

Trasporto Ciclico di Elettroni nel Cloroplasto

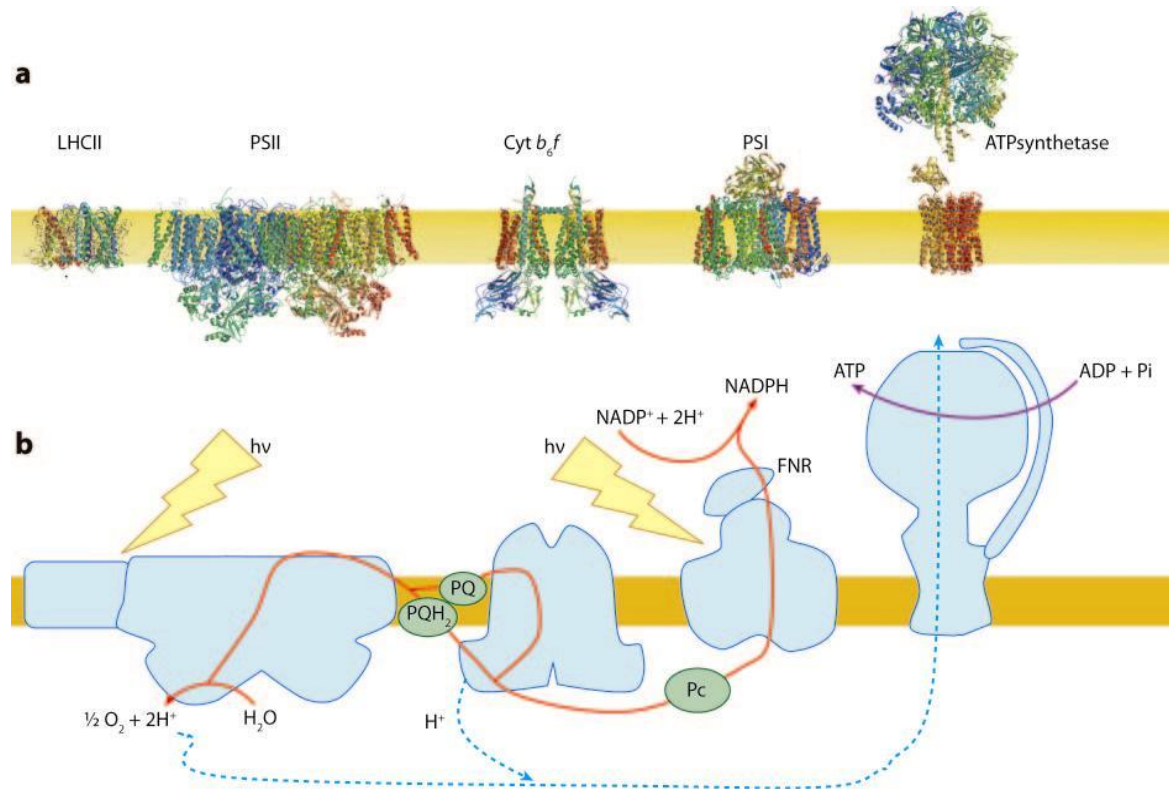
Paolo Pesaresi

**Università degli Studi di Milano
DIPARTIMENTO DI BIOSCIENZE**



Il Trasporto Lineare di Elettroni nelle Membrane Tilacoidali del Cloroplasto

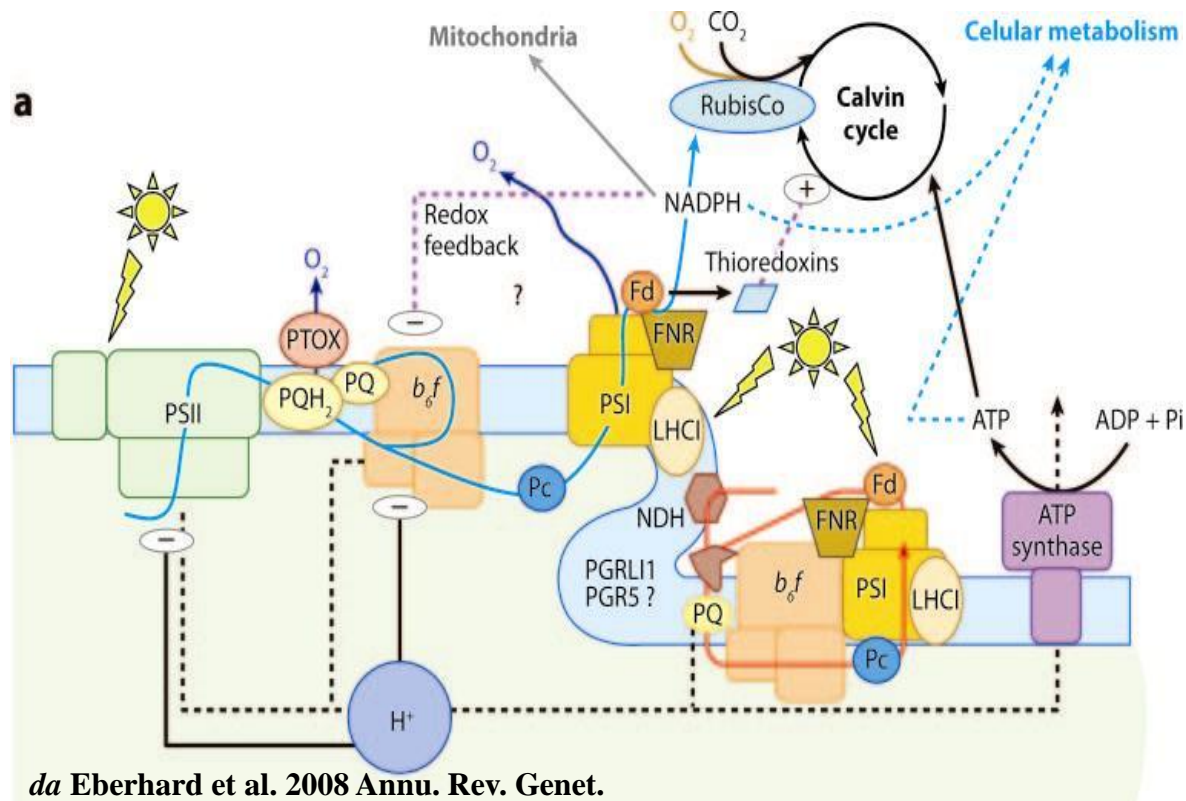
- Coinvolge entrambi i Fotosistemi (PSII e PSI) e permette la produzione di ATP e NADPH
- Genera un gradiente protonico a cavallo delle membrane tilacoidali



da Eberhard et al. 2008 Annu. Rev. Genet.

