



***Regolazione redox nel
cloroplasto***

Mirko Zaffagnini

***Laboratorio di Fisiologia Molecolare
delle piante,
Università di Bologna***

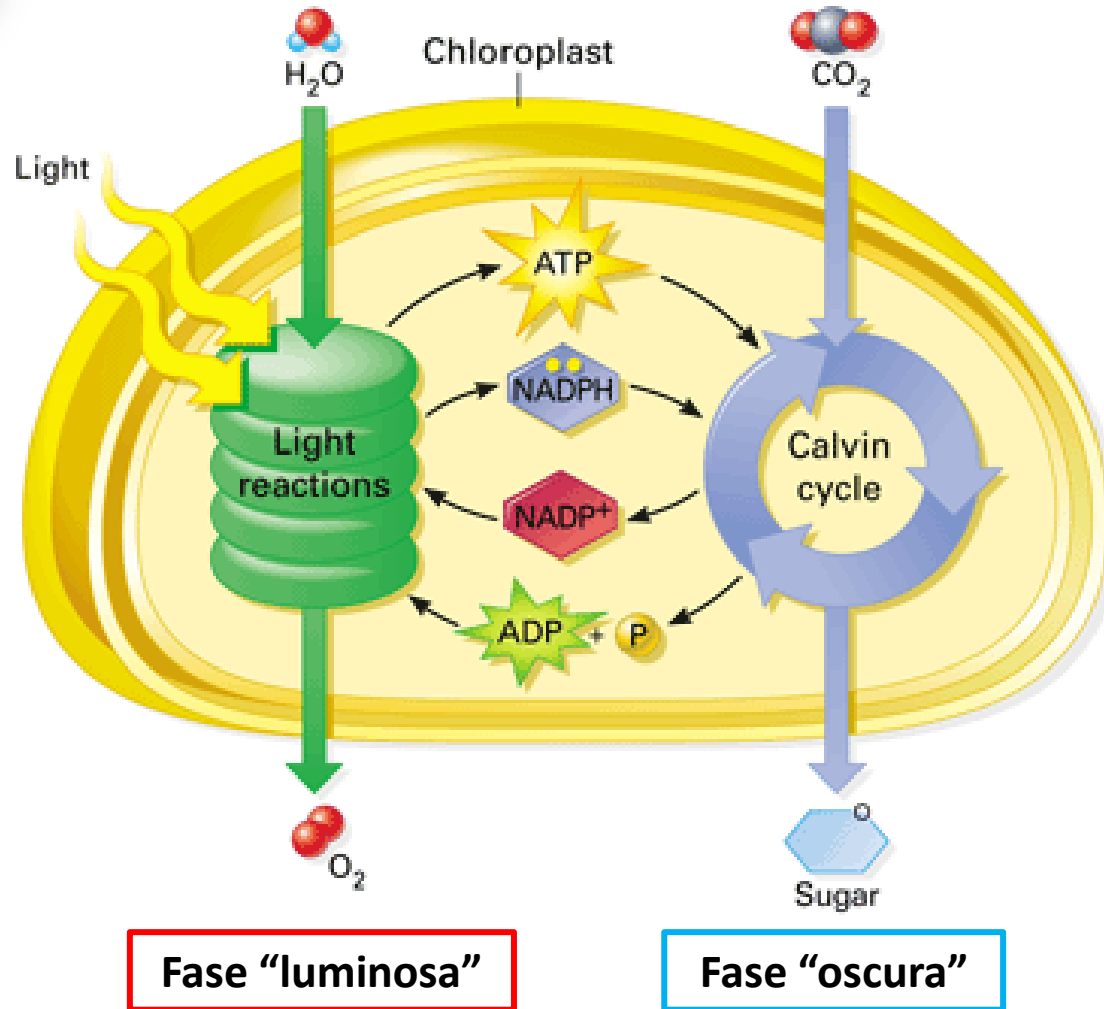




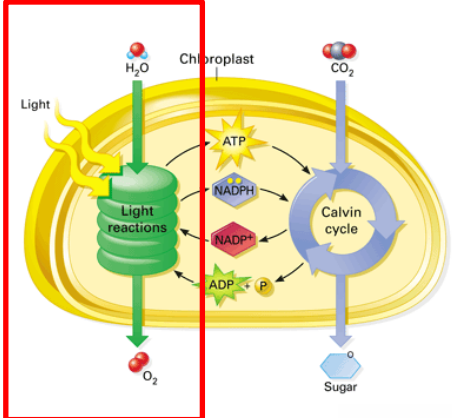
Alge verdi (Cr)



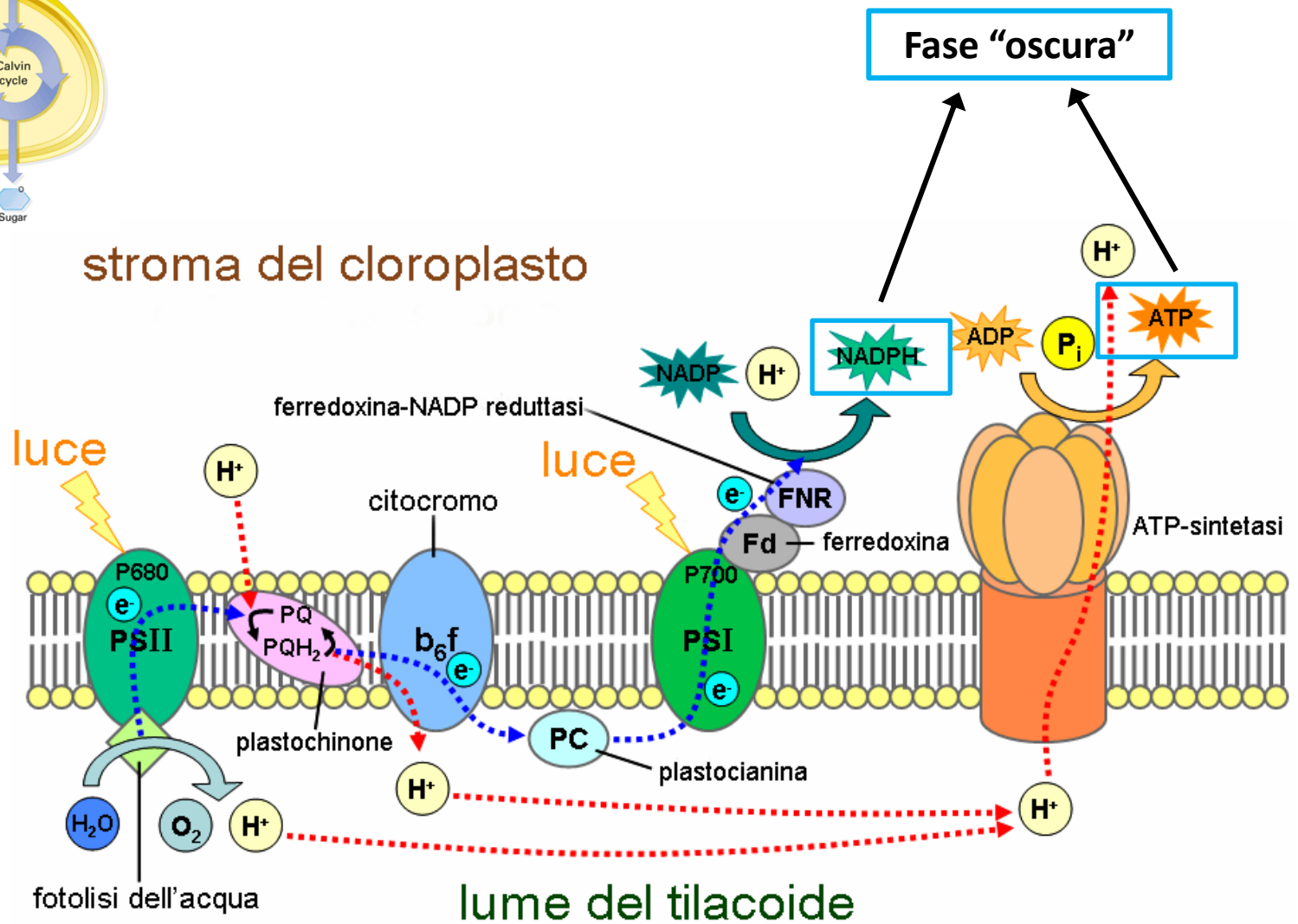
Piante superiori (At)



