



Memoria del LII Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina, UNAM

## Papel del complejo III mitocondrial como andamio de los respirasomas eucariotes

### Mitochondrial complex III acts as scaffold in eukaryotic respirasomes

Miranda-Astudillo Héctor Vicente<sup>1</sup>  y Rico-Luna Anaiza<sup>1</sup>

1. Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México.

✉ Tercer Circuito Exterior S/N, Col. Copilco Universidad, Alcaldía Coyoacán, Cd. de México, C.P. 04510, México.  
Tel: +52 (55) 5622 9179; [hmiranda@iibiomedicas.unam.mx](mailto:hmiranda@iibiomedicas.unam.mx)

Editor responsable: Héctor Riveros-Rosas

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2025.49.04>

Recibido: 6 de febrero de 2025

Revisado: 16 de julio de 2025

Aceptado: 17 de julio de 2025

#### Resumen

La cadena respiratoria acopla la transferencia de electrones con el bombeo de protones a través de la membrana interna mitocondrial, lo que genera una fuerza protón motriz que es utilizada por la ATP sintasa para la producción de ATP. Los complejos respiratorios involucrados en este proceso pueden asociarse entre sí para la formación de supercomplejos y respirasomas, los cuales se propone, tienen funciones estructurales, de regulación de la producción de especies reactivas de oxígeno, y de mejorar la eficiencia catalítica, entre otras. Con la descripción de las estructuras de alta resolución de los supercomplejos de eucariotes de diferentes linajes evolutivos, es evidente que existe una conservación en la asociación de los complejos respiratorios. A diferencia de los complejos I, IV y V, el complejo III mitocondrial presenta un alto nivel de conservación estructural entre diferentes linajes de eucariotes, adicionalmente, este complejo se localiza en el centro de los respirasomas, por lo que podría tener un papel fundamental como andamio de los mismos.

**Palabras claves:** respirasoma mitocondrial, supercomplejos mitocondriales, fosforilación oxidativa, Complejo III.

#### Abstract

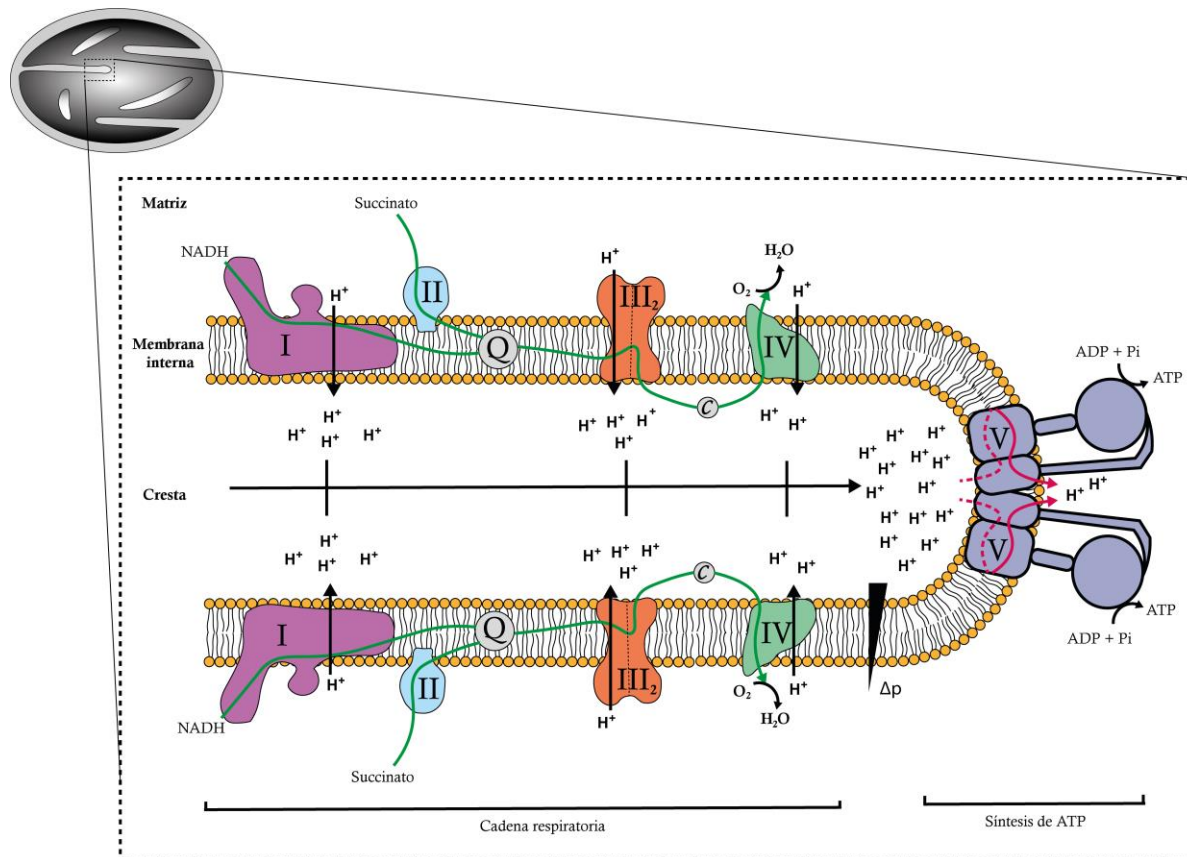
The respiratory chain couples the transfer of electrons with the pumping of protons across the inner mitochondrial membrane which generates a proton motive force used by the ATP synthase for ATP production. The respiratory complexes involved in this process can associate with each other to form supercomplexes and respirasomes. These supercomplexes seem to have structural functions, to regulate reactive oxygen species production, improve catalytic efficiency, among other functions. With the description of the high-resolution structures of supercomplexes from different eukaryotic lineages, the conservation in the organization of the associations between respiration complexes became evident. Unlike complexes I, IV and V, mitochondrial complex III presents a high degree of structural conservation between different lineages of eukaryotes and sits in the center of respirasomes, which is why it might act as a scaffold for respirasomes.

**Keywords:** mitochondrial respirasome, mitochondrial supercomplexes, oxidative phosphorylation, Complex III.

### Fosforilación oxidativa

La mitocondria surgió en un evento de endosimbiosis primaria (1) entre una  $\alpha$ -proteobacteria (2) y una arquea perteneciente al filo Asgardarchaeota (3). Dicho proceso originó a los primeros eucariotes que se diversificaron en múltiples linajes (4) que en su mayoría corresponden a organismos unicelulares (5). Posteriormente, la fotosíntesis de las cianobacterias fue adquirida en un segundo evento de endosimbiosis primaria, que subsecuentemente fue transferida a otros eucariotes en transformaciones endosimbióticas independientes, lo cual generó organismos fotosintéticos secundarios y terciarios (6). Esta serie de sucesos representa uno de los ejemplos más espectaculares de innovación evolutiva, que aumentaría la riqueza génica de dichos organismos y que dio origen a linajes de gran importancia ecológica, médica y biotecnológica.

La mitocondria desempeña funciones cruciales dentro de la fisiología celular; además de producir ATP, lleva a cabo el metabolismo oxidativo de los ácidos tricarboxílicos, aminoácidos, lípidos, nucleótidos y la síntesis de clústeres hierro-azufre (7). Este organelo sintetiza la mayor parte del ATP celular mediante la fosforilación oxidativa (OXPHOS, del inglés oxidative phosphorylation), que comprende la cadena respiratoria y la síntesis de ATP (Figura 1), a través de complejos multiproteicos que se encuentran embebidos en la membrana interna. El complejo I (CI) cataliza el paso de electrones del NADH a la coenzima  $Q_{10}$  (Q) mientras que el complejo II (CII) toma el poder reductor del succinato proveniente del Ciclo de Krebs para la reducción de la Q. El complejo III dimérico (CIII<sub>2</sub>) acepta ubiquinol (QH<sub>2</sub>) de dos



**Figura 1. Fosforilación oxidativa.** La mitocondria presenta dos membranas lipídicas (membrana interna y membrana externa) que crean compartimentos especializados. El plegamiento de la membrana interna por la ATP sintasa contribuye a la formación de las crestas mitocondriales donde se lleva a cabo la fosforilación oxidativa por cuatro complejos respiratorios (CI – CIV) y por la ATP sintasa (CV). El poder reductor entra a la cadena respiratoria como NADH o succinato en el complejo I y II, respectivamente, los cuales llevarán a cabo la reducción de la quinona (Q). La Q reducida (QH<sub>2</sub>) es oxidada por el CIII<sub>2</sub> que lleva a cabo la reducción del citocromo *c* (*c*). El complejo IV transfiere los electrones del citocromo *c* reducido al oxígeno molecular formando agua. La transferencia de electrones se encuentra acoplada a la generación de un potencial electroquímico (fuerza protón motriz, Δ*p*) por el bombeo de protones realizado por los complejos CI, CIII<sub>2</sub> y CIV. Finalmente, la ATP sintasa lleva a cabo la síntesis de ATP mediante un mecanismo de catálisis rotacional. **Abreviaturas:** I: NADH:quinona oxido-reductasa (rosa); II: succinato:quinona oxido-reductasa (cian); III: quinol:citocromo *c* oxido-reductasa (naranja); IV: citocromo *c* oxidasa (verde); V: ATP sintasa (gris); Q (circulo gris grande) y citocromo *c* (circulo gris chico).

pozas de Q independientes, una proveniente de la oxidación del NADH por el CI y otra del FADH<sub>2</sub> (como grupo prostético) por el CII (8, 9), y transfiere los electrones al citocromo *c* (cyt *c*) que a su vez es utilizado por el complejo IV (CIV) para la reducción del oxígeno molecular para la formación de agua (10). La Q es una molécula hidrofóbica que se difunde rápidamente en la membrana interna mitocondrial, mientras que el cyt *c* es soluble y se encuentra adherido a la membrana de las crestas mitocondriales; ambos actúan como acarreadores móviles de electrones y conectan la transferencia de electrones entre los complejos respiratorios (11).