Il Trasporto Ciclico di Elettroni intorno al PSI

- Coinvolge soltanto il PSI e permette la produzione esclusiva di ATP senza generare NADPH
- Genera un gradiente protonico a cavallo delle membrane tilacoidali



Il Trasporto Ciclico di Elettroni: Le Proteine Coinvolte

- Il termine «Cyclic Phosphorylation» appare per la prima volta nel 1958.

Arnon et al. Science, 127: 1026-34

- Ferredossina (Fd) è riconosciuta essenziale al trasporto ciclico di elettroni nel 1963.
- Antimicina A (AA) inibisce il trasporto ciclico mediato anche dal cyt *b₆/f*.

Tagawa et al. PNAS, 102: 567-72

- Una via alternativa del trasporto ciclico di elettroni richiede la presenza del complesso NAD(P)H deidrogenasi (NDH) nelle piante superiori (1998).
- Antimicina A (AA) non inibisce il trasporto ciclico di elettroni mediato dal complesso NDH

Burrows et al. Embo J., 17:868-76 ; Kofer et al., Mol. Gen. Genet. 258: 166-73; Shikanai et al., PNAS, 95: 9705-9

- La proteina «Proton Gradient Regulation 5», PGR5, è coinvolta nel trasporto ciclico mediato dalla Ferredossina (2002).

Munekage et al. Cell, 110: 361-71

Una nuova strategia per scoprire proteine tilacoidali coinvolte nel trasporto ciclico di elettroni: trascrittomica-proteomica

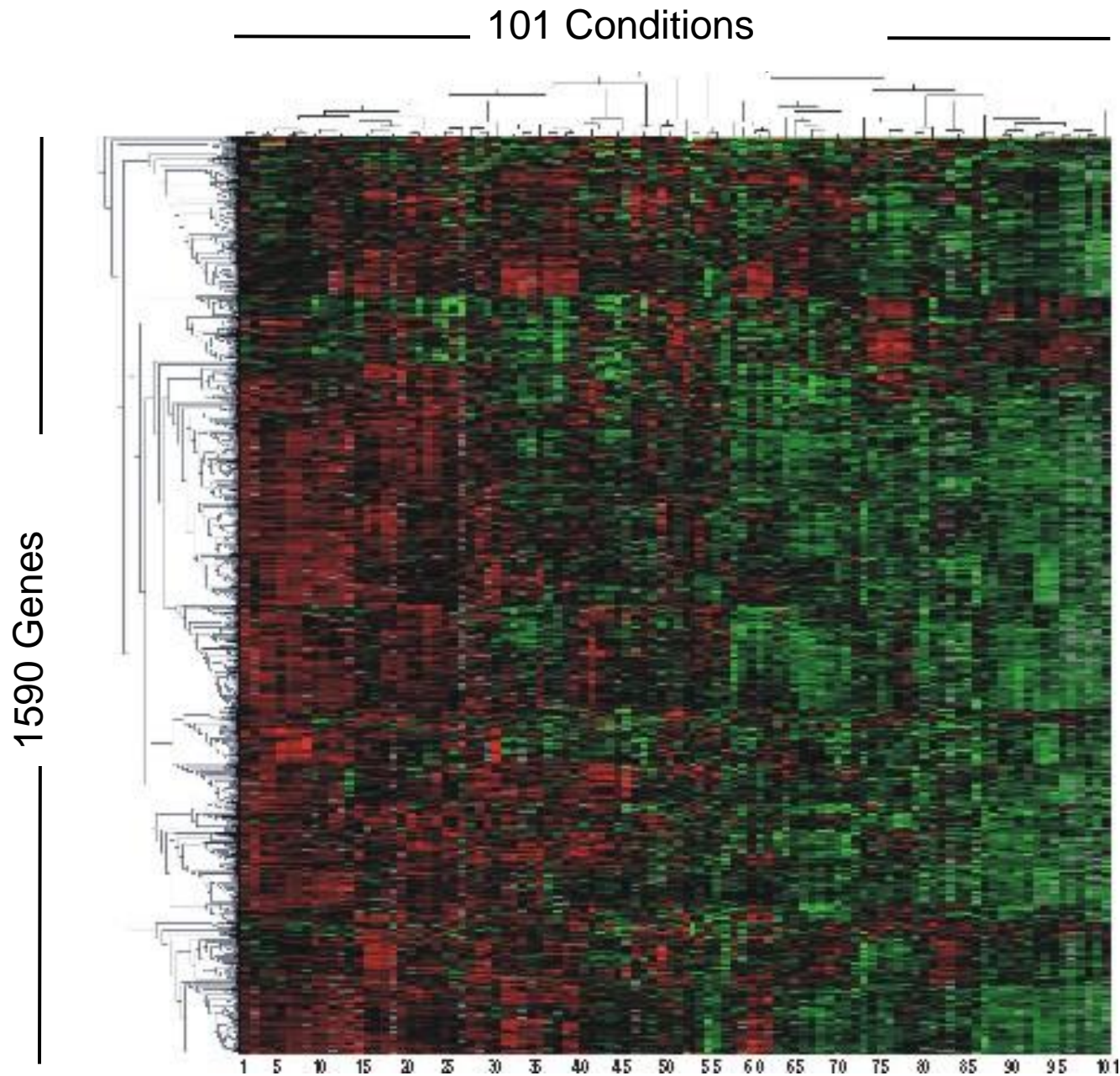
Table 1

Functional classification for the thylakoid and envelope proteomes. Proteins were identified by large scale envelope proteome studies [9,11,12] or thylakoid proteome studies [3,16,19,20] or by more 'classical' biochemical tools, forward or reverse genetics. Together this resulted in 384 thylakoid and 429 envelope proteins (integral, associated or co-puried). All proteins received a functional classification as described in [3]. Functional classification of thylakoid and envelope proteins are expressed in percentage of total