La fotosintesi ossigenica

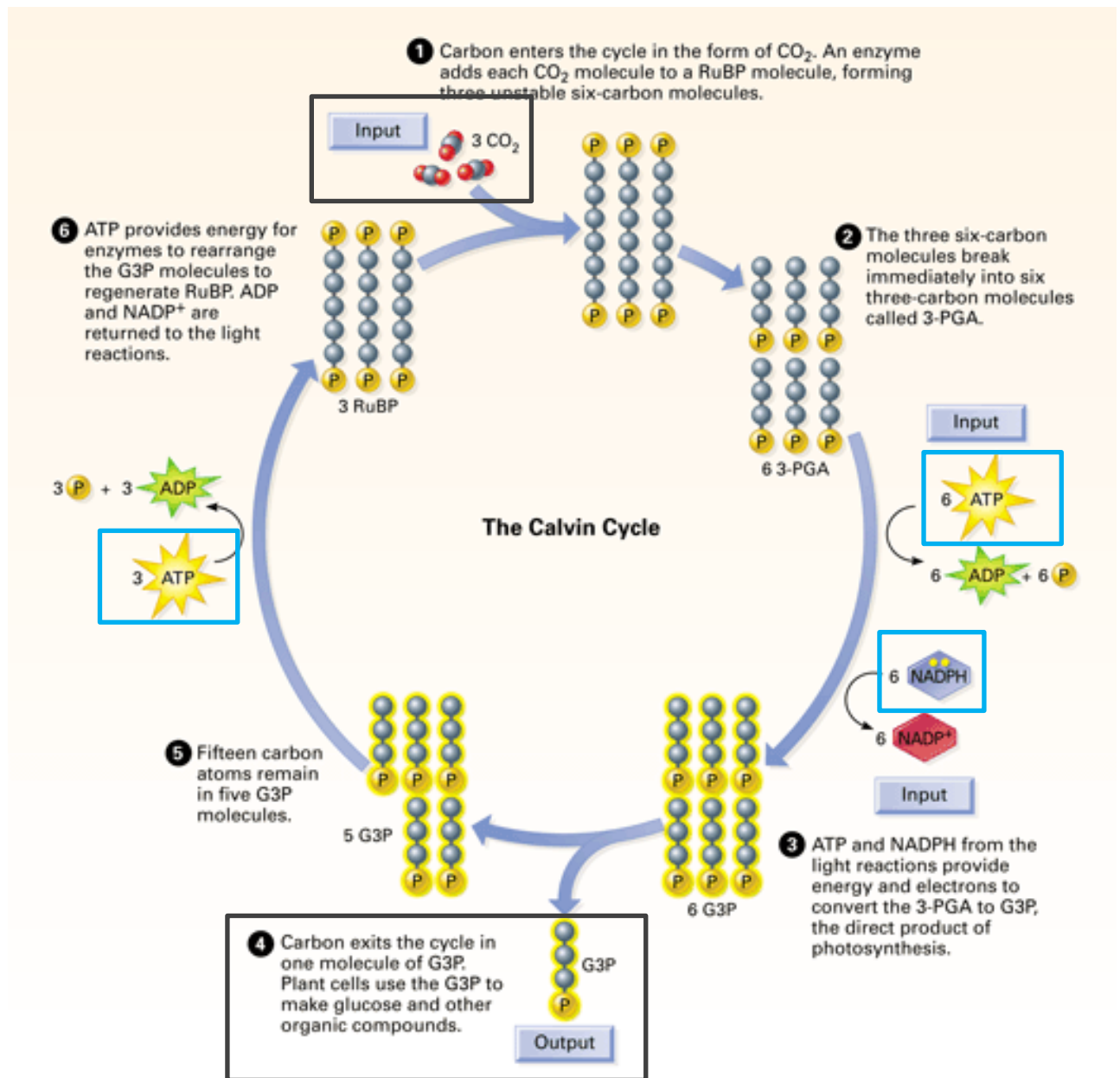
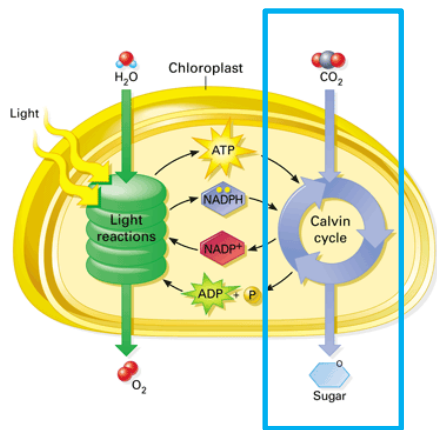


stroma del cloroplasto

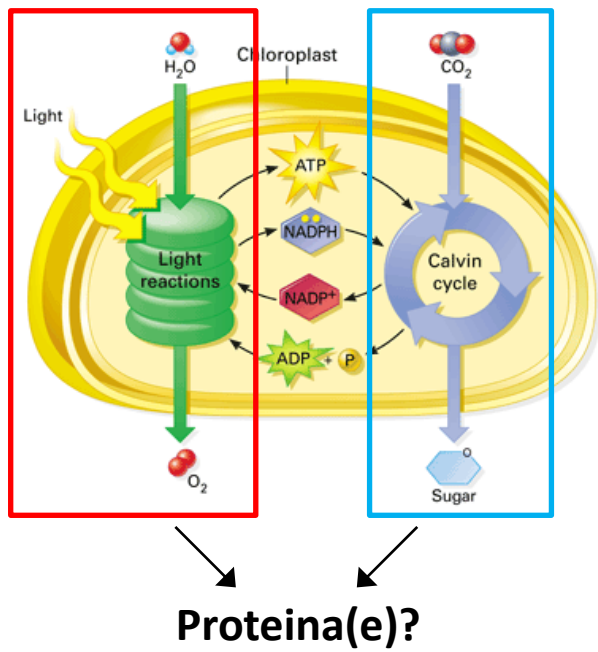


lume del tilacoide

La fase luminosa o fase luce-dipendente

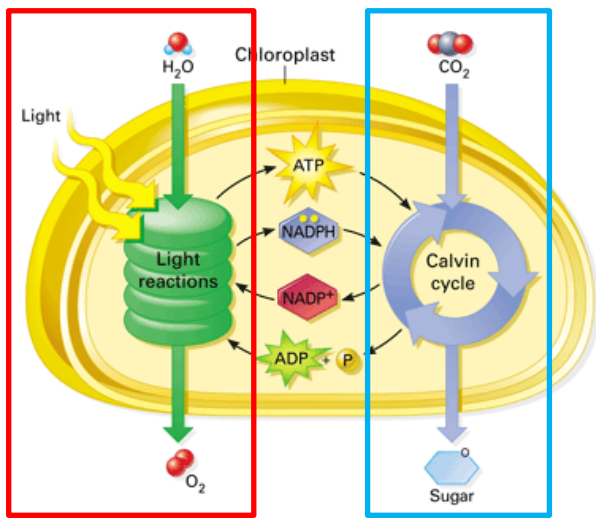


La fase oscura o Ciclo di Calvin-Benson



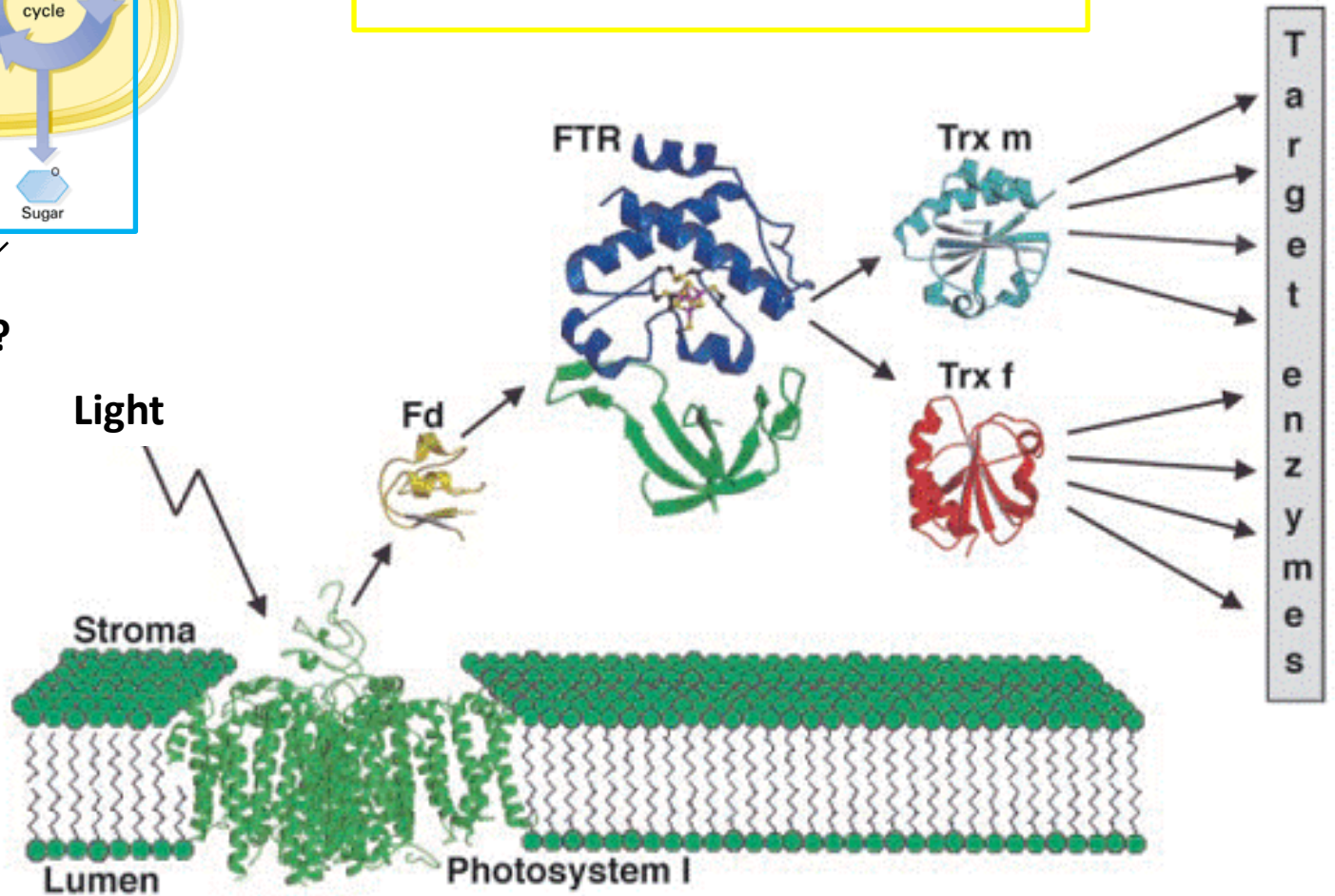
Proteina(e)?