Los complejos I, III y IV acoplan la transferencia de electrones con la translocación de protones desde la matriz mitocondrial hacia el interior de la cresta mitocondrial lo cual genera un gradiente electroquímico denominado fuerza protón motriz ( $\Delta p$ ) (12), que es aprovechado por la ATP sintasa para la producción de ATP mediante un mecanismo de catálisis rotacional (13).

#### **Organización de los complejos respiratorios en la membrana mitocondrial interna**

El estudio de la fosforilación oxidativa dio lugar a la propuesta de diferentes modelos que buscaban explicar tanto los mecanismos como la organización de los complejos respiratorios en la mitocondria (Figura 2). En el modelo sólido, se estableció que los componentes de la cadena respiratoria se asocian física y ordenadamente en la membrana interna mitocondrial, de tal manera que se garantiza una alta eficiencia en el transporte de los electrones (8, 9, 14). Dicha propuesta se basó en la copurificación de los complejos CI + CIII<sub>2</sub> (15) y CII + CIII<sub>2</sub> (16) en mitocondrias de corazón de bovino (17). Éste modelo fue reemplazado por el modelo fluido o modelo de colisiones aleatorias del transporte de electrones (*random collision model* en inglés) donde se rechaza la existencia de una asociación transitoria o permanente de los componentes redox en la membrana interna mitocondrial (14). En contraste al modelo sólido, en el modelo fluido, se postula que todos los componentes redox difunden lateralmente en la membrana de forma independiente y que las tasas de difusión de estos tienen una influencia directa en el proceso cinético completo del transporte de electrones (9, 14). Los acarreadores móviles de electrones (Q y citocromo *c*) estarían encargados del acoplamiento de la cadena respiratoria (14).

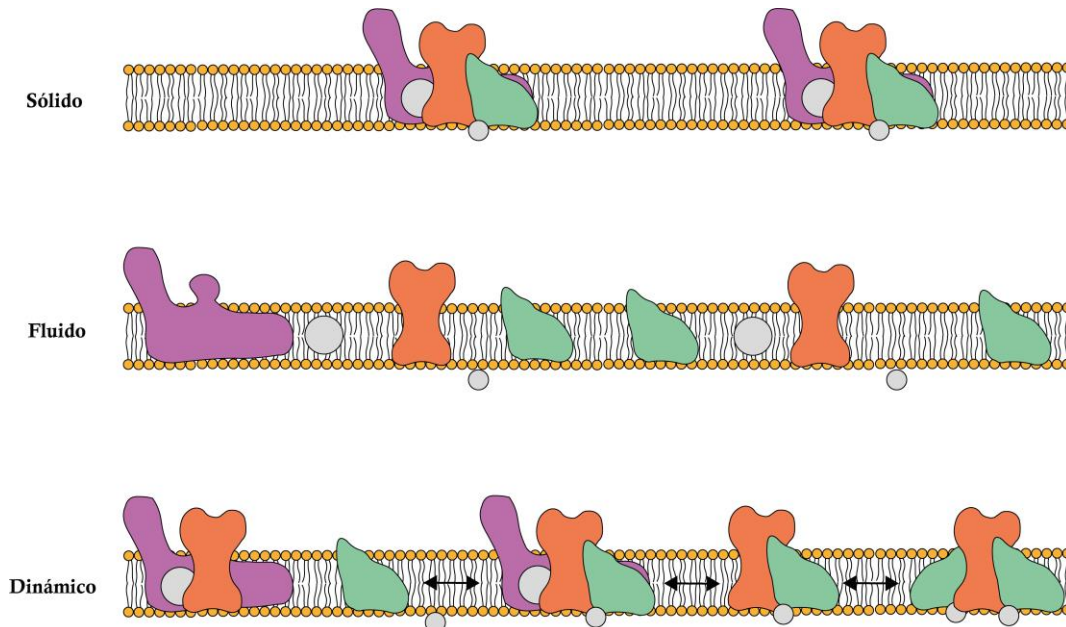
En estudios posteriores se observó la copurificación y comigración del CIII<sub>2</sub> y CIV de *Saccharomyces cerevisiae* y del CI, CIII<sub>2</sub> y CIV de mamífero, en gradientes de sacarosa y en experimentos de electroforesis azul en condiciones nativas (BN-PAGE), respectivamente (8). Dichos

resultados provocaron que se retomara la propuesta de la asociación de los complejos respiratorios en supercomplejos (SCs) que pueden contener a los distintos complejos respiratorios en estequiometrias variables. Posteriormente se acuñó el término “respirasoma” que hace referencia a la interacción en una red de los complejos respiratorios con una estequiometría definida CI + CIII<sub>2</sub> + CIV<sub>4</sub> y CIII<sub>2</sub> + CIV<sub>4</sub> dependiendo de la presencia o no del complejo I (17) con la capacidad de llevar a cabo la respiración celular (18). Lo anterior condujo a la postulación del modelo dinámico (*plasticity model* en inglés) que unifica ambas teorías ya que propone que los complejos respiratorios se organizan tanto de forma individual como en SCs de diferentes estequiometrías y estas interacciones responden a una dinámica acorde con las necesidades metabólicas de la célula (8) (Figura 2).

Se ha propuesto que los SCs tienen funciones estructurales promoviendo la estabilidad de los complejos individuales (10, 19-22), de canalización de sustratos y de control en la producción de especies reactivas de oxígeno (10, 23). A pesar de que no se ha demostrado una canalización directa de Q en los SCs, se postula que el acomodo de éstos ayuda a minimizar la distancia de difusión de Q/QH<sub>2</sub> y el cyt *c*, mejorando la eficiencia catalítica de la cadena transportadora de electrones (21, 24).

#### **Ruta de ensamblaje de respirasomas eucariotes**

Tanto la criomicroscopía electrónica de partícula única como la criotomografía electrónica han permitido confirmar estructuralmente la asociación de los complejos respiratorios en SCs (18). Dichos estudios han revelado el detalle de las estructuras de los complejos OXPHOS tanto aislados como dentro de la membrana, lo cual ha puesto en evidencia la diversidad estructural de los mismos entre especies que pertenecen a diferentes linajes de eucariotes (21, 24-30). A pesar de la diversidad estructural observada, el orden de las asociaciones entre complejos para la formación de los respirasomas se conserva en los organismos estudiados (Figura 3). Las interacciones de los SCs se encuentran mediadas por puentes de hidrógeno, puentes salinos, interacciones de *van der Waals* (10), lípidos estructurales (21, 24, 31) y en algunos casos por factores de ensamblaje (31). Debido a la diversidad estructural de los complejos respiratorios entre linajes, que incluye la modificación de los residuos y/o las subunidades involucradas en las interacciones de los complejos, las asociaciones entre complejos cambian la estructura general del respirasoma y, como consecuencia, el ángulo dentro de la membrana (21), llevando a modificar incluso la dirección de pliegamiento de ésta.

