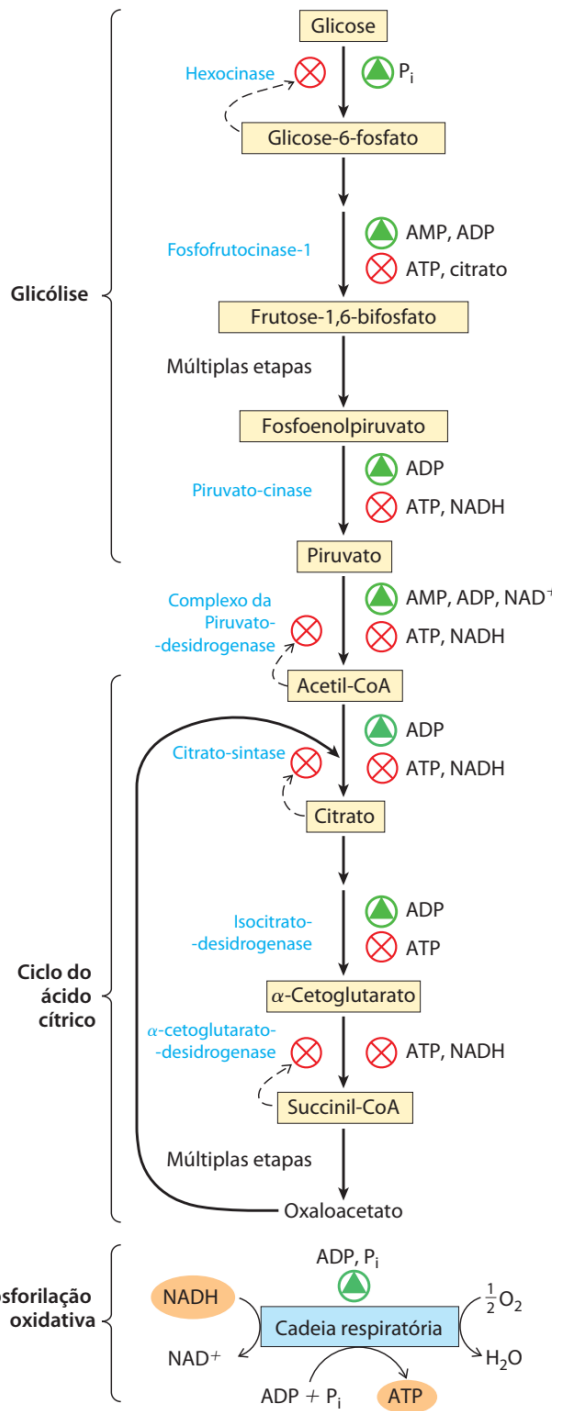
Controle respiratório:

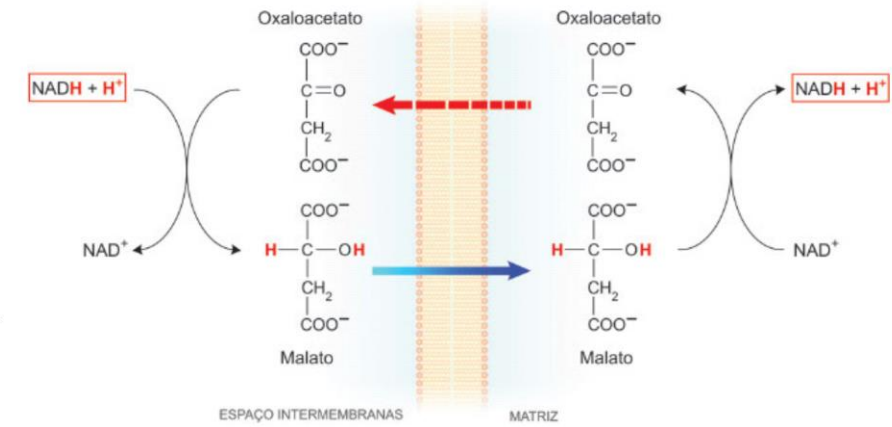
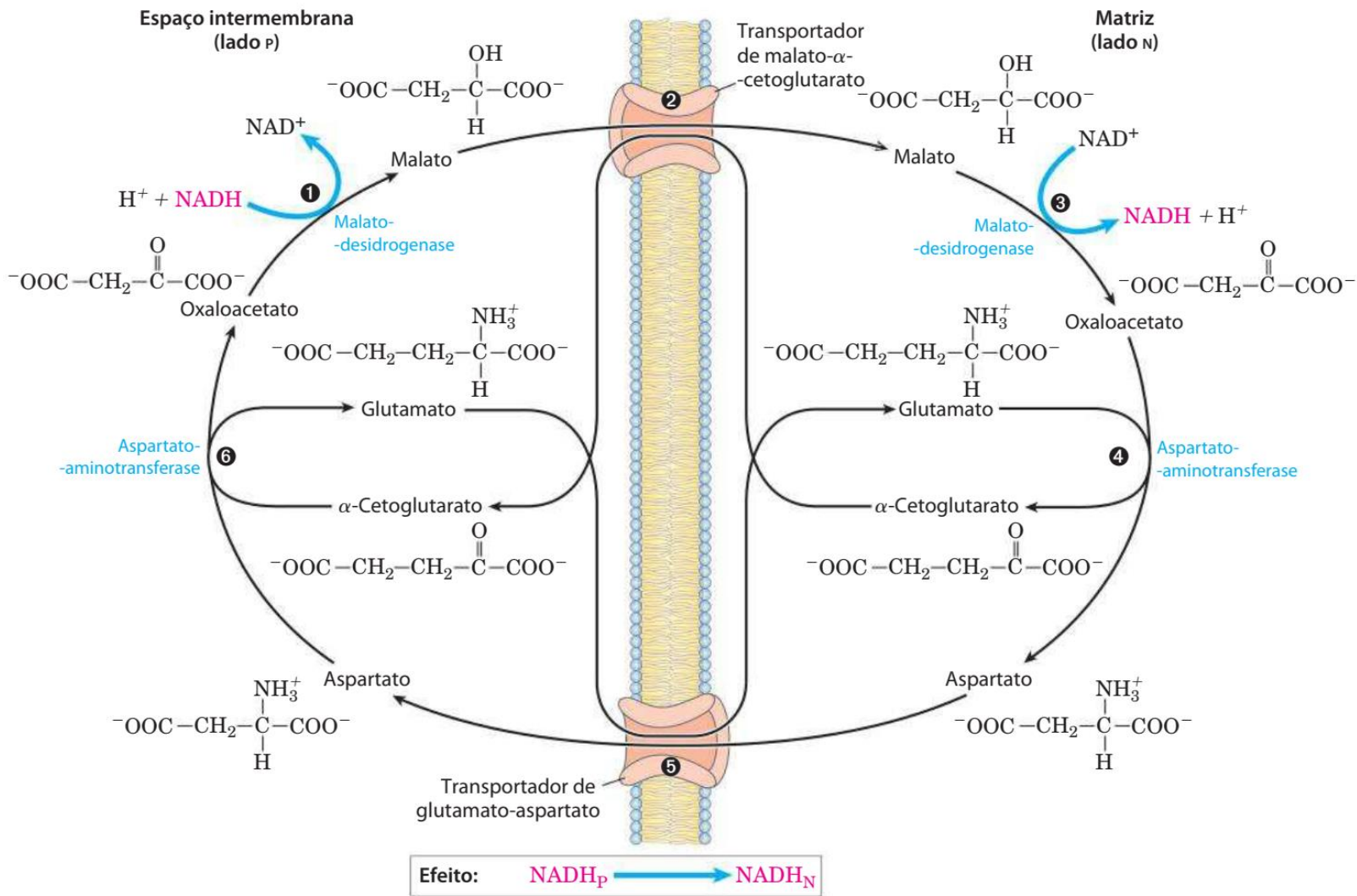
ATP-sintase requer **ADP** como substrato para que os prótons passem por ela.

Alta demanda de ATP: ↑ADP; ↓Gradiente; ↑Cte⁻; ↑Glicól. e Krebs (inib alost)

Baixa demanda ATP: ↓ADP; ↑Gradiente; ↓ Cte⁻; ↓ Glicól. e Krebs (inib alost)