La scoperta del sistema ferredossina/tioeredossina

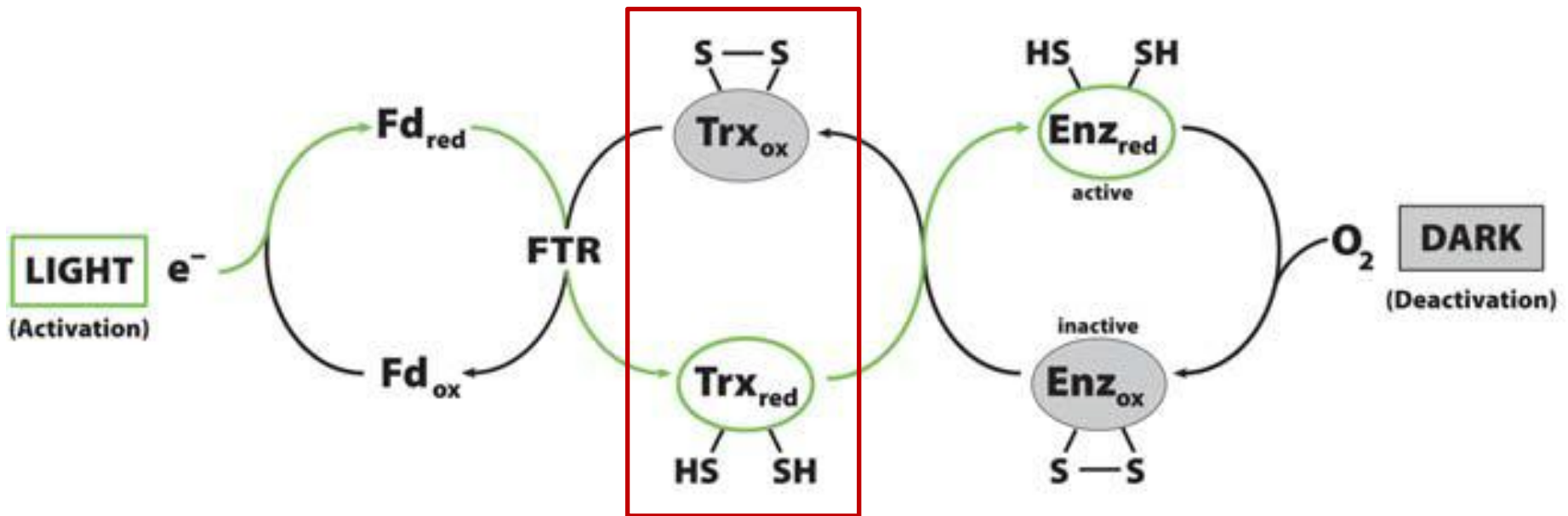


Fd: ferredossina
FTR: ferredossina:tiodrossina reductasi
TRX: tiodrossina

Proteina(e)?

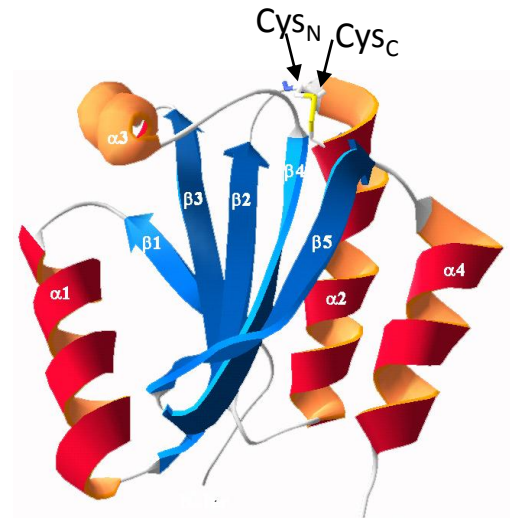


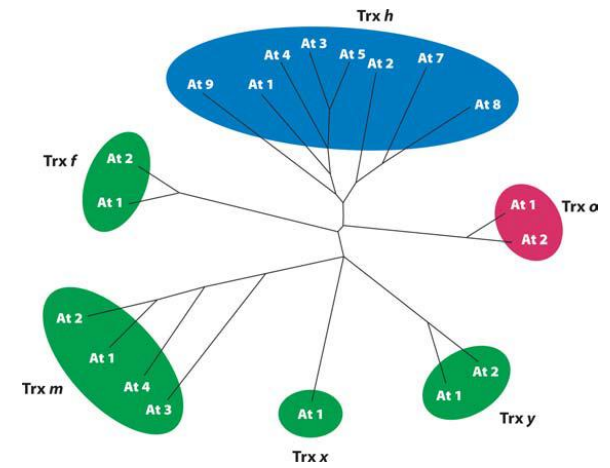
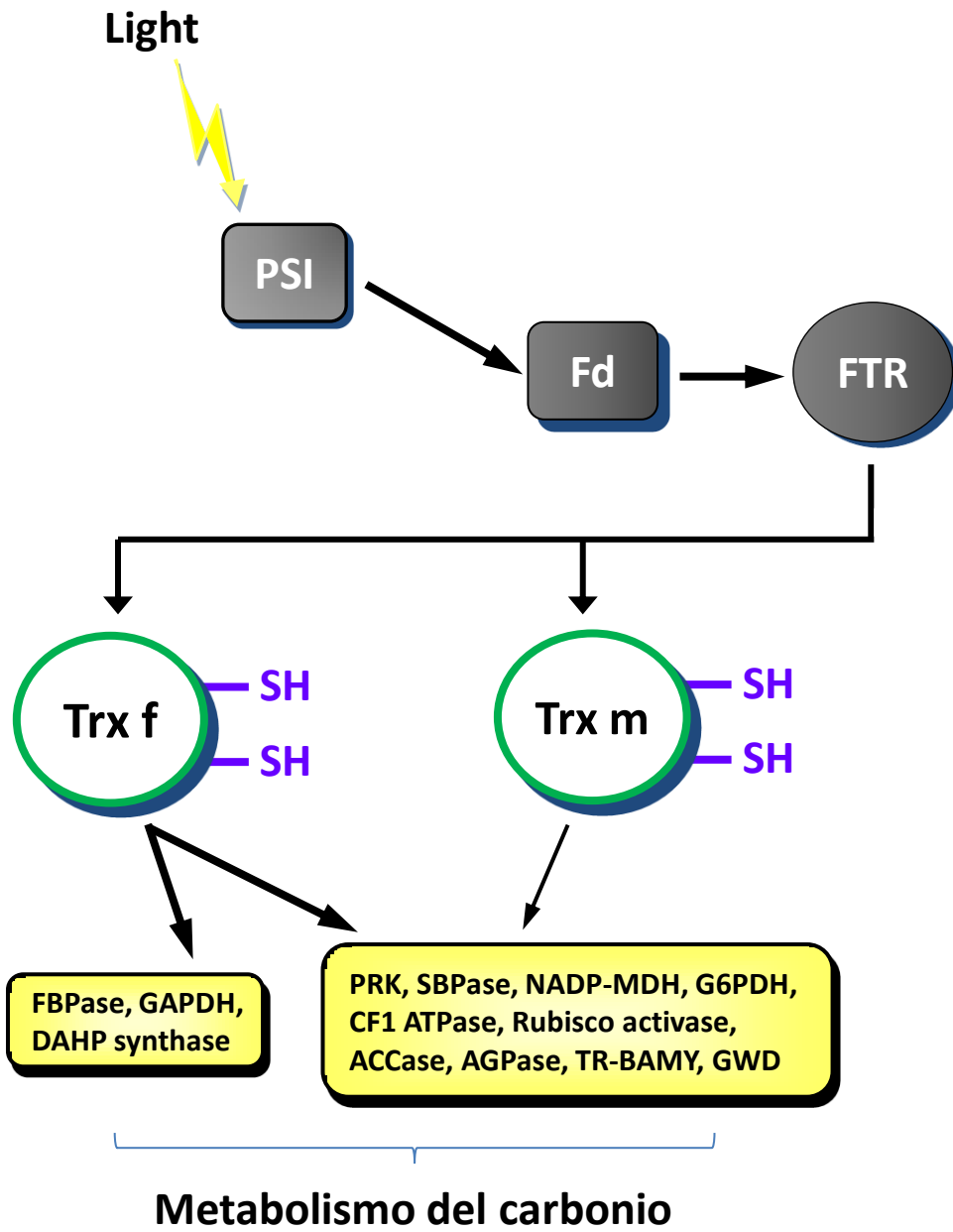
La scoperta del sistema ferredossina/tiodrossina