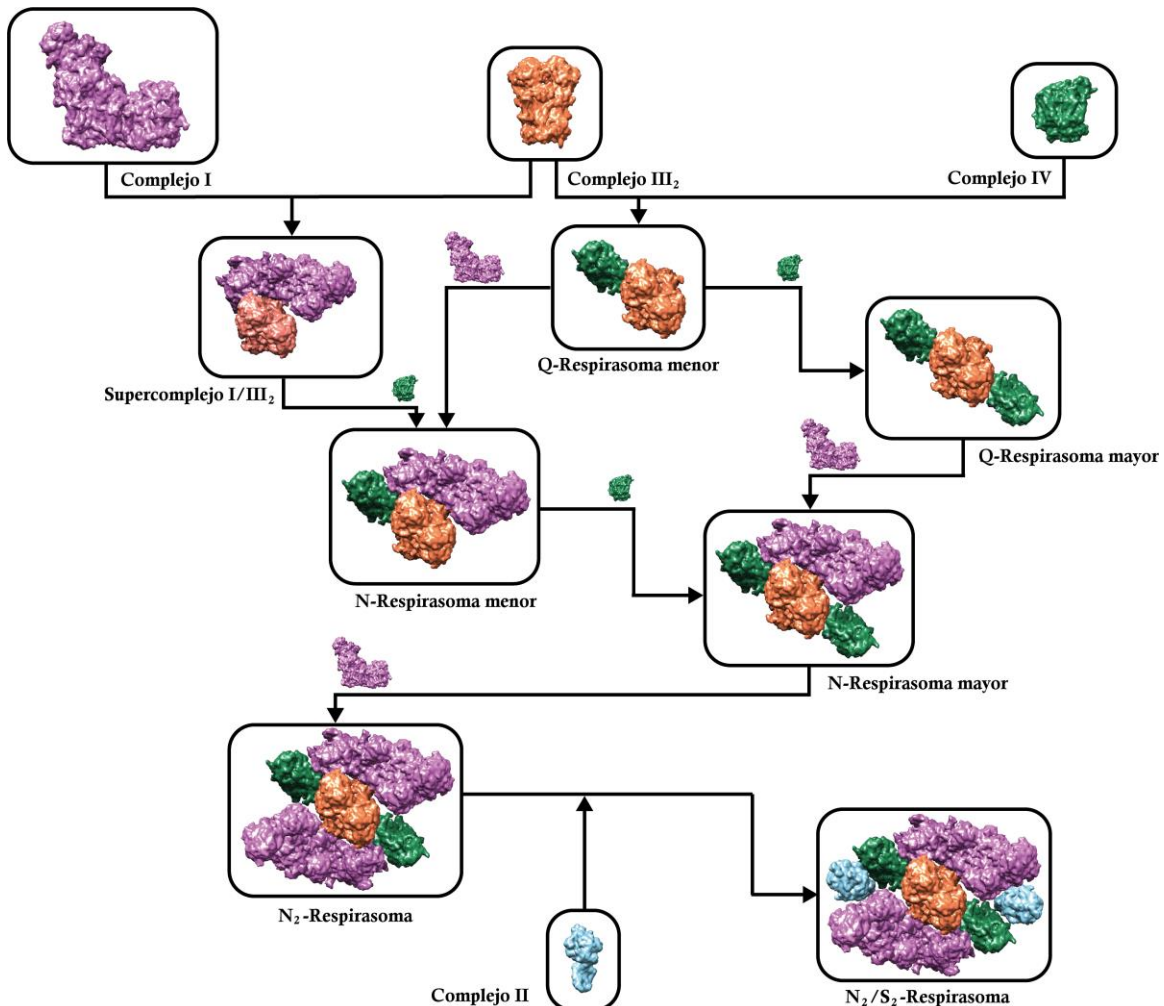


**Figura 2. Modelos de la organización de los complejos respiratorios en la membrana interna mitocondrial.** *Panel superior:* En el modelo de estado sólido la asociación estrecha y ordenada de los complejos respiratorios es necesaria para una transferencia eficaz de los electrones. *Panel central:* El modelo fluido establece que los complejos respiratorios se encuentran de forma individual en la membrana interna y la transferencia de electrones ocurre gracias a la difusión de los acarreadores de electrones móviles: quinona y citocromo *c*. *Panel inferior:* El modelo dinámico (*plasticity model* en inglés) establece que los complejos respiratorios pueden encontrarse tanto de manera individual como asociados entre sí en diferentes estequiometrías. Complejo I (rosa), Complejo II (cian), Complejo III<sub>2</sub> (naranja), Complejo IV (verde), Q (círculo gris grande) y citocromo *c* (círculo gris chico).

El ensamblaje de los diferentes respirasomas involucra la asociación secuencial de los complejos respiratorios en estructuras mayores (Figura 3). El papel central del CIII<sub>2</sub> le permite asociarse tanto con el complejo I como con el complejo IV formando el SC CI + CIII<sub>2</sub> o el Q-Respirasoma menor CIII<sub>2</sub> + CIV (20), respectivamente. El CIII<sub>2</sub> también puede asociarse con un segundo CIV para la formación del Q-Respirasoma mayor CIII<sub>2</sub> + CIV<sub>2</sub> (21, 31). La conjunción de los complejos CI, CIII y CIV en estequiometría 1:1:1 forma el N-Respirasoma menor, este SC contiene todos los componentes para la transferencia de electrones desde el NADH hasta el O<sub>2</sub>. El N-Respirasoma mayor incorpora un segundo CIV que se ubica, generalmente, entre el CIII<sub>2</sub> y el sitio de unión a quinonas del CI (21), este SC a la vez puede incorporar un segundo complejo I para la formación del N<sub>2</sub>-Respirasoma. Se ha propuesto que en cada uno de los espacios entre los CI y CIV del N<sub>2</sub>-Respirasoma se alojaría un CII para dar lugar al N<sub>2</sub>/S<sub>2</sub>-Respirasoma, este megacomplejo contaría con todos los complejos pertenecientes a la cadena transportadora de electrones (27) (Figura 3).

En plantas, la asociación más estable es la del SC CI + CIII<sub>2</sub>, esta estequiometría representa al SC más

conservado entre los linajes eucariotes (31, 32). En este SC, el CI puede unirse en cualquier posición con respecto al CIII<sub>2</sub>, esta interacción se encuentra mayormente mediada por la región embebida en la membrana interna mitocondrial (20). Por otro lado, el CIII<sub>2</sub> también se asocia con uno o dos CIV para la formación de los Q-Respirasomas menor y mayor, respectivamente (20, 21, 31). En *S. cerevisiae*, el complejo IV existe mayoritariamente en asociación con el CIII<sub>2</sub> por lo que la cantidad de este SC está limitada por la disponibilidad de CIV, que a su vez es dependiente de las condiciones de crecimiento y por lo tanto del estado metabólico de la célula (17). En mamíferos, las subunidades Cox7A2L y SCAF1 son esenciales para la interacción del CIII<sub>2</sub> + CIV pero no son necesarias para la formación del N-Respirasoma (20, 33). Dichos factores de ensamblaje se encuentran ausentes en plantas, lo cual podría explicar por qué el CIII<sub>2</sub> + CIV es más lábil en éstas (21). En *S. cerevisiae*, Rcf1 es una subunidad del CIV que participa en la formación del Q-Respirasoma mayor (34).



**Figura 3. Ruta de ensamblaje de los supercomplejos.** El CIII<sub>2</sub> funge de andamio primario para la asociación de los complejos respiratorios; se muestra la probable secuencia de ensamblaje y las diversas estequiometrias de los supercomplejos y respirasomas construidos. Cada complejo está ilustrado en un color distinto: Complejo I (rosa), Complejo III<sub>2</sub> (naranja), Complejo IV (verde) y Complejo II (cian). Mapas de densidad electrónica derivados a partir de estructuras depositadas en el Protein Data Bank (PDB): 5XTI (27) que corresponde a la arquitectura del Supercomplejo I<sub>2</sub>III<sub>2</sub>IV<sub>2</sub> de mitocondrias humanas (N<sub>2</sub>/S<sub>2</sub>-Respirasoma), y 3SFD (59) que corresponde a la estructura del Complejo II de mitocondrias porcinas.

### Complejo III mitocondrial

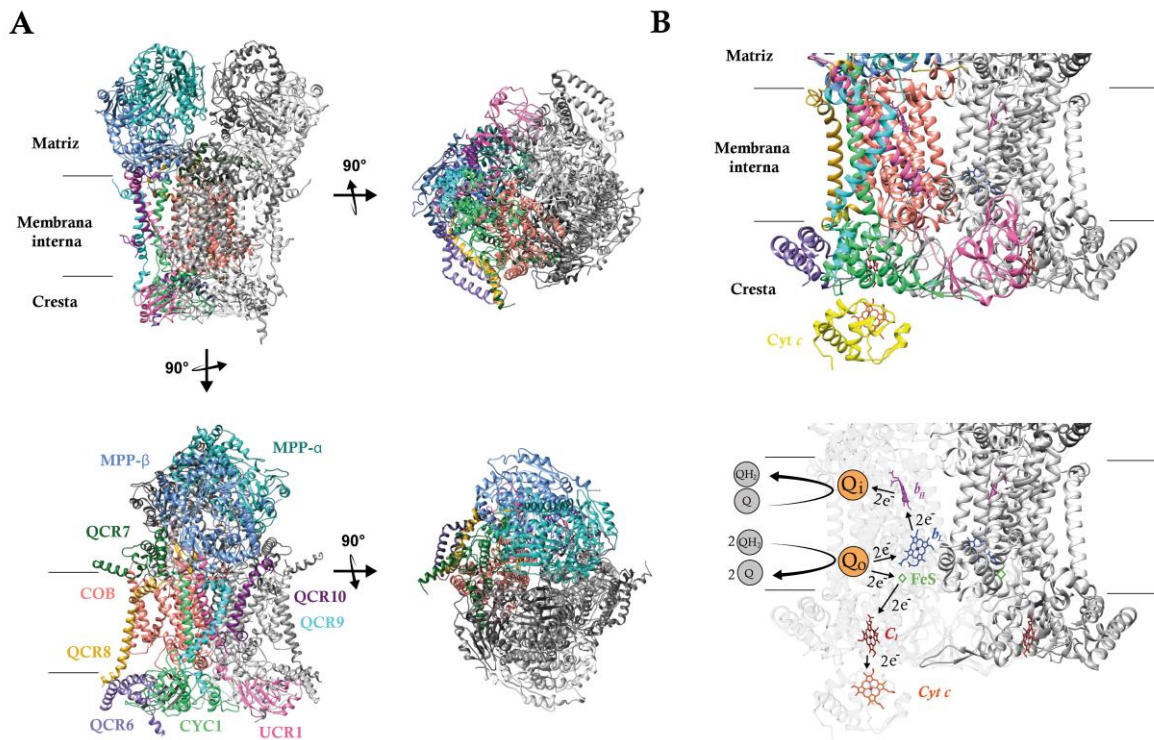
El complejo III mitocondrial (CIII<sub>2</sub>, ubiquinol-citocromo *c* oxido-reductasa o complejo citocromo *bc*<sub>1</sub>) acopla la transferencia de electrones del ubiquinol (QH<sub>2</sub>) al citocromo *c* con la translocación de protones desde la matriz mitocondrial hacia el interior de la cresta mitocondrial (21). Este complejo presenta tres subunidades catalíticas (cyt *b*, cyt *c*<sub>1</sub> e ISP (*Rieske iron-sulfur protein* por su nombre en inglés)) que se encuentran altamente conservadas en los dominios Bacteria y Eukarya. En eucariotes, se encuentran además subunidades que se presume presentan funciones estructurales (21), formando a un complejo de 10 subunidades en *Saccharomyces cerevisiae* y hasta 13 en *Arabidopsis thaliana* y *Tetrahymena thermophila*. La unión de estas

subunidades forma un complejo con dominios en la región membranal, en el espacio intermembranal y en la matriz mitocondrial (35) (Figura 4A).