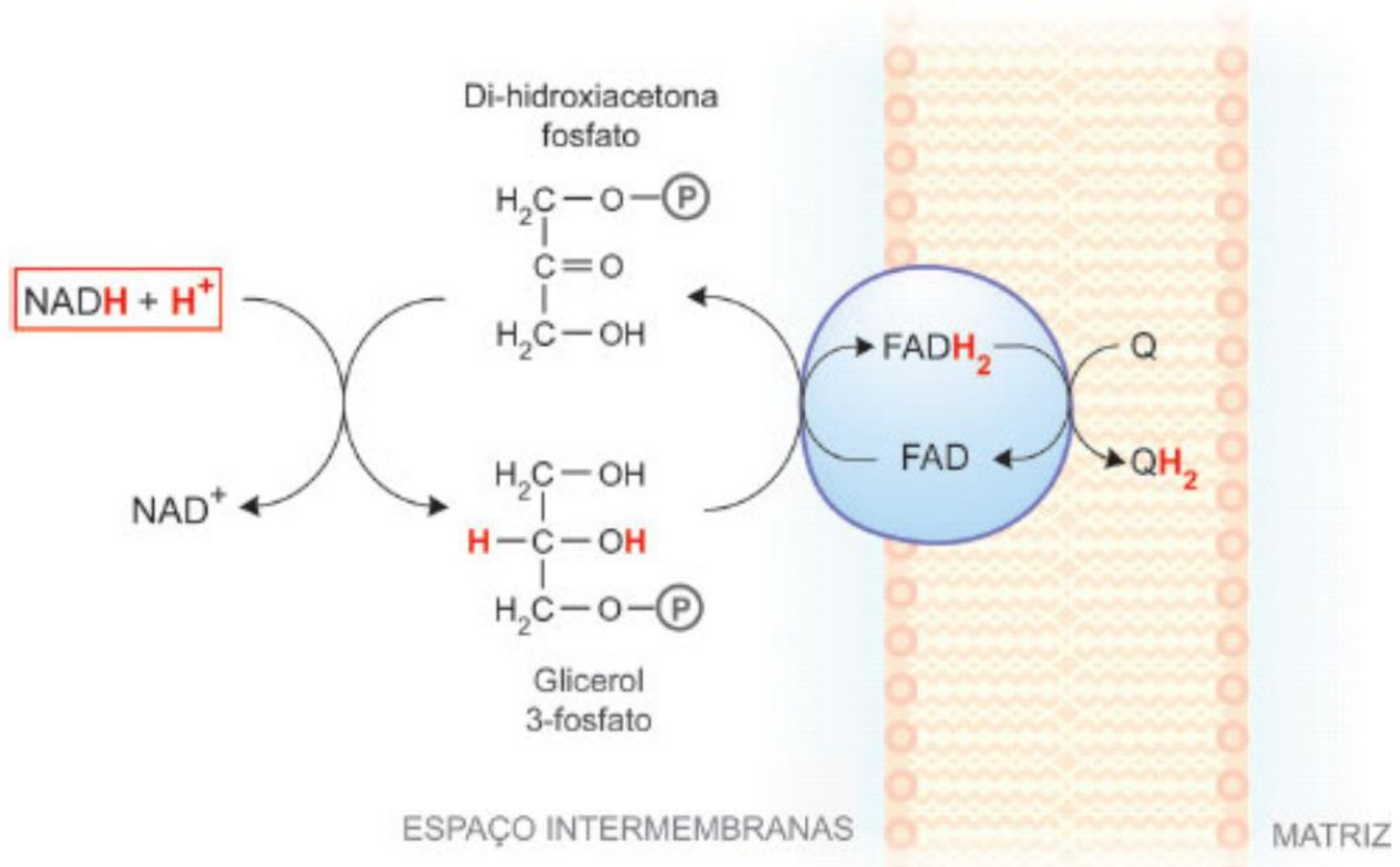
Controle alostérico



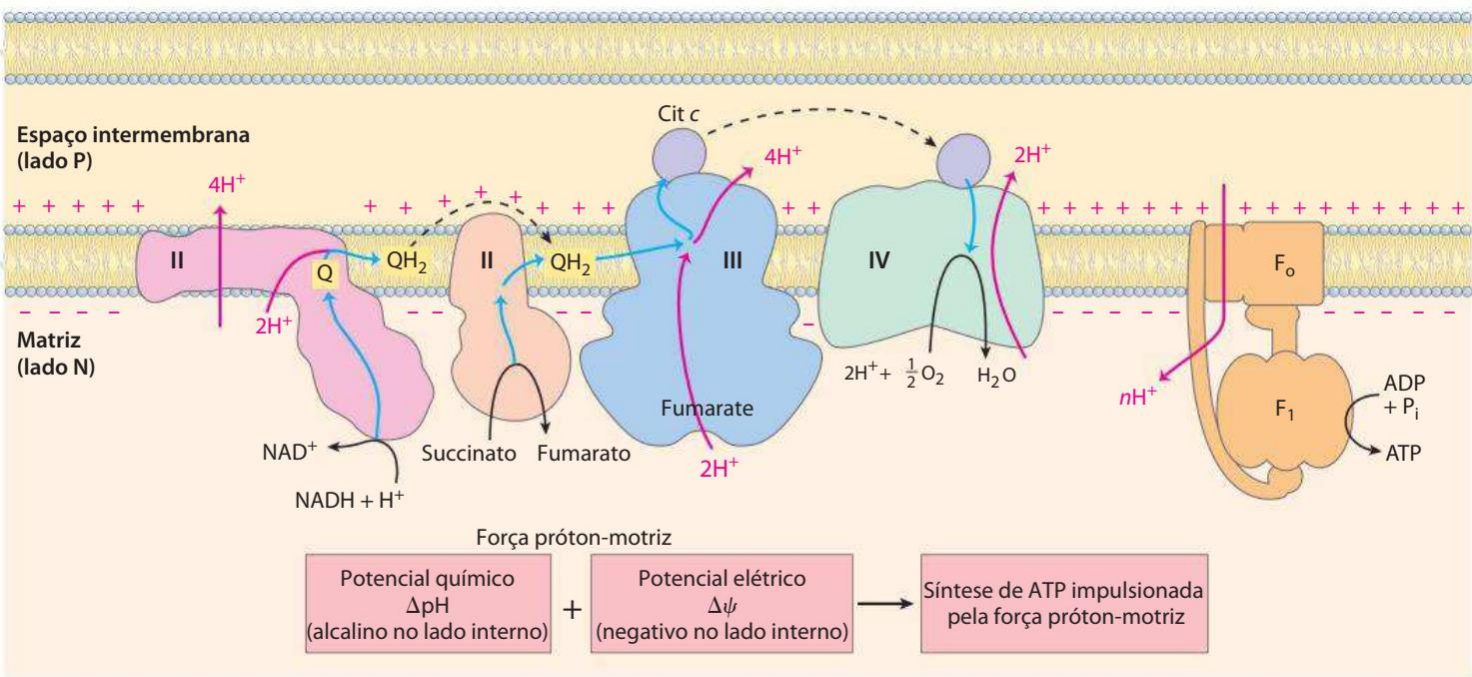


Oxidação do NADH citosólico – Lançadeiras (malato-aspartato)

Membrana interna da mitocôndria não transporta NADH.



Oxidação do NADH citosólico – Lançadeiras (glicerol-fosfato)



A inibição de qualquer complexo desativa a cadeia de transporte de elétrons.