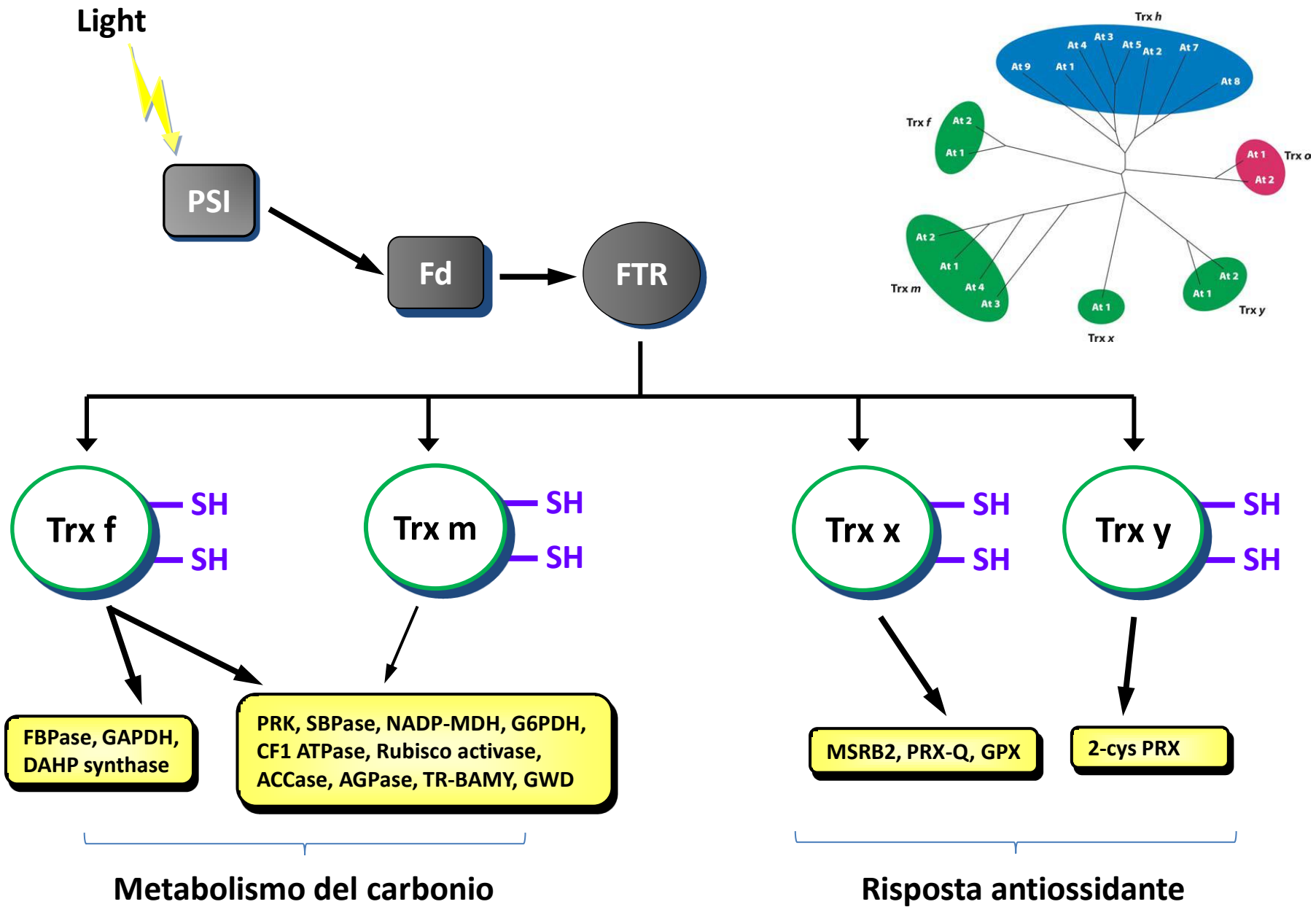
Tioredoxine (Trx):

- Piccole proteine di circa 12-14 kDa, solubili e termostabili
- Struttura 3D: 5 foglietti β circondati da 4 α -eliche
- Sito attivo: 2 cisteine conservate (W-**Cys_N**-(G/P)-P-**Cys_C**)
- Presente in tutti gli organismi viventi
- Nel cloroplasto: Trx-f e Trx-m

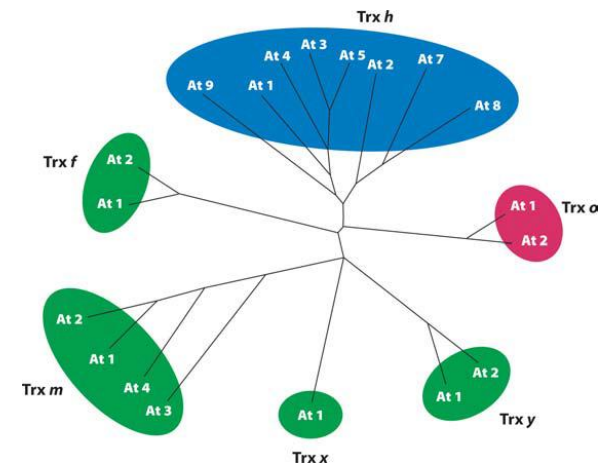




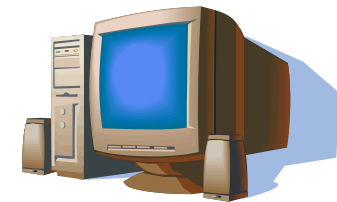
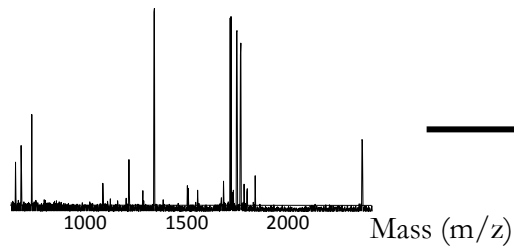
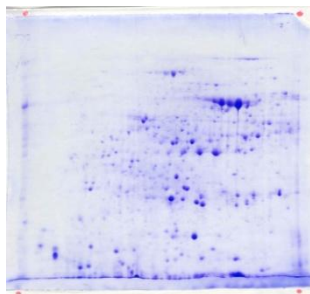
Tioredoxine cloroplastiche: target e ruolo fisiologico



Tioredoxine cloroplastiche: target e ruolo fisiologico



- **Identificare nuove proteine bersaglio delle Trx**
- **Organismi fotosintetici (At e Cr): genoma disponibile**
- **Approccio proteomico:**



9 Tioredossine



Approcci proteomici

**>400 target potenziali
(>130 nei cloroplasti)**

9 Tioedossine

Approcci proteomici

**>400 target potenziali
(>130 nei cloroplasti)**

Trasporto fotosintetico

Risposta antiossidante

Biosintesi AA e lipidi

Biosintesi isoprenoidi

Ciclo di Calvin

Metabolismo dell'amido

Metabolismo dello zolfo

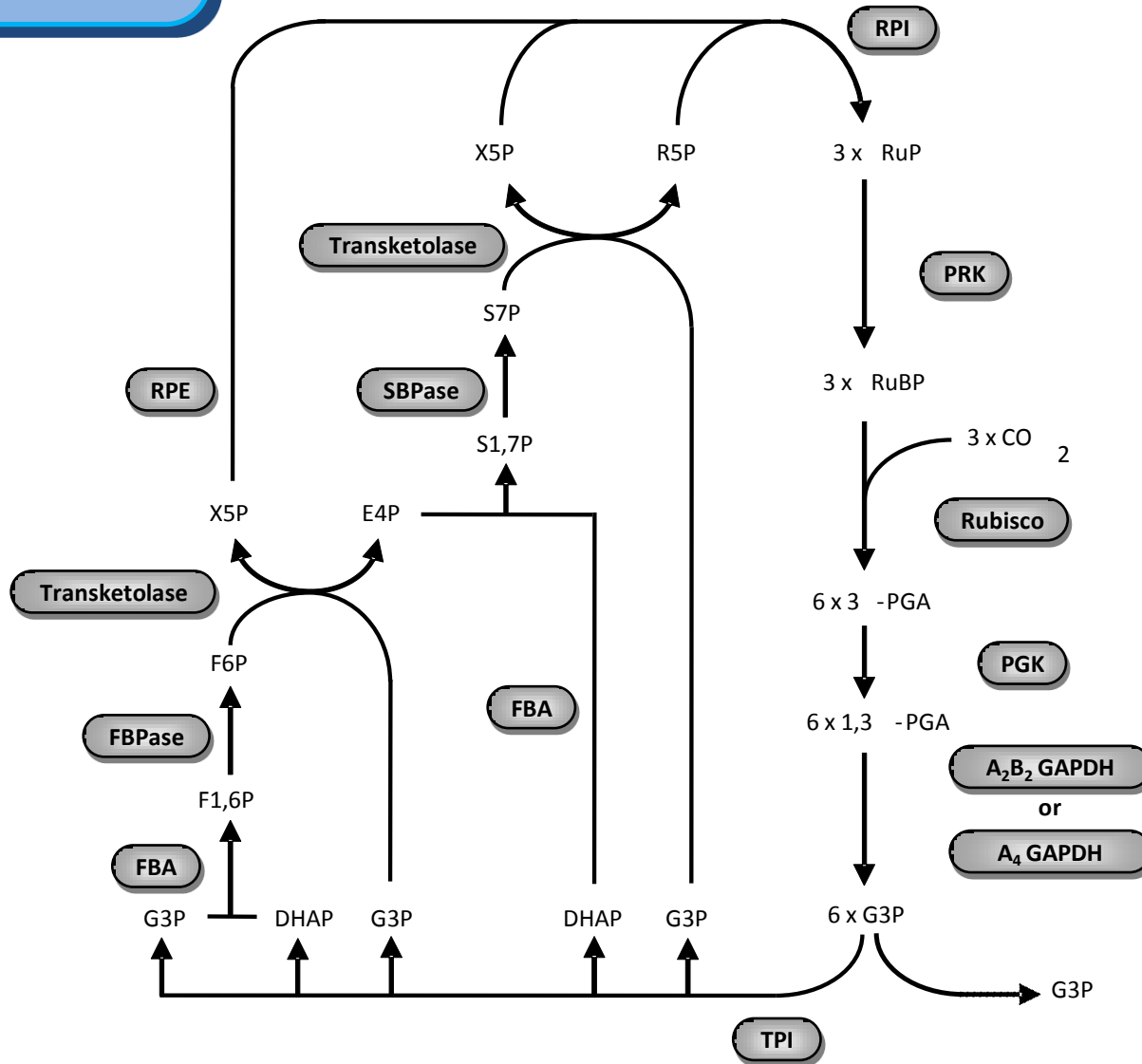
Metabolismo dell'azoto

Metabolismo dell'ATP

etc...