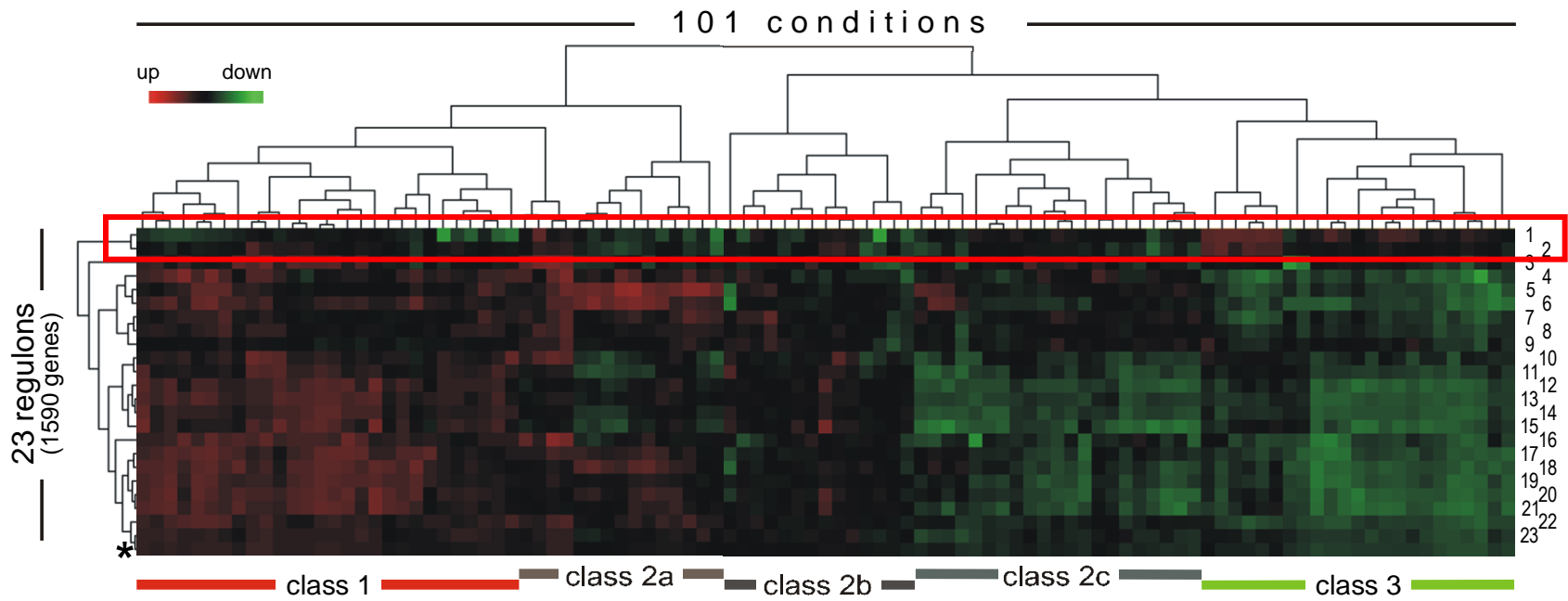
Functional category	Envelope proteins (% of total)	Thylakoid proteins (% of total)
(Cyclic) electron transport, ATP synthesis, chlororespiration	4.2	30.1
Unknown function	28.0	25.2
Protein fate	13.3	18.2
Redox proteins, oxidative defense and stress	4.4	8.1
DNA/RNA/translation	9.3	6.2
Calvin cycle, photorespiration, starch, OPP, glycolysis	4.2	2.3
Terpenoids and tetrapyrrole metabolism	4.2	2.3
Other developmental functions	1.6	2.1
Hormone and lipid metabolism	10.0	1.6
Other metabolic functions	2.3	1.0
N, S, aa and nucleotide metabolism	4.7	0.8
Mitochondria and others	1.6	0.8
Co-factor and vitamine metabolism, metal handling	0.9	0.8
Transport ions and small organic molecules	9.3	0.5
Plastid division and plastid vesicles	1.9	0.0

da van Wijk, *Plant Physiol. Biochem.* (2004) 42 : 963-977

101 x 1590 valori di espressione per definire i Coregoloni



2 coregoloni contengono per lo più proteine con un ruolo nella fotosintesi e proteine tilacoidali con funzione sconosciuta



da Biehl et al. Gene (2005) 344: 33-41

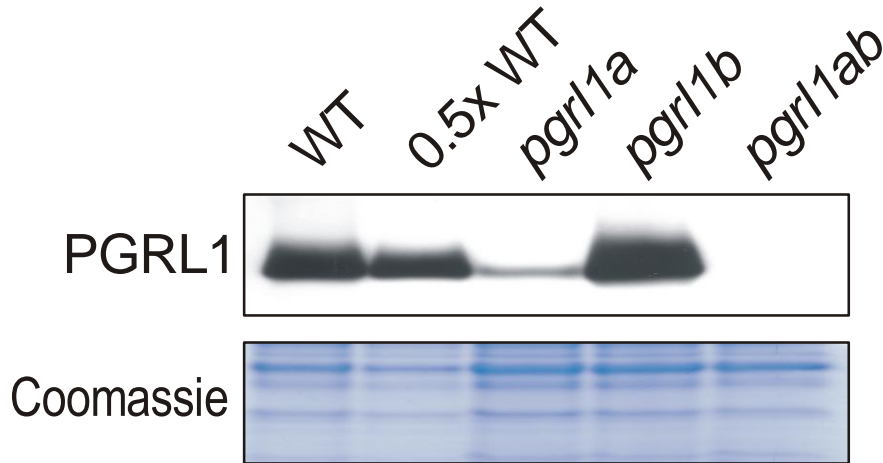
Due geni omologhi di *Arabidopsis* sono espressi in modo del tutto simile a *PGR5* e codificano per una proteina localizzata nei tilacoidi