Consequentemente, a síntese de ATP também não procede (acoplamento) \rightarrow Ausência de gradiente eletroquímico.

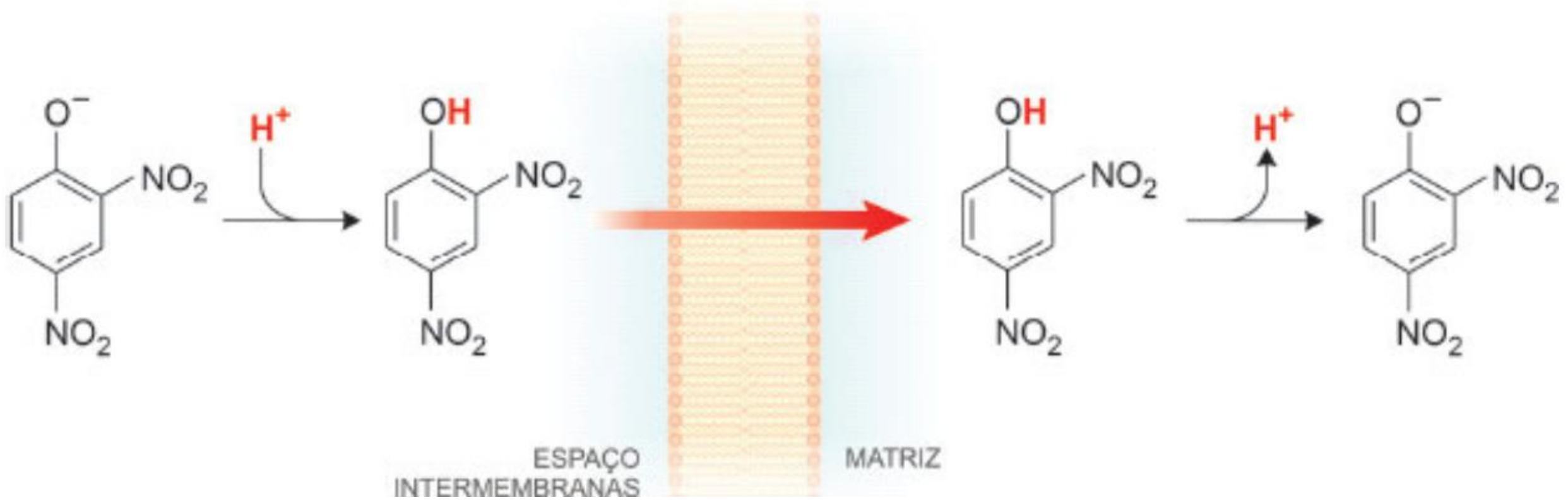
Se ATP-sintase estiver inibida (oligomicina). A cadeia de transporte de elétrons também para \rightarrow gradiente muito alto energeticamente impede a transferência.