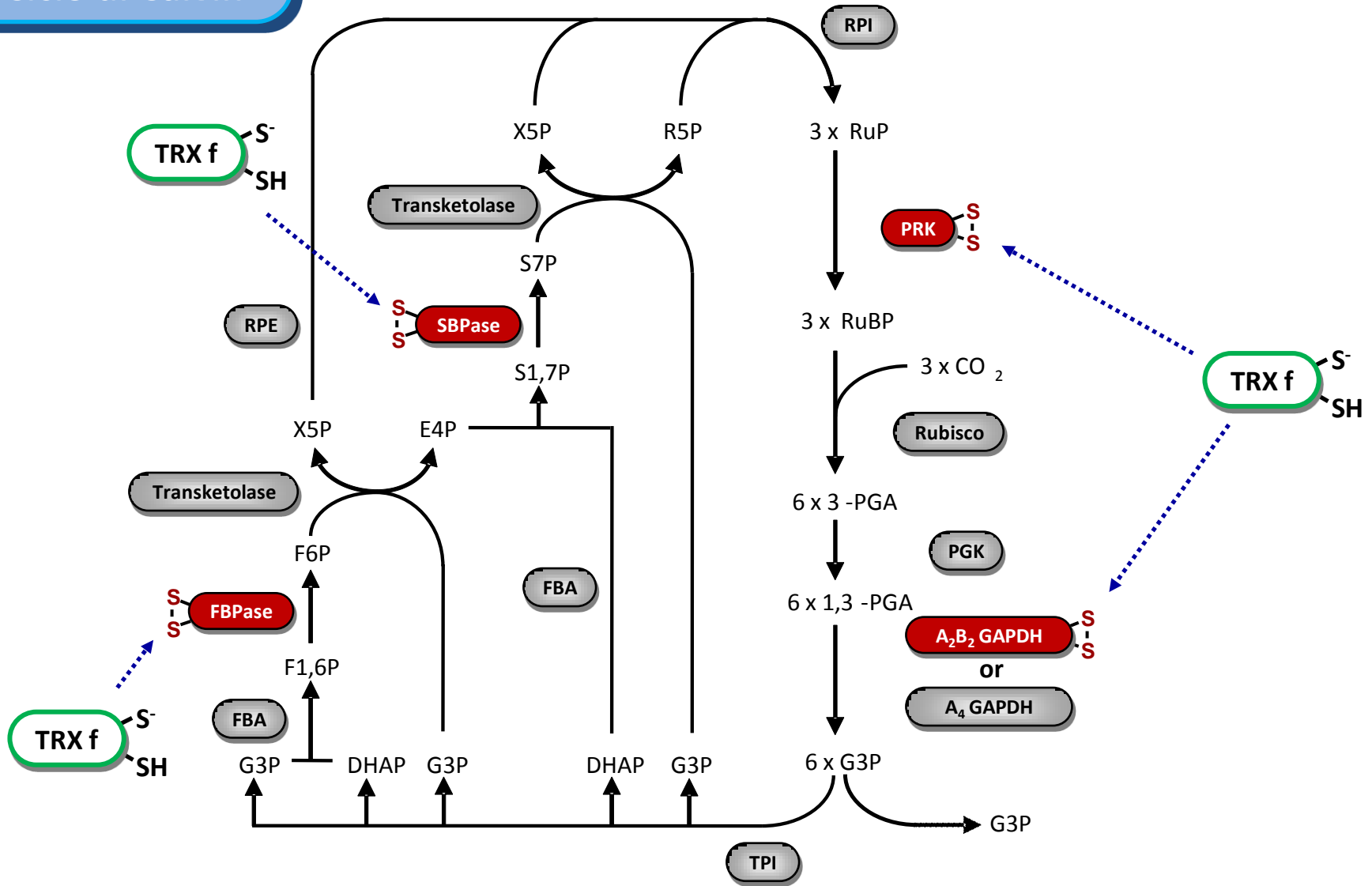
Proteomica redox: ponti S-S

Ciclo di Calvin



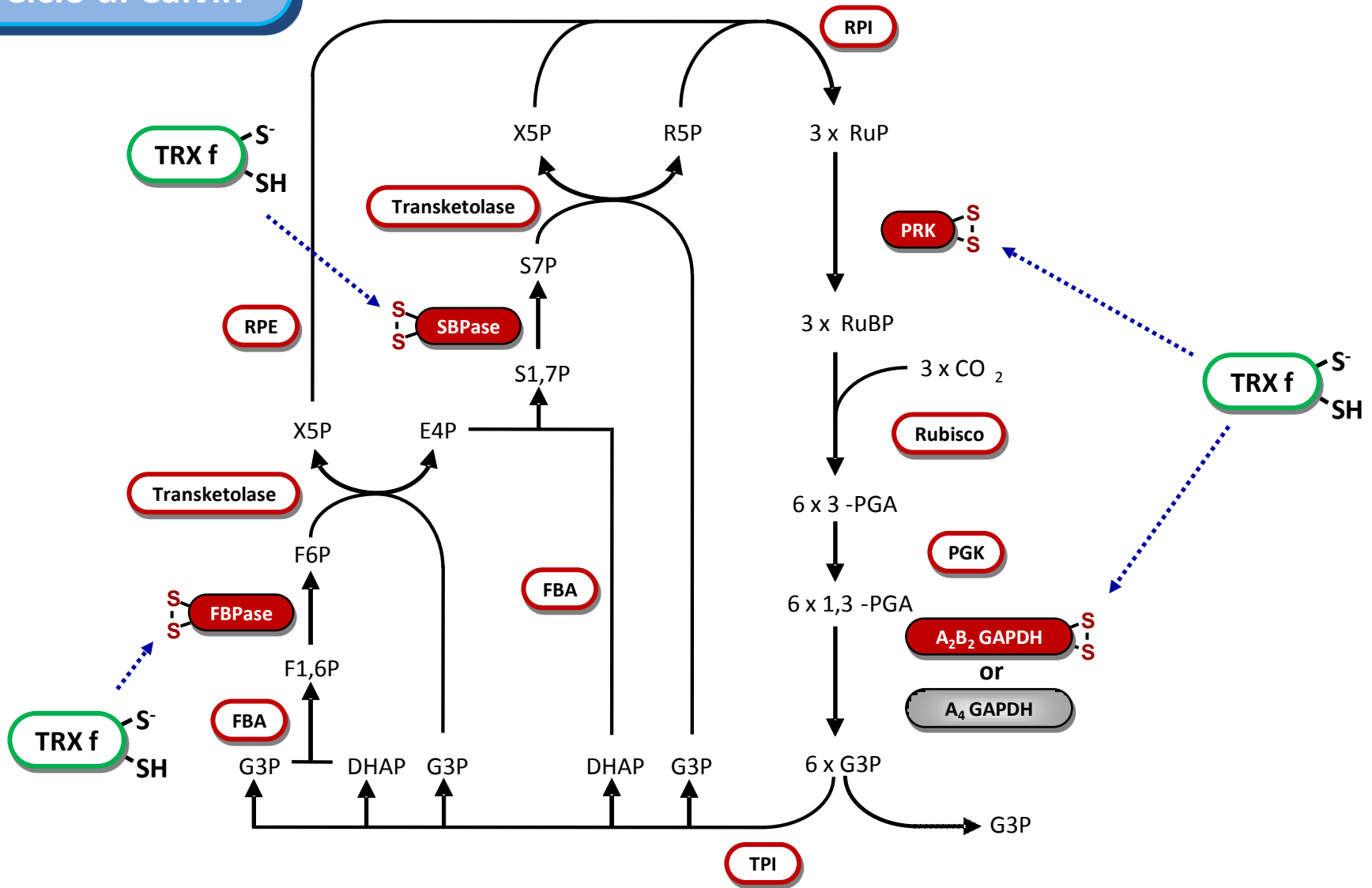
Regolazione redox del Ciclo di Calvin

Ciclo di Calvin



Regolazione redox del Ciclo di Calvin

Ciclo di Calvin



Regolazione redox del Ciclo di Calvin

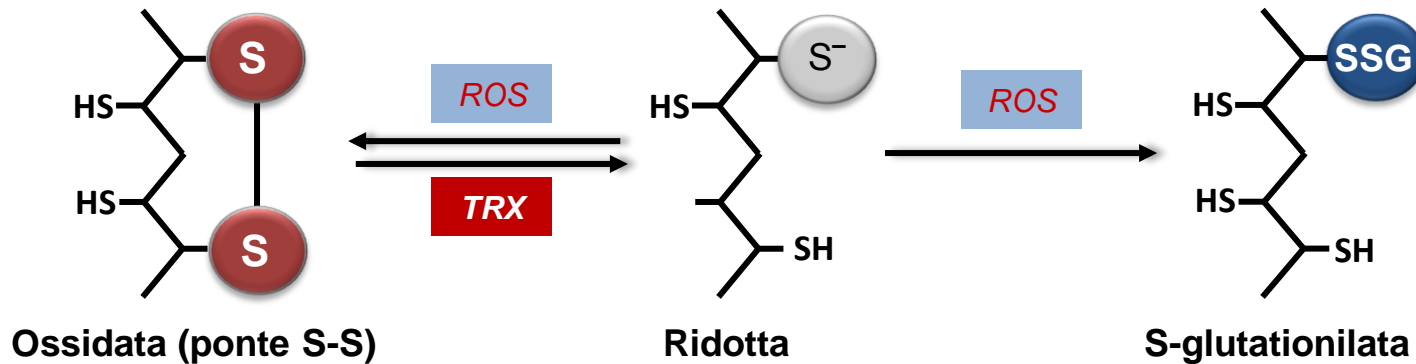
Condizioni normali

Condizioni di stress abiotico/biotico

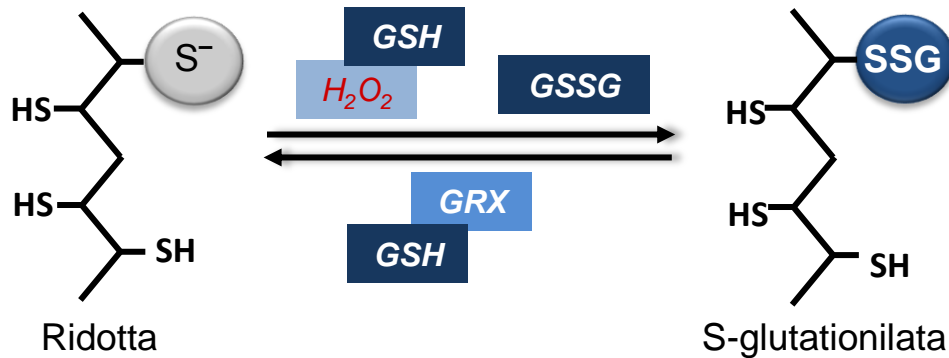
Specie reattive dell'ossigeno
(ROS: 1O_2 , $O_2^{\cdot-}$, H_2O_2)

Ossidazione
DNA / RNA
Proteine
Lipidi

Residui contenenti zolfo: **Cisteine e metionine**

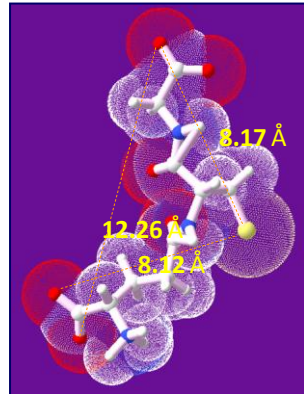


Interazione ROS-proteine



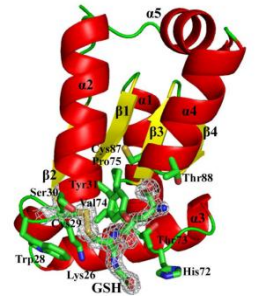
Glutazione

- Buffer redox (GSH e GSSG)
- S-glutationilazione
- Deglutationilazione



Glutaredossine (Grx):

- Simili alle Trx (TrxX fold e famiglia ampia)
- Sito attivo: (**Cys_N**-X-X-(**Cys_C**/S)
- Sito di binding per il GSH