El CIII<sub>2</sub> presenta un total de 13 hélices  $\alpha$  transmembranales, las cuales provienen de diferentes subunidades (cyt *b* (8 hélices), cyt *c*<sub>1</sub> (1 hélice), ISP (1 hélice), 7 (1 hélice), 10 (1 hélice) y 11 (1 hélice)). Adicionalmente, posee cuatro centros metálicos (cyt *b*: hemos *b*<sub>H</sub> y *b*<sub>L</sub>; cyt *c*<sub>1</sub>: hemo *c*<sub>1</sub>; ISP: [2Fe–2S] clúster) y dos sitios Q (Q<sub>i</sub> ó Q<sub>N</sub>, para la reducción de la Q y Q<sub>O</sub> ó Q<sub>P</sub>, para la oxidación de QH<sub>2</sub>) (Figura 4B) (21, 24, 35). En los sitios de unión de la Q, las colas de lípidos estructurales crean ambientes hidrofóbicos dinámicos alrededor del CIII<sub>2</sub> que permiten la unión y liberación de ésta (21, 24). En la región cercana al sitio Q<sub>i</sub>, se forma una red de puentes de hidrógeno

entre moléculas de agua, residuos aminoacídicos polares y los grupos fosfato de dos cardiolipinas y una fosfatidiletanolamina que permite el movimiento de protones por un mecanismo de *Grotthuss* (21), el cual consiste en una sucesión de "saltos" de protones ( $H^+$ ) a través de una red de puentes de hidrógeno, de

molécula a molécula, de tal forma que no ocurre una migración física del protón, sino una transferencia de carga por la ruptura y formación secuencial de enlaces covalentes y puentes de hidrógeno entre moléculas vecinas.



**Figura 4. Complejo III mitocondrial y ciclo Q.** A) Modelo estructural del complejo III mitocondrial, se muestra la unidad estructural dímérica. El dominio MPP se encuentra hacia la matriz mitocondrial mientras que el  $c_1$  (CYC1) se localiza del lado de la cresta mitocondrial. Por claridad sólo están coloreadas las subunidades de un monómero. B) Mecanismo general de la reducción del citocromo  $c$  en el complejo III. Se muestran dos sitios de unión de Q ( $Q_i$  y  $Q_o$ ), los electrones se movilizan a través de distintos cofactores: citocromo  $b_H$  (morado), citocromo  $b_L$  (azul), centro hierro/azufre (verde) y citocromo  $c_1$  (rojo), la unión del citocromo  $c$  (mostrado en amarillo) se localiza en la vecindad del citocromo  $c_1$  (CYC1), el código de colores del resto de las subunidades es el usado en el panel A. Modelo construido a partir de la estructura depositada en el PDB: 3CX5 (60).

La unidad estructural y funcional del CIII es un dímero ( $CIII_2$ ) que mediante el ciclo Q lleva a cabo la oxidación de  $QH_2$  en dos pasos. La transferencia de electrones de  $QH_2$  en el sitio  $Q_o$  al cyt  $c_1$  está mediada por el dominio *Rieske* del protómero opuesto (21, 24). Dentro del mecanismo consenso (Figura 4B) se incluye una bifurcación de electrones, en ésta, un electrón viaja por la cadena de alto potencial hacia el cyt  $c$  y el otro electrón es transferido por la cadena de bajo potencial (hemos  $b_L$  y  $b_H$ ) hacia el sitio  $Q_i$  donde se forma una semiubiquinona. En el segundo paso de oxidación de  $QH_2$ , el segundo electrón reduce a la semiubiquinona formada en el sitio  $Q_i$  donde adquiere dos protones de la matriz mitocondrial para formar  $QH_2$ ; simultáneamente, se liberan dos protones hacia

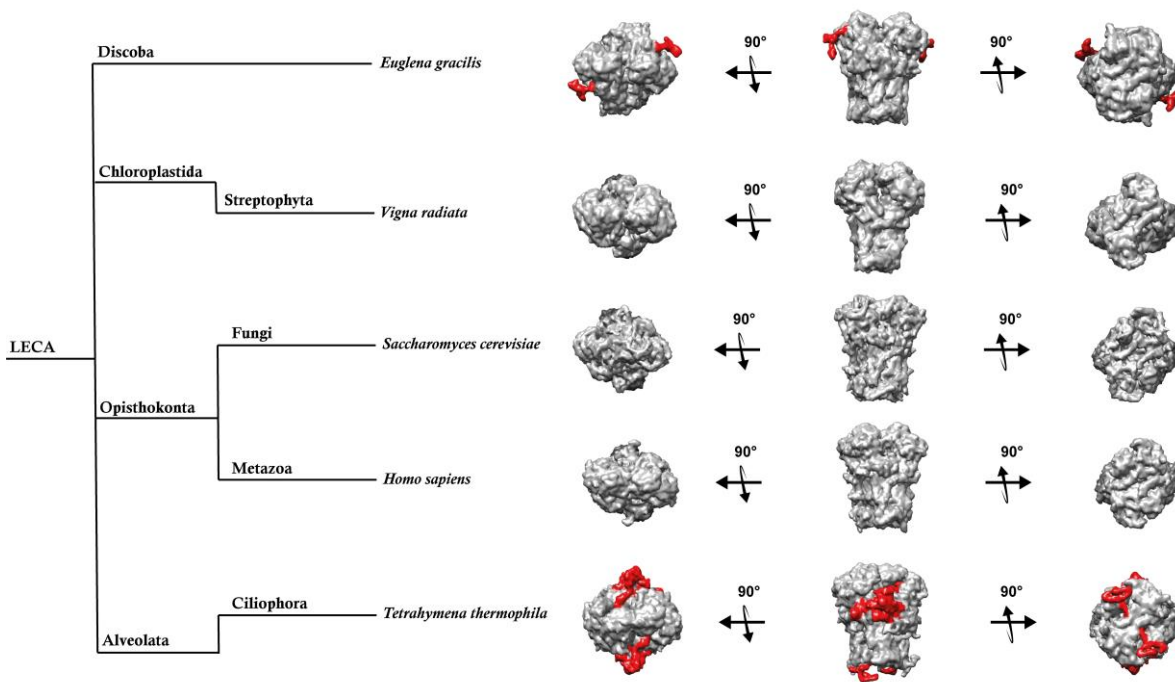
el interior de la cresta mitocondrial y la  $QH_2$  producida, es liberada en la membrana interna (35). Como resultado neto del ciclo Q, cuatro protones son translocados a través de la membrana hacia el interior de la cresta mitocondrial, dos protones se toman del lado negativo de la membrana, se oxida una molécula de  $QH_2$  y se reducen dos moléculas de cyt  $c$  (35).

El dominio MPP del  $CIII_2$  se compone de dos heterodímeros MPP- $\alpha/\beta$  (plantas MPP- $\alpha/\beta$ , levadura Cor1/2 y mamíferos UQCR1/2) que protruyen hacia la matriz mitocondrial (21) (Figura 4A). En plantas, además de llevar a cabo el ciclo Q, el  $CIII_2$  presenta actividad de zinc-metalopeptidasa en el dominio MPP, llevando a cabo el corte de pre-secuencias de las proteínas mitocondriales codificadas en el núcleo

(10, 35). En levaduras como *S. cerevisiae*, Cor1/Cor2 han perdido su actividad de MPP, mientras que en mamíferos se ha propuesto que el único sustrato sobre el cual actúan estas enzimas es la subunidad *Rieske* (21). En plantas, la cavidad formada por MPP- $\alpha/\beta$  permanece libre para el procesamiento de sustratos, en contraste con los mamíferos, en donde dicha cavidad puede ser ocupada por Sub9 en el CIII<sub>2</sub> o por SCAF1 en el Q-Respirasoma (20). Lo anterior provoca una asimetría en el CIII<sub>2</sub> (20, 21, 36) que explica la ausencia del Q-Respirasoma mayor en mamíferos, en contraste con *S. cerevisiae* donde CIII<sub>2</sub> es simétrico por lo que puede unir a dos CIV (20).