Due geni in *A. thaliana*: PGRL1A and PGRL1B

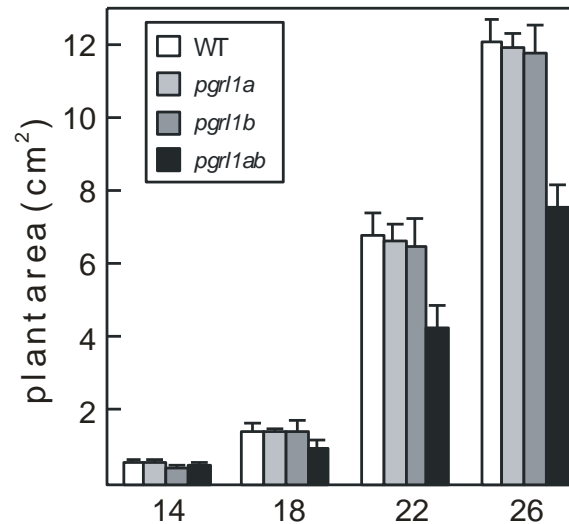
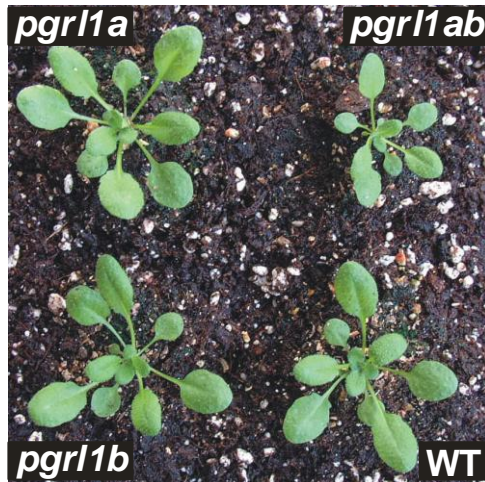
Codificano una proteina tilacoidale di ~300 aa

Mutanti privi della proteina PGR1

Western Blot specifico per la proteina PGR1



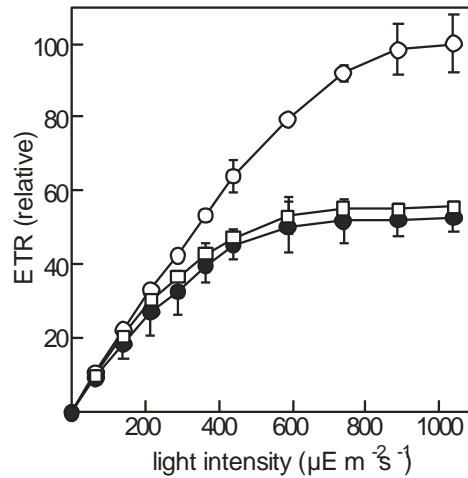
I doppi mutanti sono privi di PGR1



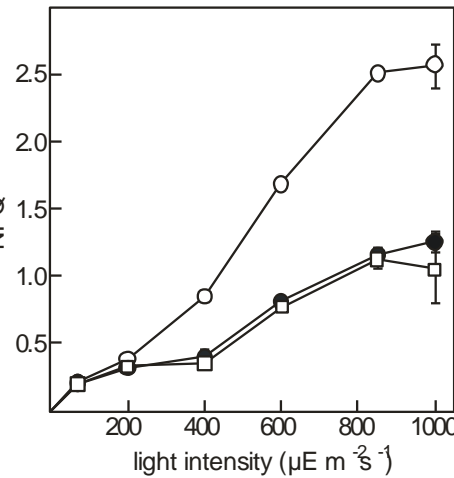
I doppi mutanti sono alterati nella crescita