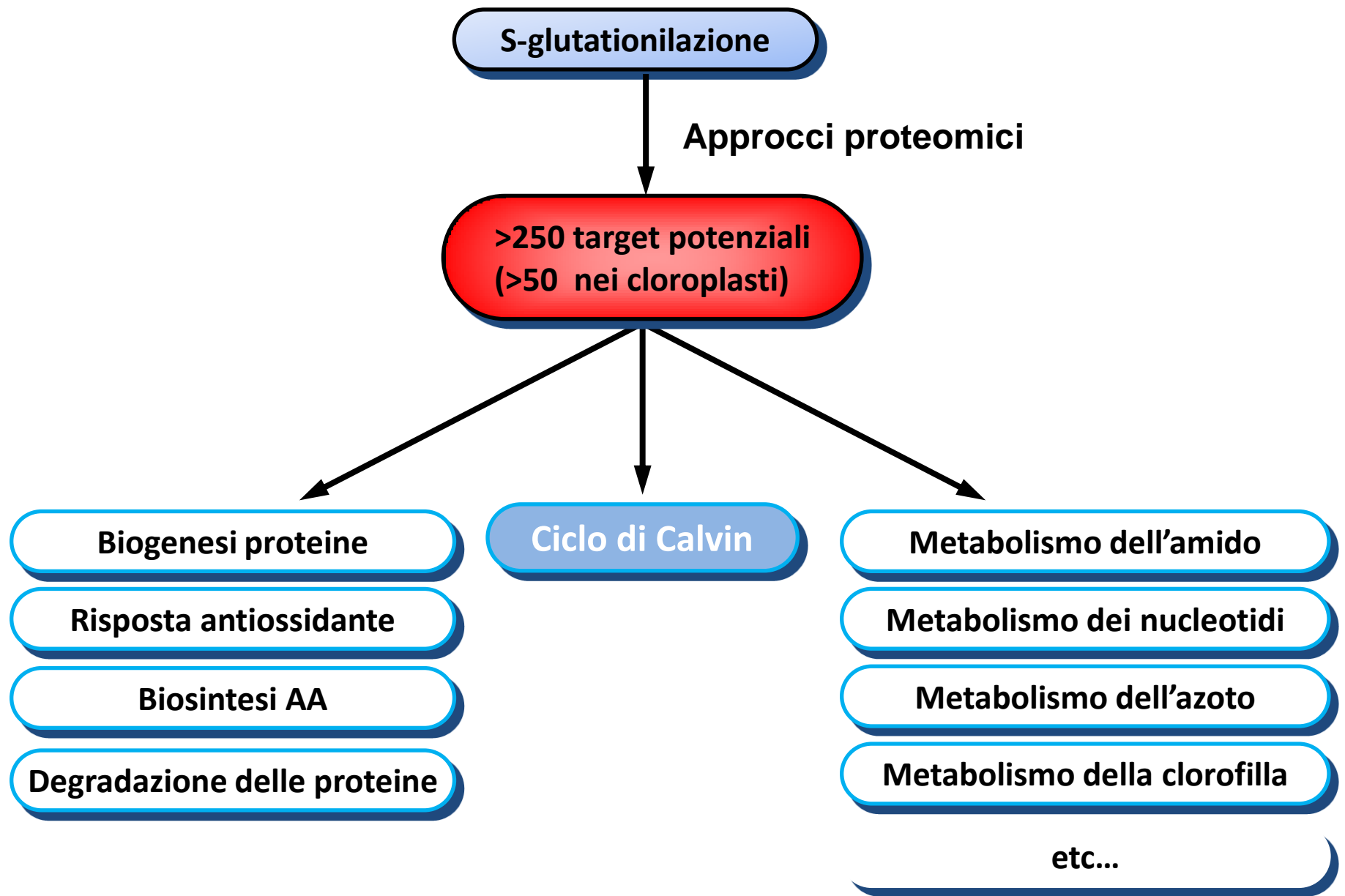


S-glutationilazione

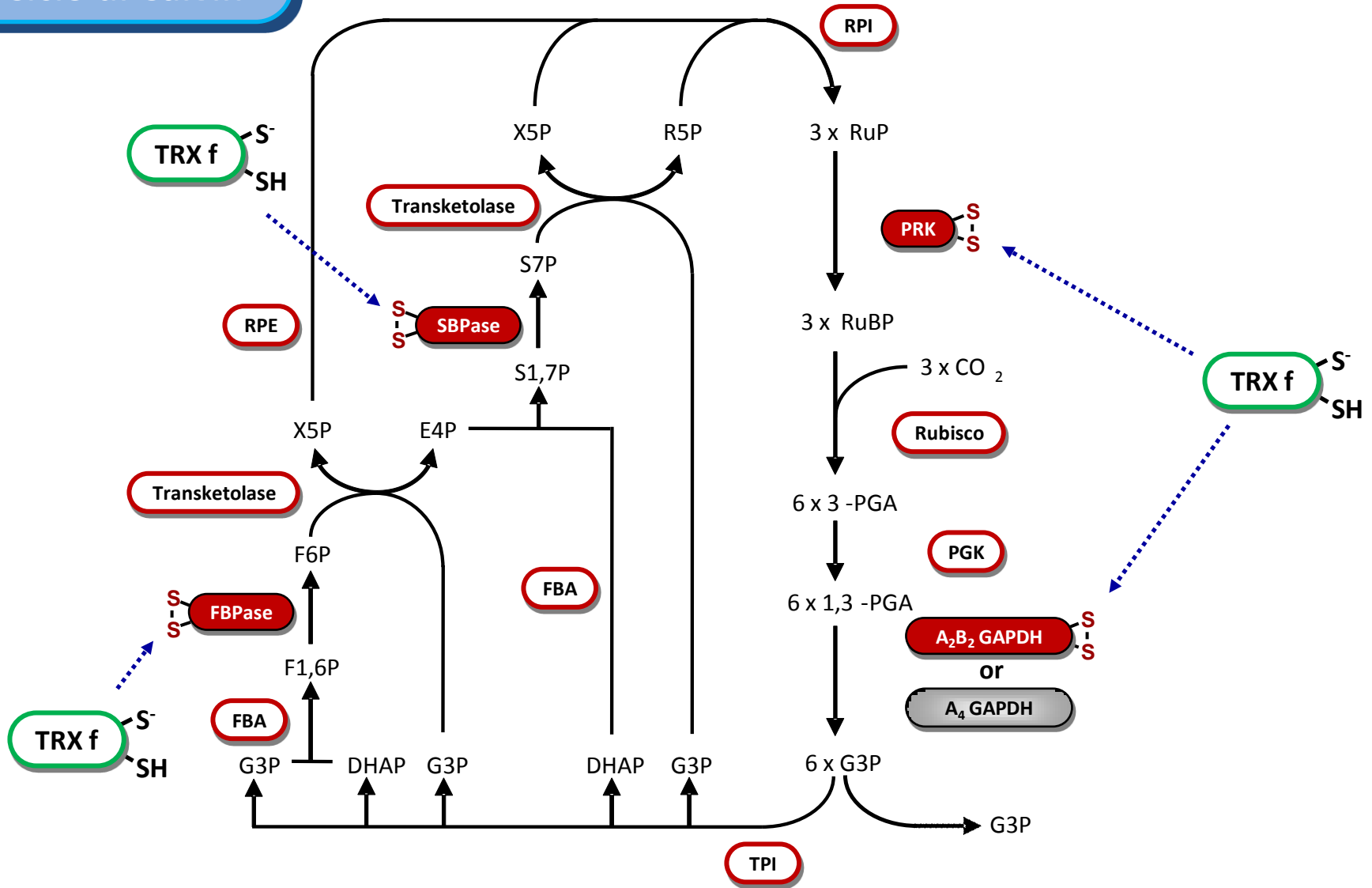


Approcci proteomici

**>250 target potenziali
(>50 nei cloroplasti)**

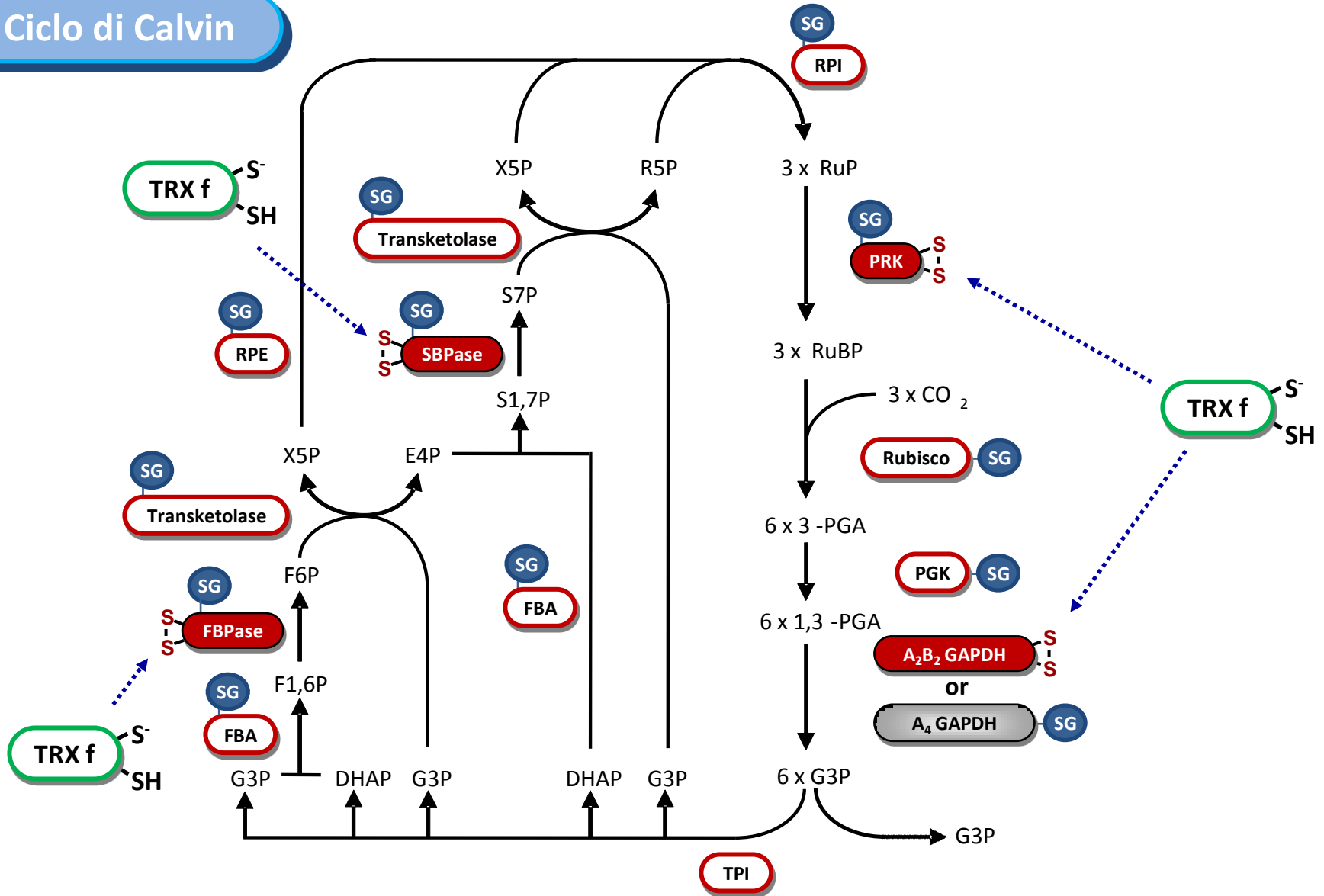


Ciclo di Calvin