Por otro lado, en otros organismos como *Euglena gracilis* la subunidad UQCRC2 (MPP- $\alpha$ ) presenta una extensión en el amino terminal que se estructura en un giro y una horquilla  $\beta$  cuando se encuentra interactuando con el CIV en el Q-Respirasoma menor (25). Por su parte, el CIII de *T. thermophila* contiene a las 10 subunidades canónicas, que presentan

divergencia en la secuencia génica con respecto a otros eucariotes, más dos cadenas cortas (32). Se ha reportado que en *T. thermophila* el CIII<sub>2</sub> presenta una asimetría estructural (37) consecuencia de la asociación con el CI (32). En la asociación con el CI participan las subunidades UQCRTT1 y UQCRTT3; además, se plantea que UQCRTT3 tiene funciones regulatorias en el CIII<sub>2</sub> (37). Recientemente se describió la estructura del CIII<sub>2</sub> del parásito *Perkinsus marinus* que cuenta con 14 subunidades, de las cuales 10 son conservadas en eucariotes, dos son especie específicas y dos actúan como factores de ensamblaje. Además, en *P. marinus* se observa una gran divergencia en las subunidades canónicas de eucariotes, ya que presentan extensiones e inserciones (38). A pesar de las diferencias en la composición polipeptídica descritas previamente, este complejo es el más conservado desde el punto de vista estructural (Figura 5).



**Figura 5. Estructura del CIII<sub>2</sub> en diferentes linajes de eucariotes.** El CIII<sub>2</sub> mitocondrial se conserva estructuralmente entre diferentes linajes de eucariotes. Mapas de densidad electrónica a 8Å derivados a partir de PDB *Euglena gracilis* 8IUJ (25), *Vigna radiata* 8E73 (44), *Saccharomyces cerevisiae* 8E7S (61), *Homo sapiens* 5XTI (27), *Tetrahymena thermophila* 8B6J (37). En rojo se resaltan las regiones divergentes más notorias entre las estructuras. LECA (del inglés Last Eukaryotic Common Ancestor), corresponde al último ancestro común a todos los eucariotes.

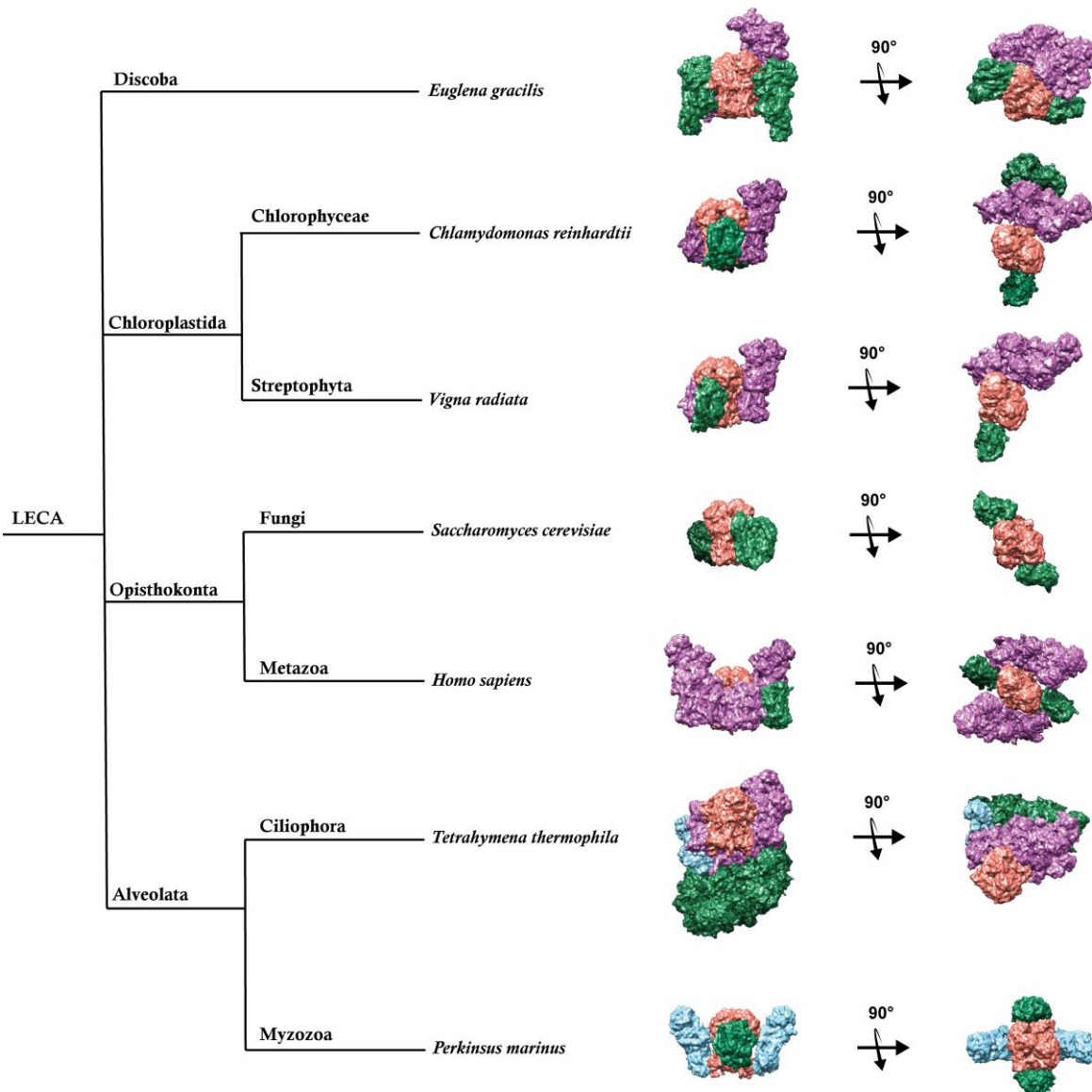
### Respirasomas eucariotes

La gran riqueza genética que poseen los organismos eucariotes se ve reflejada en la diversidad de péptidos que componen a cada uno de los complejos respiratorios, como consecuencia, las estructuras suelen poseer un alto grado de divergencia

entre linajes. Estas diferencias en la estructura de los complejos individuales determinan la topología que se observa en los respirasomas de las distintas especies (Figura 6), así como las subunidades que interactúan para la formación de estos (Tabla I). En la Figura 6 se recopila la evidencia, disponible a la

fecha, sobre los respirasomas presentes en diferentes linajes de eucariotes; el análisis de la evidencia bioquímica, proteómica y estructural disponible

permite reconstruir los respirasomas mayores para cada linaje, en los cuales esté presente sólo un CIII<sub>2</sub>.



**Figura 6. Respirasomas eucariotes.** El CIII<sub>2</sub> funciona como andamio para la unión de los complejos respiratorios en distintos linajes de eucariotes. Modelos estructurales del respirasoma de cada linaje. Modelos construidos a partir de: *Euglena gracilis* PDBs: 8IUJ (25) / 8IUF (25), *Chlamydomonas reinhardtii* PDBs: 8E73(44), 7JRP (21) con las posiciones reportadas por Waltz *et al.*, 2024 (41); *Vigna radiata* PDBs: 8E73(44)/ 7JRP (21), *Saccharomyces cerevisiae* PDB: 8E7S (61), *Homo sapiens* PDB: 5XTI (27), *Tetrahymena thermophila* PDB: 8BQS (37), *Perkinsus marinus* construido a partir de 8B6J (37), 8B6G (37), 7JRP (21) con las posiciones reportadas por Wu *et al.*, 2024 (38). LECA (del inglés Last Eukaryotic Common Ancestor), corresponde al último ancestro común a todos los eucariotes

*Euglena gracilis* es un organismo unicelular fotosintético perteneciente al Superfilo Discoba (5), que incluye a los Filos Euglenozoa, Heterolobosea, Jakobida y Tsukubamonas, que se caracterizan por presentar crestas mitocondriales discoidales (39). Dentro de Euglenozoa se encuentran algas euglenophytas, parásitos tripanosomátidos y

flagelados de vida libre o parasitarios (5). Evidencia estructural y bioquímica sugiere la existencia del N-Respirasoma mayor en *E. gracilis*, sin embargo, únicamente se ha podido obtener las estructuras del N-Respirasoma menor y del Q-Respirasoma menor y mayor (25, 40). Dentro de Euglenozoa se ha descrito que la ultraestructura discoidal de la cresta

mitocondrial es resultado tanto de la curvatura inducida por la ATP sintasa (30) como por la curvatura inducida por el N-Respirasoma menor (25). En este respirasoma las subunidades NDUEG7, NDUEG8 y NDUEG9 introducen una curvatura entre el CI y CIII<sub>2</sub> + CIV. En *E. gracilis*, la interfaz del CI y el CIII<sub>2</sub> se encuentra mediada por el CIV mediante un sitio de interacción en la matriz y dos sitios en el espacio intermembranal (Tabla I). Lo anterior explica la ausencia del SC CI + CIII<sub>2</sub> en muestras solubilizadas con digitonina, ya que la disgregación del CIV rompería la asociación CI + CIII<sub>2</sub>, dejando al CIII<sub>2</sub> unido inestablemente al CI (25). Por otro lado, la posición del CIV con respecto al CIII<sub>2</sub> se diferencia de otras especies al unirse por la cavidad interna de la subunidad citocromo *b* (COB) (25).