Desacoplador: desfaz o gradiente de prótons

Tabela 11.2 Inibidores da cadeia de transporte de elétrons e o complexo sobre o qual cada um atua.

Inibidores	Complexo
Barbituratos (hipnóticos)	I
Rotenona (inseticida)	I
Malonato (inibidor da succinato desidrogenase)	II
Antimicina A (antibiótico)	III
Cianeto (CN ⁻), monóxido de carbono (CO), azida (N ³⁻)	IV

Oligomicina inibe a **ATP-sintase**.

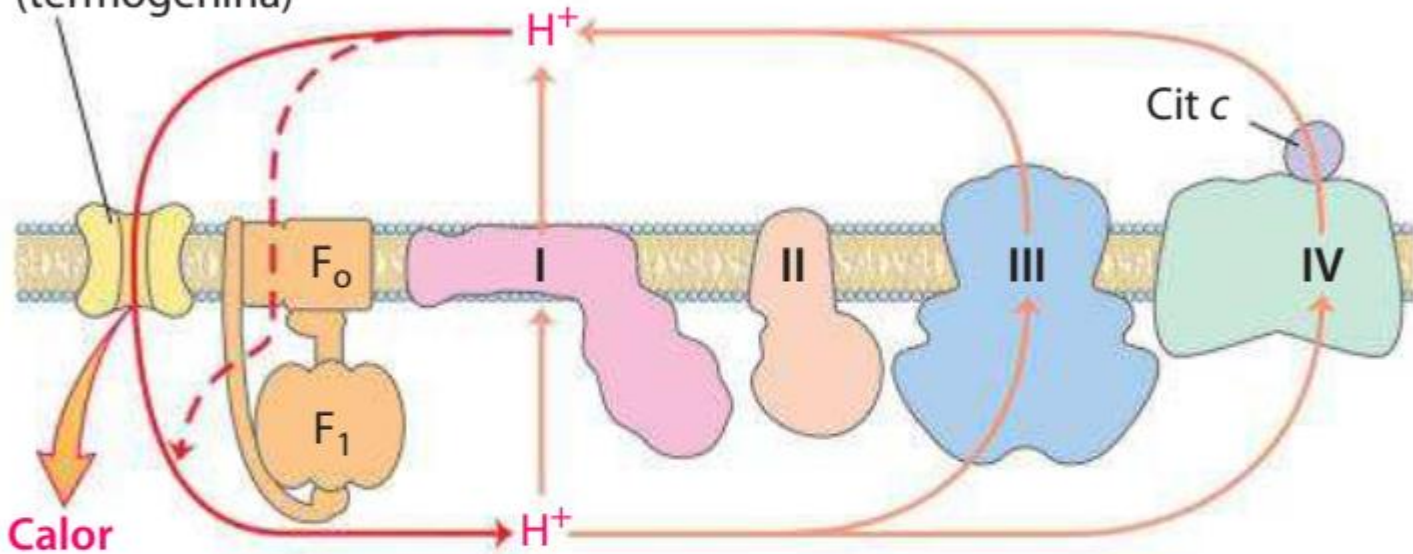


DNP (dinitrofenol) é um desacoplador.

Na presença de DNP e oligomicina (inibidor ATP-sintase), ocorre a respiração celular (cadeia de transporte de elétrons) sem a síntese de ATP.

Espaço intermembrana
(lado P)

Proteína desacopladora
(termogenina)



Matriz (lado N)

Proteínas desacopladoras: formação de ***calor***
(termogênese no tecido adiposo marrom).

FIGURA 19-36 Geração de calor por mitocôndrias desacopladas. A proteína desacopladora (termogenina) nas mitocôndrias do tecido adiposo marrom, ao fornecer uma via alternativa para os prótons reentrarem na matriz mitocondrial, faz a energia conservada pelo bombeamento de prótons ser dissipada como calor.