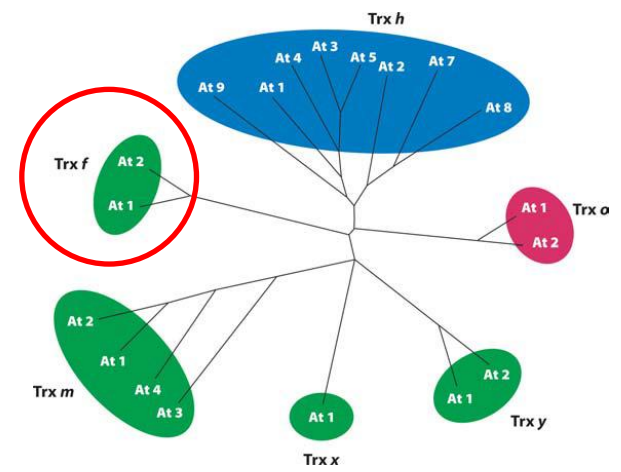


Regolazione redox del Ciclo di Calvin

Ciclo di Calvin

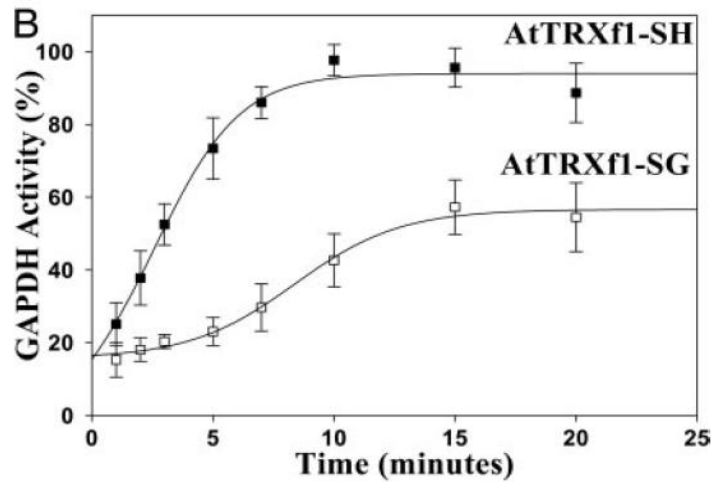
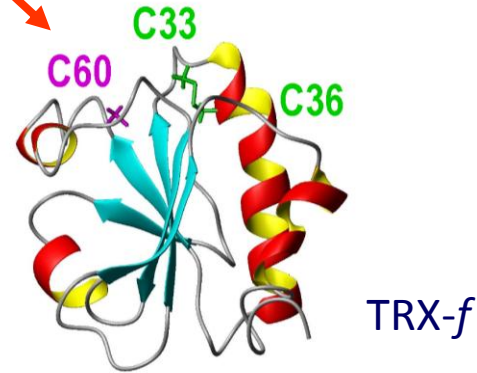
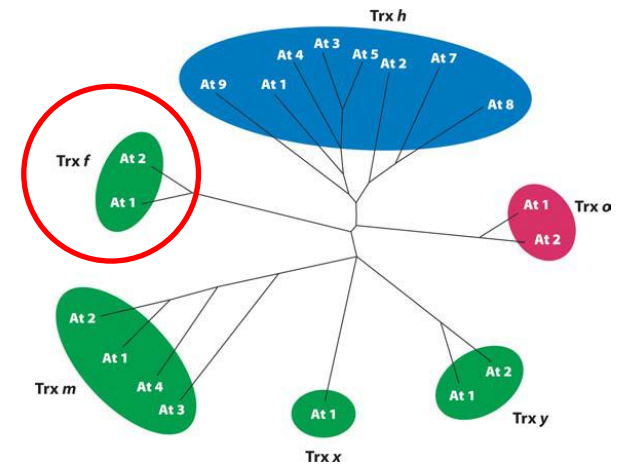