Las plantas y las algas verdes se sitúan en la rama Chloroplastida. En modelos obtenidos mediante crioelectrotomografía *in situ* se ha descrito la organización en condiciones nativas de las crestas mitocondriales de la microalga unicelular *Chlamydomonas reinhardtii*, donde los complejos mitocondriales se localizan en las regiones planas de la cresta mitocondrial lamelar (41). En dichos modelos *C. reinhardtii* une tres CIV en el respirasoma mayor: uno se asocia al CIII<sub>2</sub> (CIV distal: CIVd) como ocurre en plantas y dos CIV en el brazo membranal del CI (CIV medio: CIVm; CIV proximal: CIVp), en el sitio opuesto de unión del CIII<sub>2</sub>, de manera similar a como se observa en los “A-respirasomas” de mamíferos (33) y en ciliados (26). Evidencia bioquímica sugiere que en el alga incolora *Polytomella parva* se presentan respirasomas con una organización análoga, ya que en BN-PAGE se observan las asociaciones CI + CIV y CI + CIII (42). En plantas, se observa un mayor número de sitios de interacción entre CI + CIII<sub>2</sub> en comparación con mamíferos (Tabla I) y la formación de dicho SC modifica la conformación del brazo membranal del complejo I (10). Los complejos I de plantas y algas verdes contienen un dominio adicional denominado “puente de ferredoxina” (28) que mediante mutantes se ha corroborado su participación en la formación del SC CI + CIII<sub>2</sub> (43). Adicionalmente, las interacciones en la matriz del Q-Respirasoma se encuentran reducidas, probablemente para evitar impedimentos estéricos en el dominio MPP que es catalíticamente activo (21). Se ha reportado la asociación del supercomplejo CI+CIII<sub>2</sub> y del Q-Respirasoma menor en plantas (21, 44), por lo que es probable que en estado nativo se encuentre el N-Respirasoma mayor.

Los animales y los hongos comparten un mismo origen en la rama Opisthokonta (5, 45). La levadura

*S. cerevisiae* no presenta CI por lo que sólo se observa al Q-Respirasoma mayor (Figura 6). Por otro lado, en la levadura *Yarrowia lipolytica* se ha evidenciado por BN-PAGE la presencia de las asociaciones CI + CIII<sub>2</sub>, del Q-Respirasoma menor y mayor y del N-Respirasoma mayor (46). La presencia de respirasomas también se han reportado en los ascomicetos *Neurospora crassa* (47) y *Podospora anserina* (48). El respirasoma principal en mitocondrias de mamíferos es el N-Respirasoma mayor (10) y se ha propuesto la existencia del N<sub>2</sub>/S<sub>2</sub>-Respirasoma. En humanos, la proporción de respirasomas es dependiente del tejido (19) y defectos en el ensamblaje de los mismos se asocia con enfermedades metabólicas y neurodegenerativas (19, 22, 49, 50). La superficie del CIII<sub>2</sub> que usan las levaduras para unir al CIV, en mamíferos se utiliza para unir al CI (21).

En el linaje de Alveolata se encuentran organismos unicelulares que pueden ser de vida libre, como los ciliados, o parásitos, como los apicomplejos o Perkinzoa. Éstos se caracterizan por estructuras proteicas en la membrana plasmática que han evolucionado desarrollando funciones específicas en cada grupo. Por ejemplo, en los apicomplejos tienen funciones de invasión y motilidad (51). La asociación del CII en los respirasomas se ha sugerido en mamíferos (27) y descrito en los Alveolata *T. thermophila* (26) y *P. marinus* (38). El acomodo del SC CI + CIII<sub>2</sub> en *T. thermophila* es similar al de mamíferos, pero con más sitios de interacción que contribuyen a la curvatura del SC (32) (Tabla I). De manera interesante, en *T. thermophila* no se encuentra al CI libre por lo que siempre está unido al CIII<sub>2</sub> (32). La ganancia de cuatro subunidades especie-específicas en el CI impide la unión del CIV en la posición correspondiente a los respirasomas de otras especies. En estas especies el CIV es particularmente voluminoso y su dimerización da pie a la formación de un megacomplejo que contribuye a la curvatura presente en las crestas tubulares de los ciliados. Se presume que el rearrreglo de dicho megacomplejo es factible gracias a la gran divergencia del CIV, a las subunidades accesorias del CI y a las extensiones en las secuencias de las subunidades canónicas (37). Los organismos pertenecientes a Myzozoa como *Plasmodium*, *Toxoplasma* y *Perkinsus* no cuentan con CI (52); en estudios recientes se reporta en *P. marinus* la asociación de un Q-Respirasoma mayor con dos CII (38).

**Tabla I.** Subunidades involucradas en la formación de los respirasomas de eucariotes

Especie	Respirasoma	Supercomplejo	Subunidades	Sitio de Interacción		
<i>Euglena gracilis</i>	I + III <sub>2</sub> + IV	CI/III <sub>2</sub>	NDUFA9/UQCRB	Matriz		
			NDUCA1/UQCREG1	Matriz		
			NDUEG6/UQCREG1, UQCR10	Matriz		
			NDUEG9/UQCR9	Membrana		
			NDUB9/COXEG8	Matriz		
			NDUEG8/COXEG9	Matriz		
			NDUEG8/COX4	Cresta		
			NDUEG7-9/COX4	Cresta		
		CI/CIV	NDUEG8, ND5/COX7C	Cresta		
			NDUB7/COX4	Membrana		
			III <sub>2</sub> /CIV	UQCRC1/COXEG8, COXEG9	Matriz	
			UQCR10/COX7C, COXEG1	Matriz		
		<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	I + III <sub>2</sub> + IV <sub>3</sub>	CI/III <sub>2</sub>	B22/MPPβ	Matriz
					39 kDa/QCR7	Matriz
P9/QCR6	Cresta					
B14.7/QCR8	Membrana					
CI/CIV <sub>p</sub>	CA2, CA3/COX5b			Matriz		
	CA3/COX2a, COXln			Cresta		
	P1/COX5c			Membrana		
III <sub>2</sub> /CIV <sub>p</sub>	QCR6/COX5c, COX4			Cresta		
<i>Vigna radiata</i>	I + III <sub>2</sub>			CI/III <sub>2</sub>	NDUB9/MPPβ, MPPα	Matriz
					NDUA11, NDUP9/QCR6	Cresta
		NDUA11/QCR8	Membrana			
	III <sub>2</sub> + IV	III <sub>2</sub> /CIV	QCR8/COX2	Matriz		
			QCR6/COX4, COX5C	Cresta		
			QCR8, RIP1/COX5a-b	Membrana		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	III <sub>2</sub> + IV <sub>2</sub>	III <sub>2</sub> /CIV	COR1/COX5a-b	Matriz		
			Qcr6/COXa-b	Cresta		
			<i>Homo sapiens</i>	I <sub>2</sub> + III <sub>2</sub> + IV <sub>2</sub>	CI/III <sub>2</sub>	NDUFB9, NDUFB4/UQCRC1
NDUFA11/UQCRQ	Membrana					
CI/CIV	NDUFB9/COX7a	Matriz				
	NDUFB3/COX7a	Matriz				
III <sub>2</sub> /CIV	UQCRC1/COX7a	Matriz				

Especie	Respirasoma	Supercomplejo	Subunidades	Sitio de Interacción
<i>Tetrahymena thermophila</i>	I + II + III <sub>2</sub> + IV <sub>2</sub>	CII/CIII <sub>2</sub>	NDUJ1, NDUTX/UQCRB, UQCRFS1, UQCR9	Matriz
			NDUTT3/UQCR1, UQCR2	Matriz
			ND5B, NDUB4, NDUB9, NDUB8/UQCR1, UQCR9	Matriz
			NDUB4, NDUA11/UQCRQ, UQCRH, UQCR9, UQCRFS1, Cyt b, Cyc1	Matriz/Membrana
			NDUB10, NDUA11, NDUB8, NDUTT1/UQCR9, UQCRH	Matriz
		CI/CIV	NDUCA1, NDUFA3, NDUPH1/COXTT2, COX3b	Matriz
			ND5A, NDUTT16, NDUTT5/COX6BL, COXTT8, COXTT9, COXTT18, COXTT21, Ymf75	Membrana/Cresta
			NDUTT5/SDHTT5	Cresta
			SDHTT5/COXTT8	Cresta
			SDHD, SDHG/QCR7, RIP1	Membrana
<i>Perkinsus marinus</i>	II <sub>2</sub> + III <sub>2</sub> + IV <sub>2</sub>	CII/CIV	SDHG/COX36	Membrana
		CIII <sub>2</sub> /CIV	QCR8/COX40, COX39	Membrana
			QCR7/COX36	Cresta

### Importancia del Complejo III en la terapéutica de enfermedades parasitarias

El CIII<sub>2</sub> ha sido blanco terapéutico en enfermedades parasitarias como la toxoplasmosis y la malaria. Estos fármacos abaten el potencial electroquímico de la cresta mitocondrial y la síntesis de pirimidinas al unirse a los sitios Q<sub>0</sub> o Q<sub>i</sub> del CIII<sub>2</sub> (53). En diferentes estudios se ha evidenciado la sensibilidad especie-específica a estos inhibidores. Por ejemplo, en mitocondrias del ciliado *Tetrahymena pyriformis* se describe una resistencia a antimicina, mientras que los tripanosomátidos *Crithidia luciliae* y *Leishmania infantum*, son resistentes a estigmatelina (54). Tanto los ciliados como los tripanosomátidos mencionados anteriormente son resistentes a mixotiazol (54) al igual que *E. gracilis* (40). Aunado a lo anterior, se ha descrito la unión de antimaláricos como la atovaquone (55) al CIII<sub>2</sub> de *Y. lipolytica* (56) y el mixotiazol y la estigmatelina al CIII<sub>2</sub> de bovino (57). La atoyacuona es un inhibidor competitivo de la Q y la resistencia a este fármaco se ha relacionado con mutaciones puntuales en el sitio Q<sub>0</sub>; además, disminuye la actividad del CIII<sub>2</sub> (58). En investigaciones previas en *E. gracilis* se sugirió que las diferencias observadas en la respuesta a los antiparasitarios podrían ser consecuencia de la asociación del CIII<sub>2</sub> en los respirasomas (40).