Fenotipo dei mutanti privi della proteina PGRL1

ETR

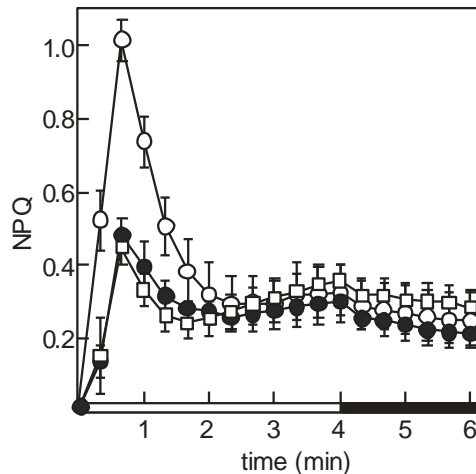


NPQ

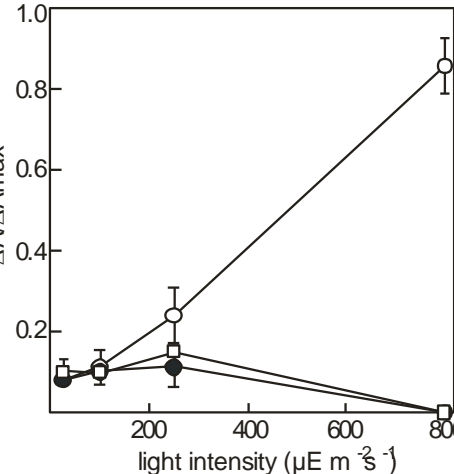


Induzione di NPQ luce dipendente

Induzione di NPQ durante la transizione buio-luce



$\Delta A/\Delta A_{\text{max}}$

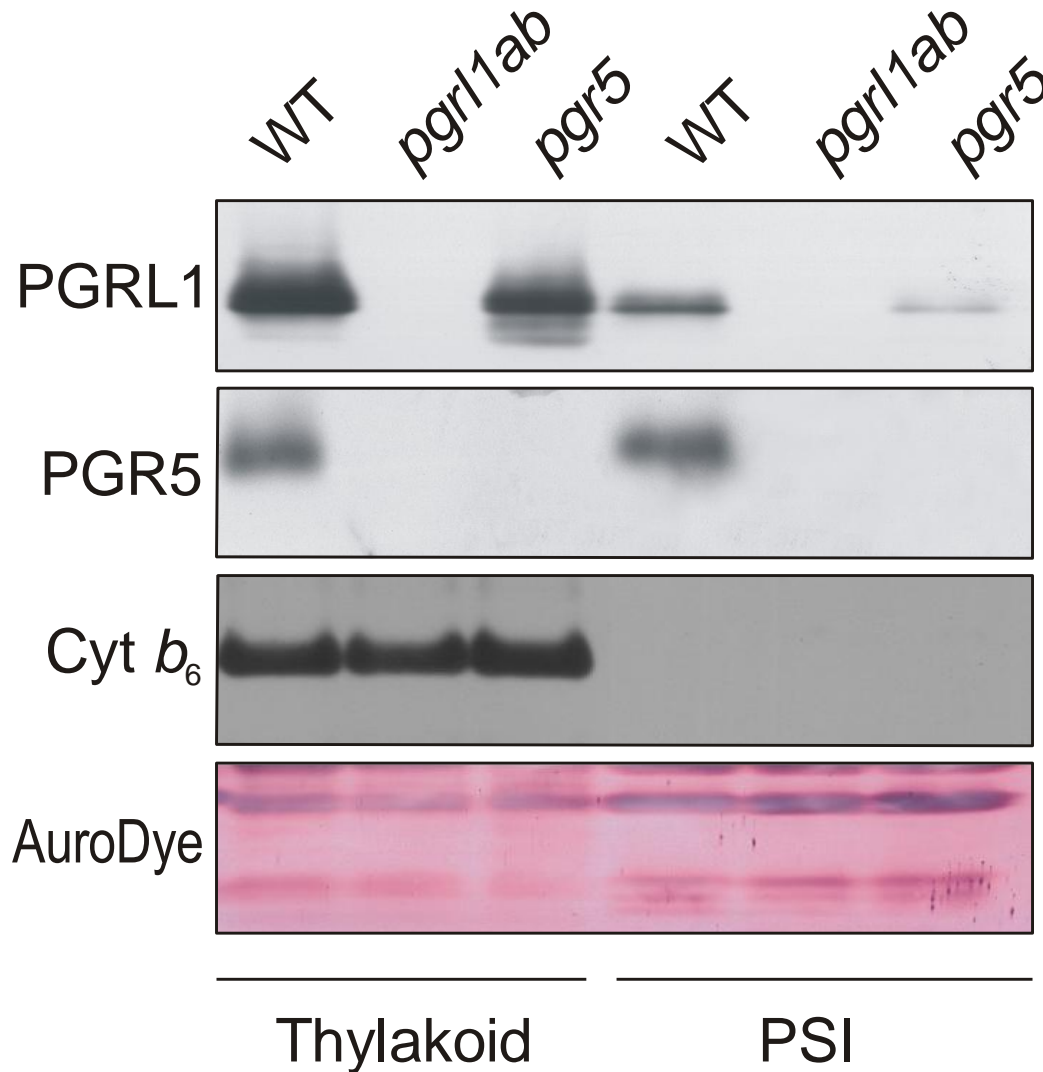


Ossidazione del P700

Le piante prive della proteina PGRL1 si comportano come le piante prive di PGR5

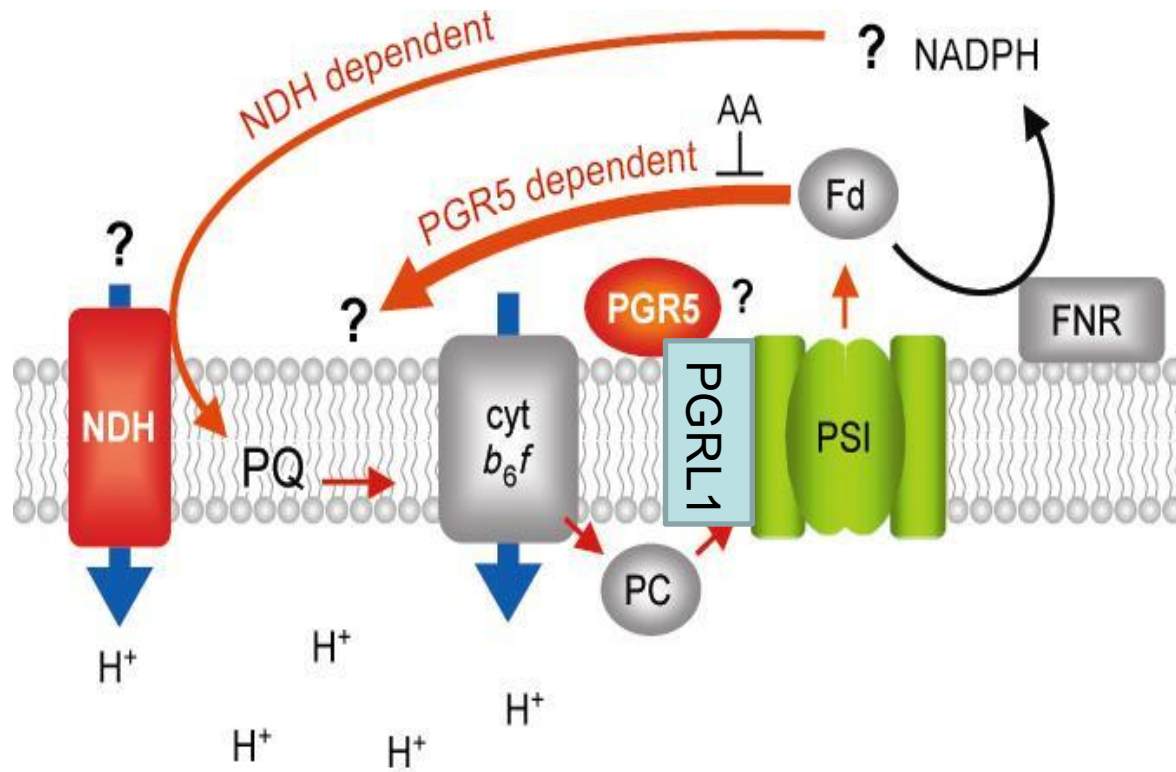
L'assenza della proteina PGRL1 destabilizza l'accumulo di PGR5