Regolazione redox del Ciclo di Calvin



Glutathionilazione della Tioredossina f

Tra le diverse Trx cloroplastiche solo la TRX-f subisce glutationilazione su una cisteina localizzata vicino al sito attivo



La glutationilazione della AtTRX f riduce la sua capacità di attivare gli enzimi target in condizioni di luce

Glutationilazione della Tioredossina f

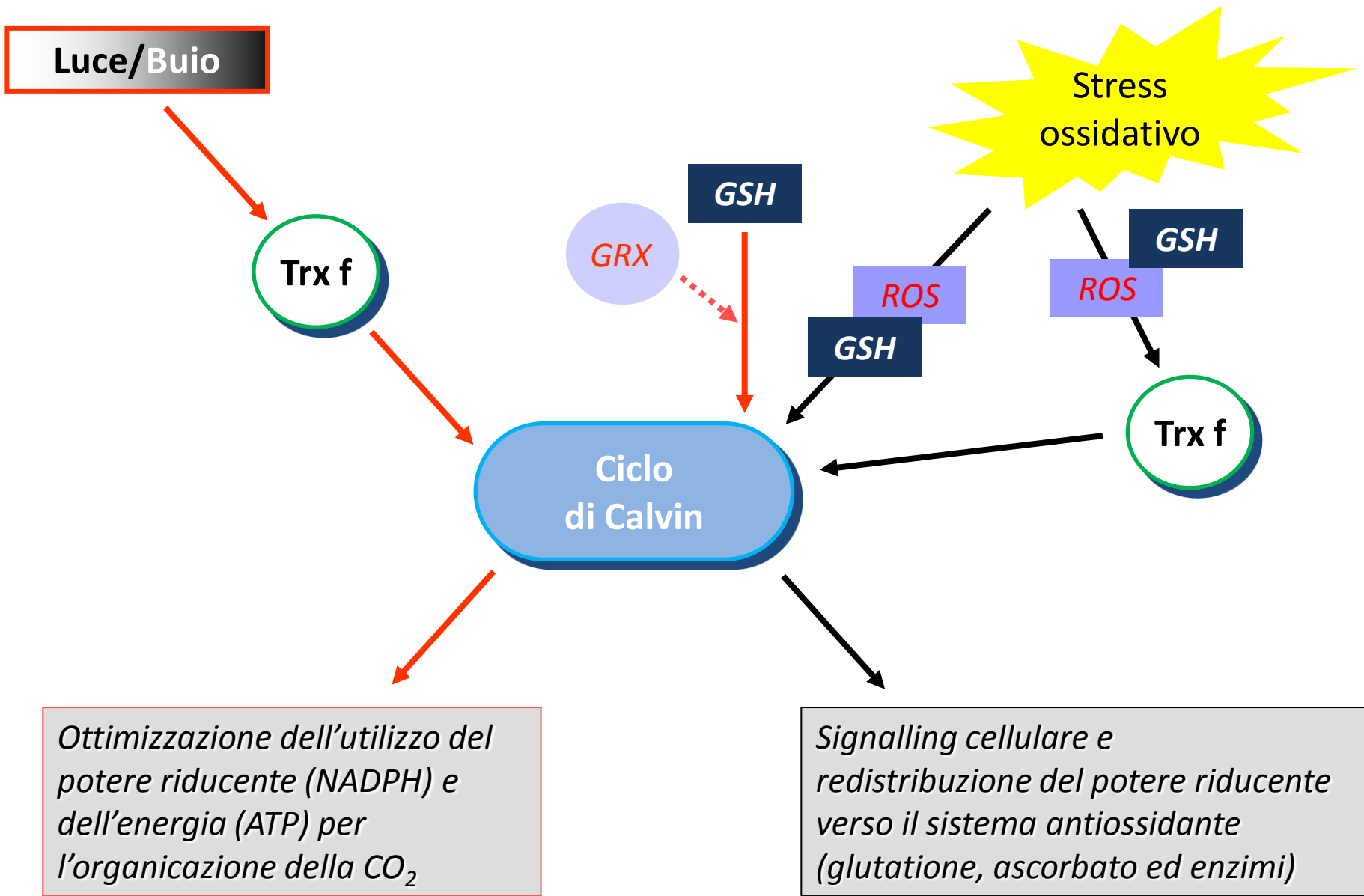
Luce/Buio

Trx f

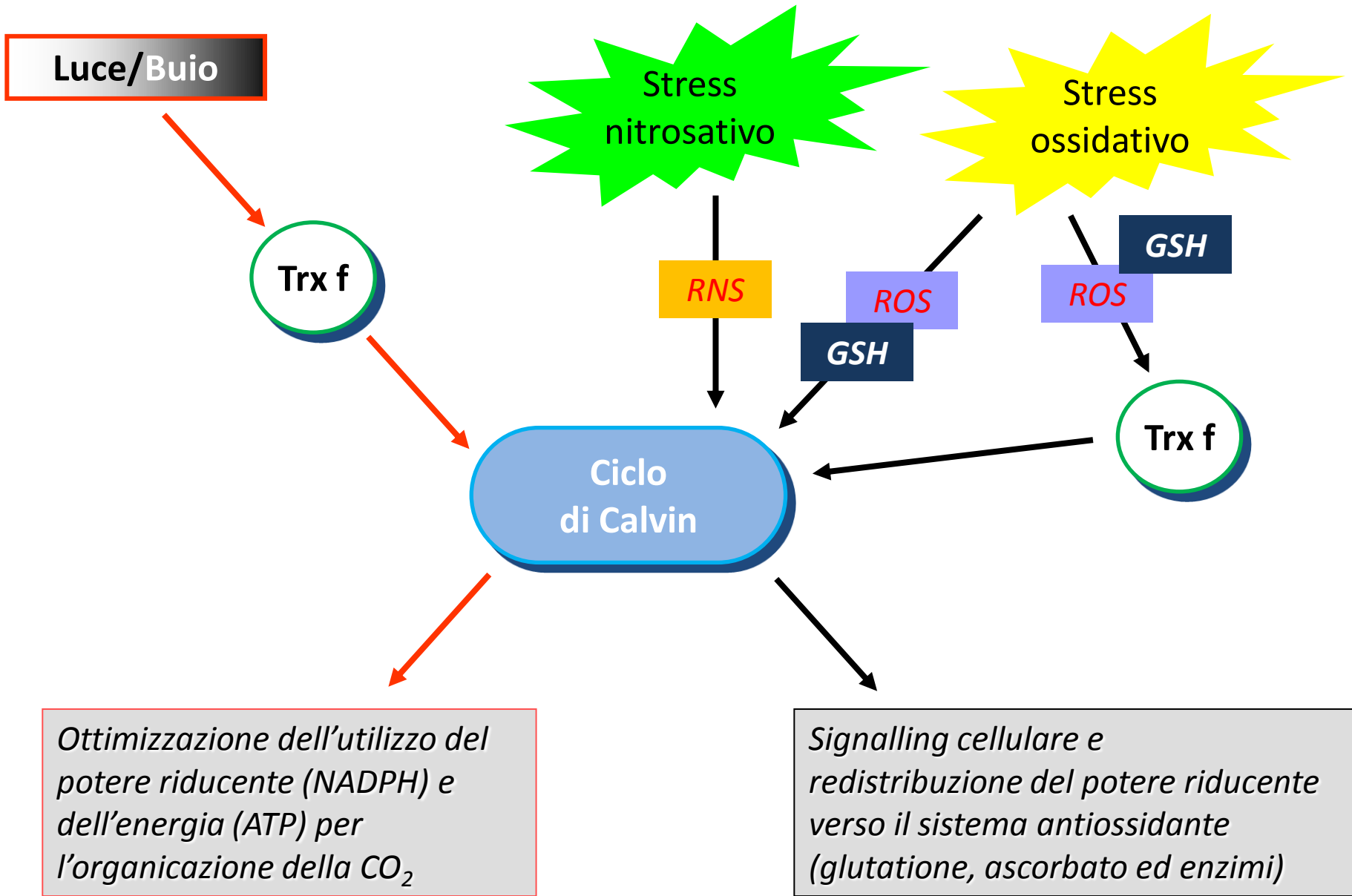
Ciclo
di Calvin

*Ottimizzazione dell'utilizzo del
potere riducente (NADPH) e
dell'energia (ATP) per
l'organizzazione della CO₂*

Regolazione del Ciclo di Calvin: luce vs buio e luce/ROS



Regolazione del Ciclo di Calvin: luce vs buio e luce/ROS



Regolazione del Ciclo di Calvin: luce vs buio e luce/ROS

Laboratorio di Fisiologia Molecolare delle Piante



Francesca Sparla



Paolo Pupillo



Paolo Trost

IBPC

**Institut de Biologie Physico-
Chimique (CNRS) Paris, FR**

Stéphane Lemaire

**Institut de Biotechnologie des
Plantes (CNRS) Orsay, FR**

Myroslawa Miginiac-Maslow