### Conclusiones

El funcionamiento y la organización de la fosforilación oxidativa fueron elucidadas mediante diversas técnicas pioneras de la bioquímica durante el siglo pasado. Recientemente nuevos enfoques han permitido confirmar dichas observaciones y refinar los modelos previamente propuestos sobre los mecanismos de producción de energía en los seres vivos. Aunado a lo anterior, el estudio de organismos pertenecientes a distintos linajes de eucariotes ha ampliado nuestro entendimiento sobre la función y organización de la fosforilación oxidativa en los seres vivos. Debido a la gran riqueza genética adquirida por los diversos eventos endosimbióticos a lo largo de la historia evolutiva de los diferentes linajes eucariotes, los complejos de la fosforilación oxidativa, exceptuado al CIII, presentan un alto grado de diferencias estructurales que incluye la adquisición de subunidades y dominios estructurales y funciones adicionales. En contraste, el CIII<sub>2</sub> presenta un alto grado de conservación tanto en número de subunidades como en estructura (Figura 4) y su alta conservación estructural le otorga un papel central en la formación de los diversos supercomplejos respiratorios (Figura 3). Conjuntando las observaciones descritas en el texto y analizando las estructuras de los respirasomas mayores descritos a la fecha en diversos linajes de eucariotes (Figura 5), es evidente que el CIII<sub>2</sub> suele disponerse en el centro de los respirasomas, y podemos proponer a este

complejo como el andamio para la unión de los demás complejos respiratorios.

### Agradecimientos

Agradecemos la asistencia técnica de la Dra. Toshiko Takahashi Íñiguez (IIBO, UNAM) y la revisión crítica de este manuscrito, así como al programa de

“Producción de biomoléculas de interés biomédico en microorganismos” (IIBO-UNAM) y al programa PAPIIT: IA204524 (DGAPA, UNAM). Anaiza Rico-Luna es estudiante de doctorado del Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y ha recibido una beca Secihti (CVU: 927622).

### Referencias

- Sagan L. (1967) On the origin of mitosing cells *Journal of Theoretical Biology* **14**, 255-274.
- Gray, M. W., Burger, G., and Franz Lang, B. (1999) Mitochondrial Evolution *Science* **283**, 1476-1481.
- Zaremba-Niedzwiedzka, K., Caceres, E. F., Saw, J. H., Bäckström, D., Juzokaite, L., Vancaester, E. *et al.* (2017) Asgard archaea illuminate the origin of eukaryotic cellular complexity *Nature* **541**, 353-358.
- López-García, P., and Moreira, D. (2023) The symbiotic origin of the eukaryotic cell *Comptes Rendus Biologies* **346**, 55-73.
- Burki, F., Roger, A. J., Brown, M. W., and Simpson, A. G. B. (2020) The New Tree of Eukaryotes *Trends in Ecology & Evolution* **35**, 43-55.
- John, M. A. (2009) The Puzzle of Plastid Evolution *Current Biology* **19**, R81-R88.
- Pfanner, N., Warscheid, B., and Wiedemann, N. (2019) Mitochondrial proteins: from biogenesis to functional networks *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **20**, 267-284.
- Acin-Perez, R., and Enriquez, J., A. (2014) The function of the respiratory supercomplexes: The plasticity model *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1837**, 444-450.
- Lenaz, G., and Genova, M. L. (2007) Kinetics of integrated electron transfer in the mitochondrial respiratory chain: random collisions vs. solid state electron channeling *American Journal of Physiology-Cell Physiology* **292**, C1221-C1239.
- Klusch, N., Dreimann, M., Senkler, J., Rugen, N., Kühlbrandt, W., and Braun, H.-P. (2022) Cryo-EM structure of the respiratory I + III<sub>2</sub> supercomplex from *Arabidopsis thaliana* at 2 Å resolution *Nature Plants* **9**, 142-156.
- Green, D. E., and Tzagoloff, A. (1966) The mitochondrial electron transfer chain *Archives of Biochemistry and Biophysics* **116**, 293-304.
- Mitchell, P. (1961) Coupling of Phosphorylation to Electron and Hydrogen Transfer by a Chemi-Osmotic type of Mechanism *Nature* **191**, 144-148.
- Boyer, P. D. (1989) A perspective of the binding change mechanism for ATP synthesis *The FASEB Journal* **3**, 2164-2178.
- Hackenbrock, C. R., Chazotte, B., and Gupta, S. S. (1986) The random collision model and a critical assessment of diffusion and collision in mitochondrial electron transport *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* **18**, 331-368.
- Hatefi, Y., and Rieske, J. S. (1967) 41 The preparation and properties of DPNH—cytochrome c reductase (complex I—III of the respiratory chain) In *Oxidation and Phosphorylation*, Academic Press, 225-231.
- Howard, D. T. (1967) 39 Preparation and properties of succinic—cytochrome c reductase (complex II—III) In *Oxidation and Phosphorylation*, Academic Press, 213-215.
- Schagger, H., and Pfeiffer, K. (2000) Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria *The EMBO Journal* **19**, 1777-1783.
- Guo, R., Gu, J., Wu, M., and Yang, M. (2016) Amazing structure of respirasome: unveiling the secrets of cell respiration *Protein & Cell* **7**, 854-865
- Schägger, H., De Coo, R., Bauer, M. F., Hofmann, S., Godinot, C., and Brandt, U. (2004) Significance of Respirasomes for the Assembly/Stability of Human Respiratory Chain Complex I *Journal of Biological Chemistry* **279**, 36349-36353.
- Vercellino, I., and Sazanov, L. A. (2021) Structure and assembly of the mammalian mitochondrial supercomplex CIII<sub>2</sub>CIV *Nature* **598**, 364-367.
- Maldonado, M., Guo, F., and Letts, J. A. (2021) Atomic structures of respiratory complex III<sub>2</sub>, complex IV, and supercomplex III<sub>2</sub>-IV from vascular plants *eLife* **10**, e62047.
- Acín-Pérez, R., Bayona-Bafaluy, M. a. P., Fernández-Silva, P., Moreno-Loshuertos, R., Pérez-Martos, A., Bruno, C. *et al.* (2004) Respiratory Complex III Is Required to Maintain Complex I in Mammalian Mitochondria *Molecular Cell* **13**, 805-815.
- de Lira-Sánchez, J. A., Esparza-Perusquía, M., Martínez, F., Pardo, J. P., and Flores-Herrera, O. (2023) Heavy metals do not induce ROS production by mitochondrial respirasome *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics* **1864**, 148999.
- Zheng, W., Chai, P., Zhu, J., and Zhang, K. (2024) High-resolution in situ structures of mammalian respiratory supercomplexes *Nature* **631**, 232-239.
- He, Z., Wu, M., Tian, H., Wang, L., Hu, Y., Han, F. *et al.* (2024) Euglena's atypical respiratory chain adapts to the discoidal cristae and flexible metabolism *Nature Communications* **15**, 1628.
- Han, F., Hu, Y., Wu, M., He, Z., Tian, H., and Zhou, L. (2023) Structures of *Tetrahymena* thermophila respiratory megacomplexes on the tubular mitochondrial cristae *Nature Communications* **14**, 2542.
- Guo, R., Zong, S., Wu, M., Gu, J., and Yang, M. (2017) Architecture of Human Mitochondrial Respiratory Megacomplex I<sub>2</sub>III<sub>2</sub>IV<sub>2</sub> *Cell* **170**, 1247-1257.e1212.
- Klusch, N., Senkler, J., Yildiz, Ö., Kühlbrandt, W., and Braun, H.-P. (2021) A ferredoxin bridge connects the two arms of plant mitochondrial complex I *The Plant Cell* **33**, 2072-2091.
- Mühleip, A., Kock Flygaard, R., Ovcaričkova, J., Lacombe, A., Fernandes, P., Sheiner, L. *et al.* (2021) ATP synthase hexamer assemblies shape cristae of *Toxoplasma* mitochondria *Nature Communications* **12**, 120.
- Miranda-Astudillo, H., Ostolga-Chavarría, M., Cardol, P., and González-Halphen, D. (2022) Beyond being an energy supplier, ATP synthase is a sculptor of mitochondrial cristae *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1863**, 148569.
- Davies, K. M., Blum, T. B., and Kühlbrandt, W. (2018) Conserved in situ arrangement of complex I and III<sub>2</sub> in mitochondrial respiratory chain supercomplexes of mammals, yeast, and plants *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, 3024-3029.
- Zhou, L., Maldonado, M., Padavannil, A., Guo, F., and Letts, J. A. (2022) Structures of *Tetrahymena*'s respiratory chain reveal the diversity of eukaryotic core metabolism *Science* **376**, 831-839.
- Vercellino, I., and Sazanov, L. A. (2024) SCAF1 drives the compositional diversity of mammalian respirasomes *Nature Structural & Molecular Biology* **31**, 1061-1071.
- Vukotic, M., Oeljeklaus, S., Wiese, S., Vögtle, F. N., Meisinger, C., Meyer, H. E. *et al.* (2012) Rcf1 Mediates Cytochrome Oxidase Assembly and Respirasome Formation,