Analisi Western Blot eseguite su tilacoidi e complessi PSI



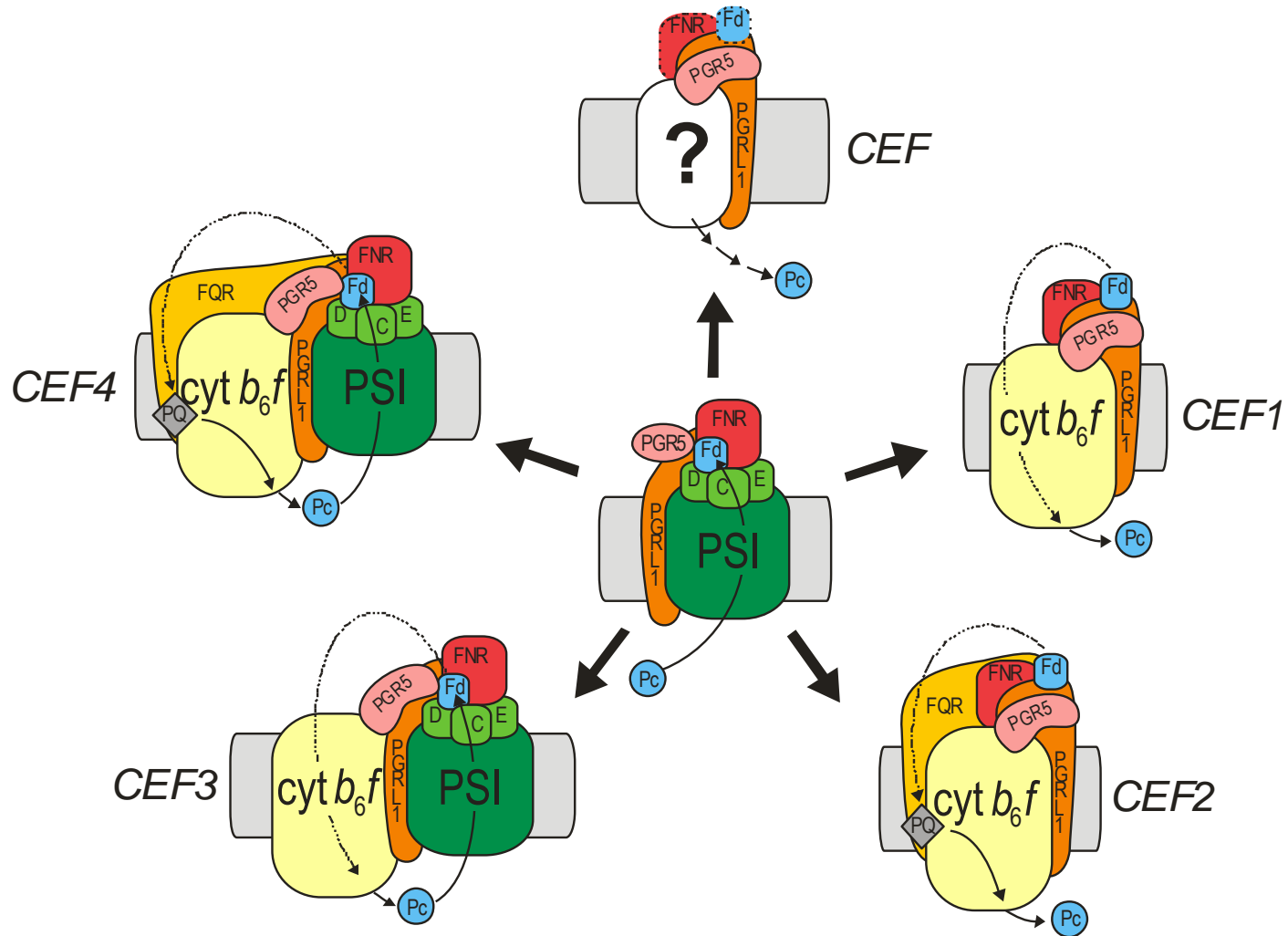
PGRL1 e PGR5 interagiscono con il PSI. *da DalCorso et al. Cell (2008) 132: 273-285*

Il Trasporto Ciclico di Elettroni: Le Proteine Coinvolte (Gennaio 2008)

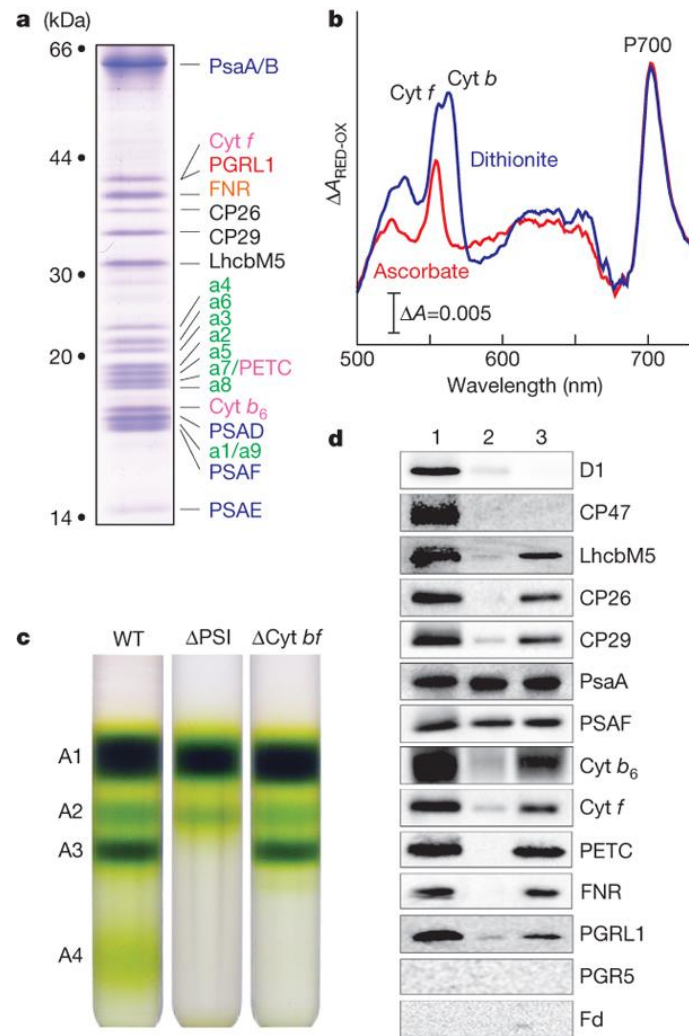
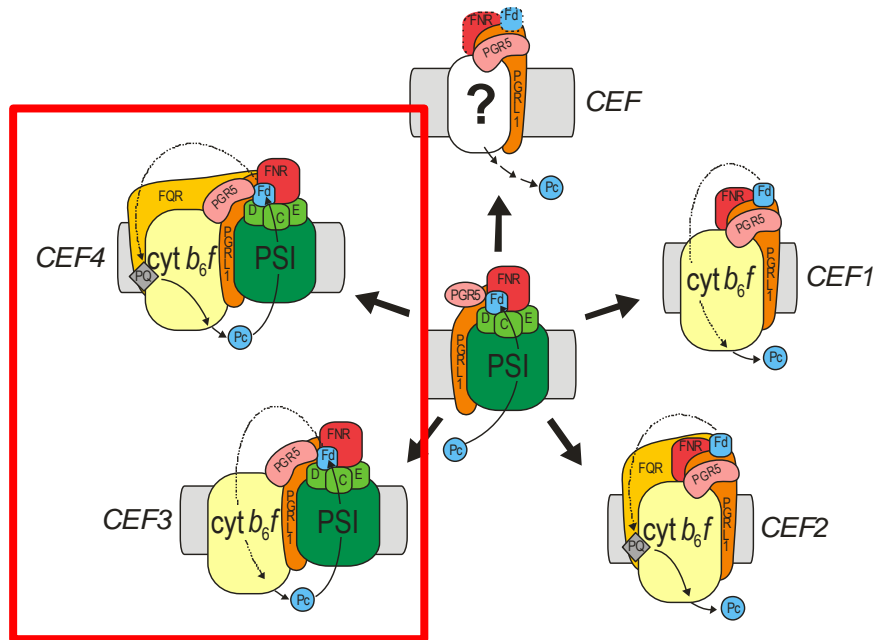