- Revealing Heterogeneity of the Enzyme Complex *Cell Metabolism* **15**, 336-347.
35. Xia, D., Esser, L., Tang, W.-K., Zhou, F., Zhou, Y., Yu, L. *et al.* (2013) Structural analysis of cytochrome bc1 complexes: Implications to the mechanism of function *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1827**, 1278-1294.
  36. Fernandez-Vizarra, E., and Zeviani, M. (2018) Mitochondrial complex III Rieske Fe-S protein processing and assembly *Cell Cycle* **17**, 681-687
  37. Mühleip, A., Flygaard, R. K., Baradaran, R., Haapanen, O., Gruhl, T., Tobiasson, V. *et al.* (2023) Structural basis of mitochondrial membrane bending by the I-II-III<sub>2</sub>-IV<sub>2</sub> supercomplex *Nature* **615**, 934-938.
  38. Wú, F., Mühleip, A., Gruhl, T., Sheiner, L., Maréchal, A., and Amunts, A. (2024) Structure of the II<sub>2</sub>-III<sub>2</sub>-IV<sub>2</sub> mitochondrial supercomplex from the parasite *Perkinsus marinus* *bioRxiv* 2024.05.25.595893.
  39. Leontyev, D. V., and Schnittler, M. (2022) Chapter 3 - The phylogeny and phylogenetically based classification of myxomycetes In *Myxomycetes*, Second Edition Ed. Carlos Rojas and Steven LS, ed. Academic Press, 97-124.
  40. Miranda-Astudillo, H. V., Yadav, K. N. S., Boekema, E. J., and Cardol, P. (2021) Supramolecular associations between atypical oxidative phosphorylation complexes of *Euglena gracilis* *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* **53**, 351-363.
  41. Waltz, F., Righetto, R. D., Lamm, L., Salinas-Giegé, T., Kelley, R., Zhang, X. *et al.* (2025) In-cell architecture of the mitochondrial respiratory chain *Science* **387**(6740), 1296-1301.
  42. Miranda-Astudillo, H., Colina-Tenorio, L., Jiménez-Suárez, A., Vázquez-Acevedo, M., Salin, B., Giraud, M.-F. *et al.* (2018) Oxidative phosphorylation supercomplexes and respirasome reconstitution of the colorless alga *Polytomella* sp. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1859**, 434-444.
  43. Röhrich, H., Przybyla-Toscano, J., Forner, J., Boussardon, C., Keech, O., Rouhier, N. *et al.* (2023) Mitochondrial ferredoxin-like is essential for forming complex I-containing supercomplexes in *Arabidopsis* *Plant Physiology* **191**, 2170-2184.
  44. Maldonado, M., Fan, Z., Abe, K. M., and Letts, J. A. (2022) Plant-specific features of respiratory supercomplex I + III<sub>2</sub> from *Vigna radiata* *Nature Plants* **9**, 157-168.
  45. Cavalier-Smith, T., Chao, E. E., Snell, E. A., Berney, C., Fiore-Donno, A. M., and Lewis, R. (2014) Multigene eukaryote phylogeny reveals the likely protozoan ancestors of opisthokonts (animals, fungi, choanozoans) and Amoebozoa *Molecular Phylogenetics and Evolution* **81**, 71-85.
  46. Guerrero-Castillo, S., Vázquez-Acevedo, M., González-Halphen, D., and Uribe-Carvajal, S. (2009) In *Yarrowia lipolytica* mitochondria, the alternative NADH dehydrogenase interacts specifically with the cytochrome complexes of the classic respiratory pathway *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics* **1787**, 75-85.
  47. Marques, I., Dencher Norbert, A., Videira, A., and Krause, F. (2007) Supramolecular Organization of the Respiratory Chain in *Neurospora crassa* Mitochondria *Eukaryotic Cell* **6**, 2391-2405.
  48. Krause, F., Scheckhuber, C. Q., Werner, A., Rexroth, S., Reifschneider, N. H., Dencher, N. A. *et al.* (2004) Supramolecular Organization of Cytochrome *c* Oxidase- and Alternative Oxidase-dependent Respiratory Chains in the Filamentous Fungus *Podospora anserina*\* *Journal of Biological Chemistry* **279**, 26453-26461.
  49. Ramírez-Camacho, I., García-Niño, W. R., M. Flores-García, M., Pedraza-Chaverri, J., and Zazueta, C. (2020) Alteration of mitochondrial supercomplexes assembly in metabolic diseases *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* **1866**, 165935.
  50. Ramírez-Camacho, I., Flores-Herrera, O., and Zazueta, C. (2019) The relevance of the supramolecular arrangements of the respiratory chain complexes in human diseases and aging *Mitochondrion* **47**, 266-272.
  51. Sparvoli, D., and Lebrun, M. (2021) Unraveling the Elusive Rhoptyry Exocytic Mechanism of Apicomplexa *Trends in Parasitology* **37**, 622-637.
  52. Maclean, A. E., Hayward, J. A., Huet, D., G., G., and Sheiner, L. (2022) The mystery of massive mitochondrial complexes: the apicomplexan respiratory chain *Trends in Parasitology* **38**, 1041-1052.
  53. Fry, M., and Pudney, M. (1992) Site of action of the antimalarial hydroxynaphthoquinone, 2- trans-4-(4'-chlorophenyl) cyclohexyl -3- hydroxy-1,4-naphthoquinone (566C80) *Biochemical Pharmacology* **43**, 1545-1553.
  54. Ghelli, A., Crimi, M., Orsini, S., Gradoni, L., Zannotti, M., Lenaz, G. *et al.* (1992) Cytochrome b of protozoan mitochondria: Relationships between function and structure *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* **103**, 329-338.
  55. Spencer, C. M., and Goa, K. L. (1995) Atovaquone **50**, 176-196.
  56. Wieferrig, J.-P., and Kühlbrandt, W. (2023) Analysis of the conformational heterogeneity of the Rieske iron -- sulfur protein in complex III<sub>2</sub> by cryo-EM *IUCrJ* **10**, 27—37.
  57. Esser, L., Quinn, B., Li, Y.-F., Zhang, M., Elberry, M., Yu, L. *et al.* (2004) Crystallographic Studies of Quinol Oxidation Site Inhibitors: A Modified Classification of Inhibitors for the Cytochrome bc1 Complex *Journal of Molecular Biology* **341**, 281-302.
  58. Fisher, N., Abd Majid, R., Antoine, T., Al-Helal, M., Warman, A. J., Johnson, D. J. *et al.* (2012) Cytochrome b mutation Y268S conferring atovaquone resistance phenotype in malaria parasite results in reduced parasite bc1 catalytic turnover and protein expression *Journal of Biological Chemistry* **287**, 9731-9741.
  59. Zhou, Q., Zhai, Y., Lou, J., Liu, M., Pang, X., and Sun, F. (2011) Thiabendazole inhibits ubiquinone reduction activity of mitochondrial respiratory complex II via a water molecule mediated binding feature *Protein & Cell* **2**, 531-542.
  60. Solmaz, S. R. N., and Hunte, C. (2008) Structure of Complex III with Bound Cytochrome *c* in Reduced State and Definition of a Minimal Core Interface for Electron Transfer *The Journal of biological chemistry* **283**(25), 17542-17549.
  61. Hryc, C. F., Mallampalli, V. K. P. S., Bovshik, E. I., Azinas, S., Fan, G., Serysheva, I. I. *et al.* (2023) Structural insights into cardiolipin replacement by phosphatidylglycerol in a cardiolipin-lacking yeast respiratory supercomplex *Nature Communications* **14**, 2783.



**DR. HÉCTOR VICENTE MIRANDA  
ASTUDILLO**

**ORCID:0000-0002-7728-2718**

Químico Farmacéutico Biólogo por la Facultad de Química (UNAM), realizó su doctorado en el Instituto de Fisiología Celular (UNAM). Posteriormente, se desempeñó como investigador posdoctoral con el Dr. Pierre Cardol en el laboratorio de “*Génétique et Physiologie des Microalgues*” en la Universidad de

Lieja, Bélgica. Ha realizado diversas estancias de investigación entre las que destacan: el “*Instituto de Bioquímica y Genética Celular*” de la Universidad de Burdeos, Francia, el “*Instituto de Botánica*” de la Universidad de Lieja, Bélgica, el “*Instituto de Ciencias Biológicas y Biotecnología*” de la Universidad de Groningen, Países Bajos y el “*Centro Hanáfor para la Investigación Biotecnológica*” de la Universidad Palacký, en la República Checa.

Autor de 18 publicaciones internacionales y una patente en proceso. Ha sido invitado a presentar su investigación en diversos foros, incluyendo: *European Bioenergetics Conference*, *Congrès du Groupe Français de Bioenergetique*, *Pan American Membrane Biology Workshop*, Congreso Nacional de Bioquímica, *First European Congress on Photosynthesis Research*, *International Conference for Plant Mitochondrial Biology*, *EURAXESS Conference*, entre otros. Actualmente, es Investigador de tiempo completo del Departamento de Biología Molecular y Biotecnología del Instituto de Investigaciones Biomédicas, donde dirige el laboratorio de “*Bioenergética de Eucariontes*”. Es Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel I y Miembro Numerario de diversas sociedades científicas entre las que destacan: la Sociedad Mexicana de Bioquímica, la “*Euglena International Network (EIN)*” y “*Le Groupe Français de Bioénergétique*”.