da Shikanai 2007 Annu. Rev. Plant Biol.

Diversi modelli per il trasporto ciclico mediato dal complesso proteico PGRL1-PGR5

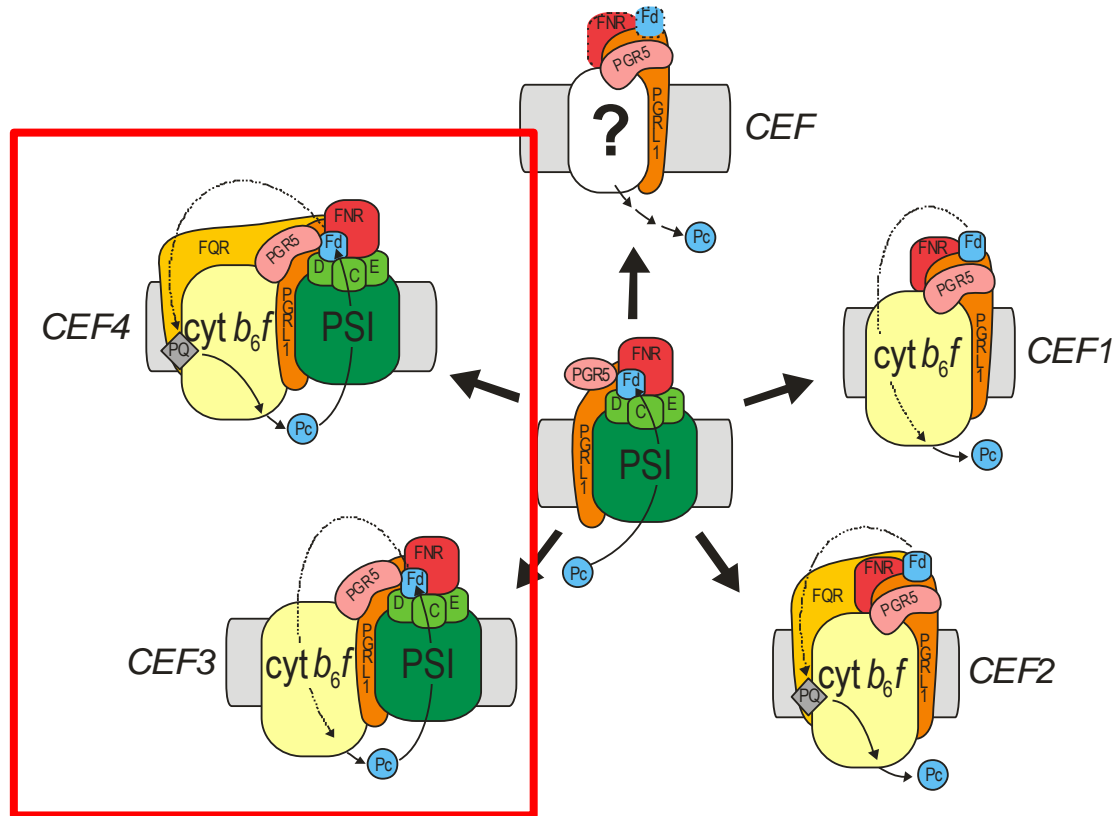


L'ipotesi di trasporto ciclico indicata come CEF3 o CEF4 è validata nell'alga verde *Chlamydomonas reinhardtii* (2010)

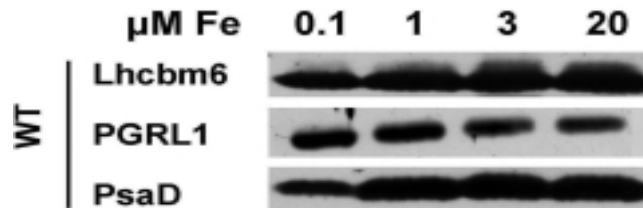


da Iwai et al., *Nature* (2010) 444: 1210-1213

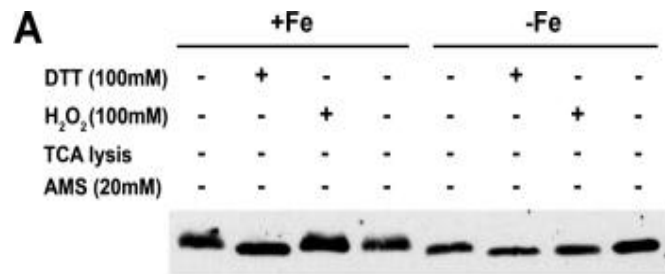
Come vengono trasferiti gli elettroni durante il trasporto ciclico?



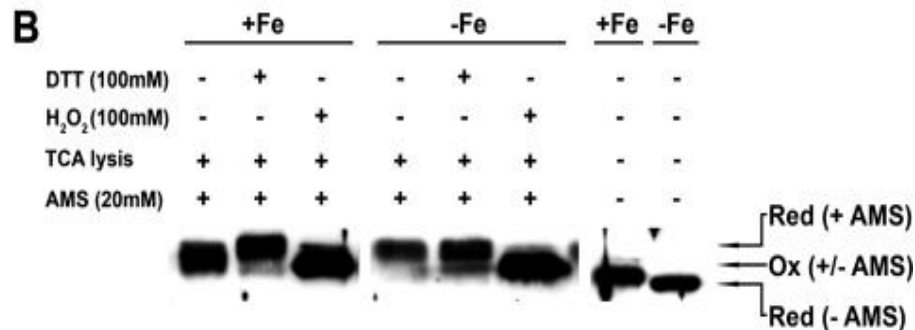
PGRL1 è soggetto a modifiche conformazionali mediate dal Ferro che ne modificano lo stato Redox



Il Peso molecolare apparente di PGRL1 aumenta con l'aumentare della concentrazione di Ferro



Il Peso molecolare apparente di PGRL1 è influenzato dal numero di cisteine ridotte

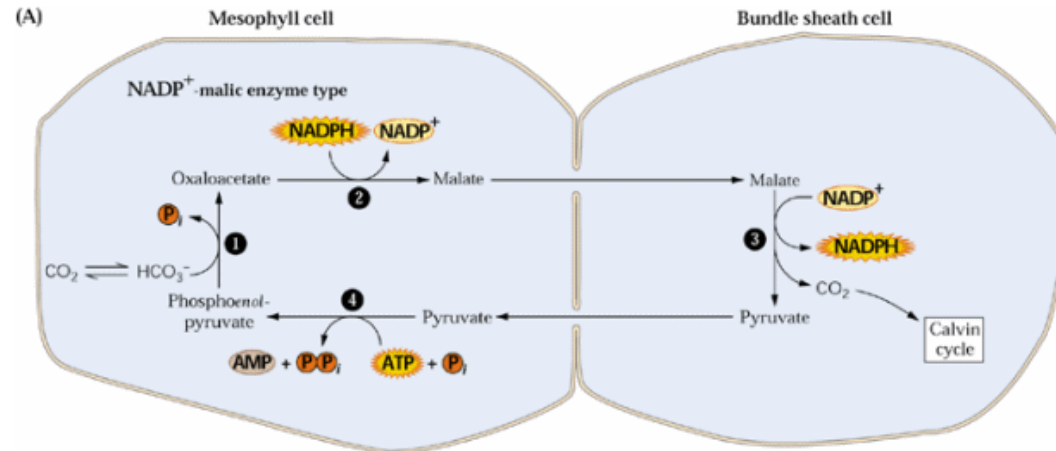


Quale è il ruolo fisiologico del trasporto ciclico di elettroni nelle piante superiori?

- **Modulare la produzione di ATP in piante a metabolismo C4:**

Nelle cellule della guaina del fascio entrambe le vie di trasporto ciclico sono molto attive, sebbene la via dipendente da NDH prevale su quella dipendente da PGR5.

Serve a bilanciare il rapporto NADPH:ATP



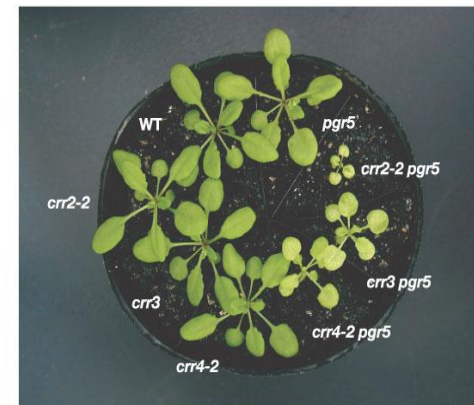
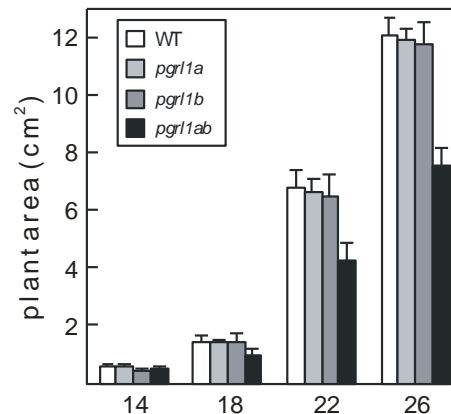
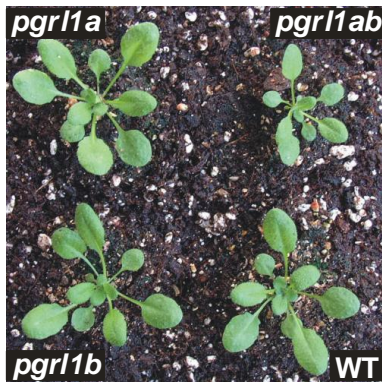
Quale è il ruolo fisiologico del trasporto ciclico di elettroni nelle piante superiori?

- **Generare un gradiente protonico (~10% del totale) per proteggere da danni ossidativi (NPQ):**

Il trasporto ciclico è particolarmente attivo in condizioni di alta luce, bassa concentrazione di CO₂, carenza idrica.

- **Modulare la produzione di ATP:NADPH sulla base delle necessità metaboliche:**

Il trasporto ciclico dipendente da PGR5 sembra avere un ruolo primario rispetto al trasporto ciclico mediato dal complesso NDH in piante C3



Credits

Giovanni DalCorso

Alexander Hertle

Prof. Dario Leister