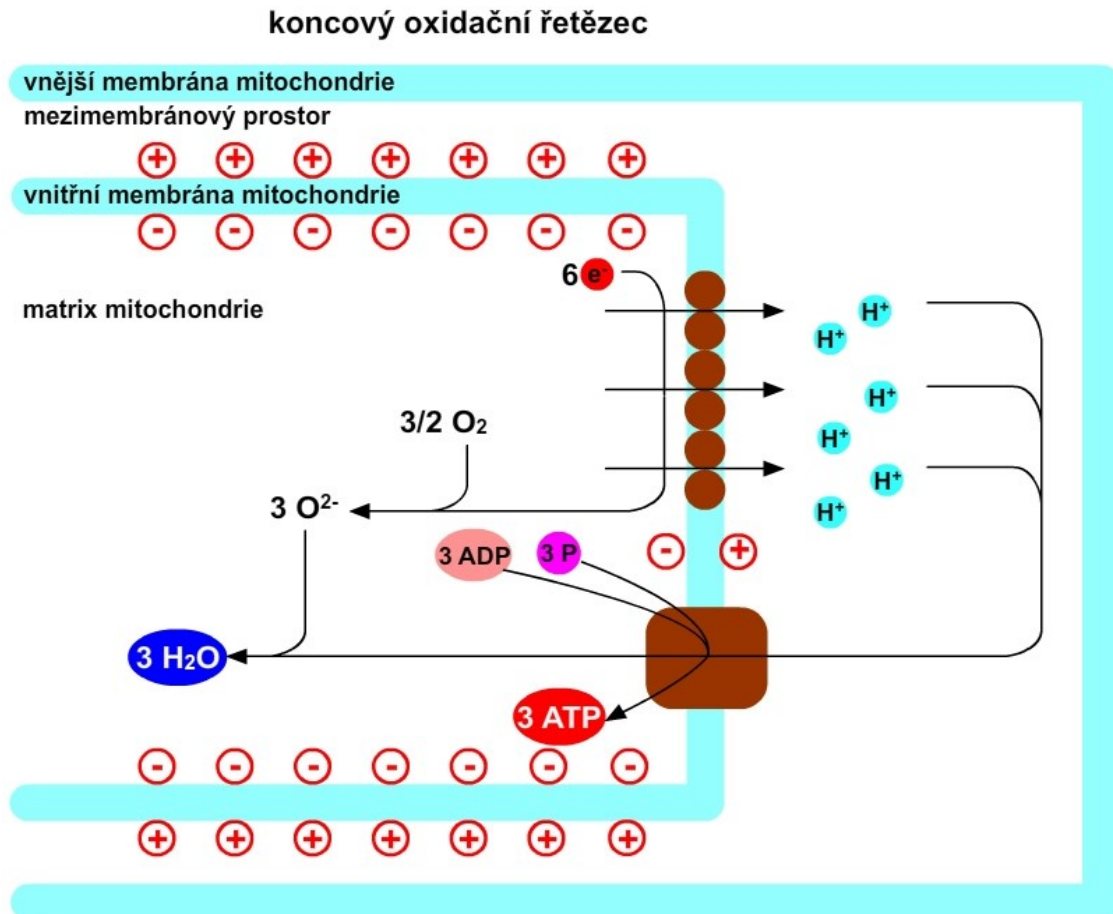


Dýchací řetězec



Milada Teplá

KUDCH, Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy,

Praha 2020

1. Úvod

Dýchání (respiraci) můžeme rozdělit na dvě rozdílné součásti jednoho procesu:

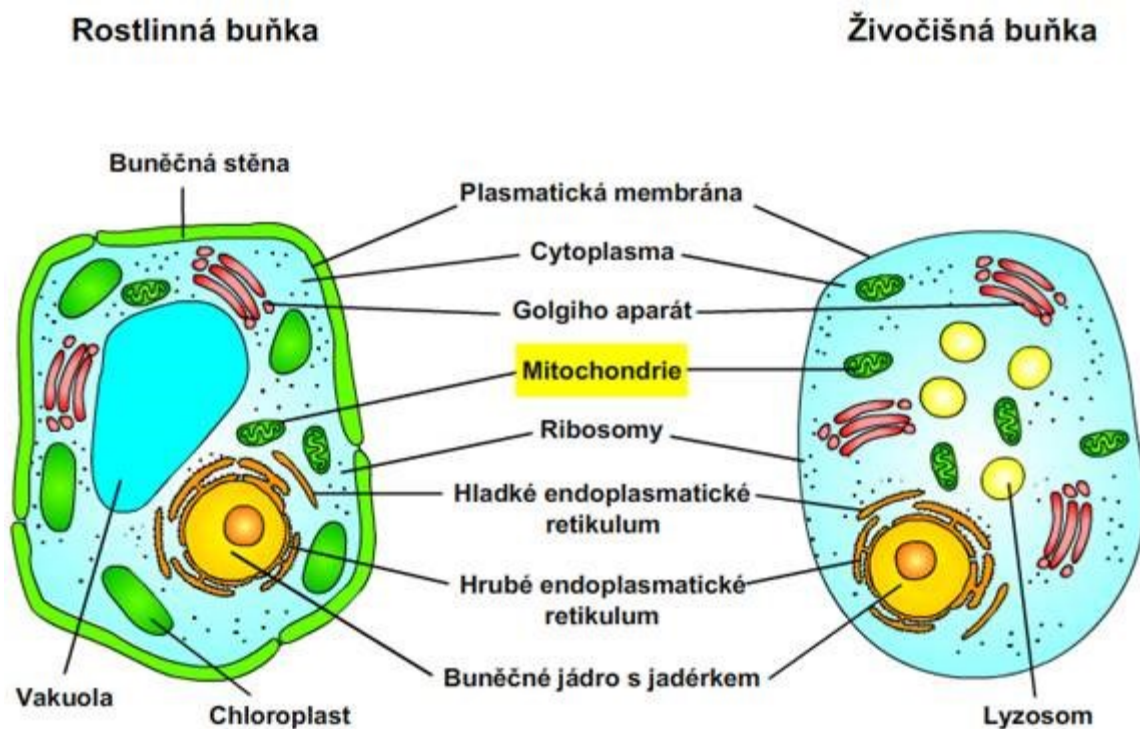
- Vnější respirace. Kyslík je přenášen oběhovým systémem (srdce a krevní cévy) ke každé buňce organismu. Pokud by k tomu nedocházelo, tkáně by se nenapravitelně poškodily již během několika minut. Vnější respirace umožňuje vnitřní respiraci.
- Vnitřní respirace (buněčné dýchání). Jedná se o soubor reakcí, které ukončují energetické odbourávání sacharidů, lipidů a bílkovin za účelem zisku energie s využitím kyslíku, na konci jsou produkty s nejnižším obsahem energie (CO₂, H₂O), tedy v oxidované formě. Proces probíhá v eukaryotních buňkách.

Sumární reakce dýchacího řetězce: $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{O}_2 + 6 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 6 \text{CO}_2 + 12 \text{H}_2\text{O}$

2. Eukaryotní buňka

Eukaryotní buňky jsou dvojího typu: rostlinné a živočišné. Dýchací řetězec (transport elektronů skrze komplexy dýchacího řetězce a oxidační fosforylace) je u eukaryotních organismů lokalizován v **mitochondriích**.

Viz animace: [Eukaryotní buňka](#).

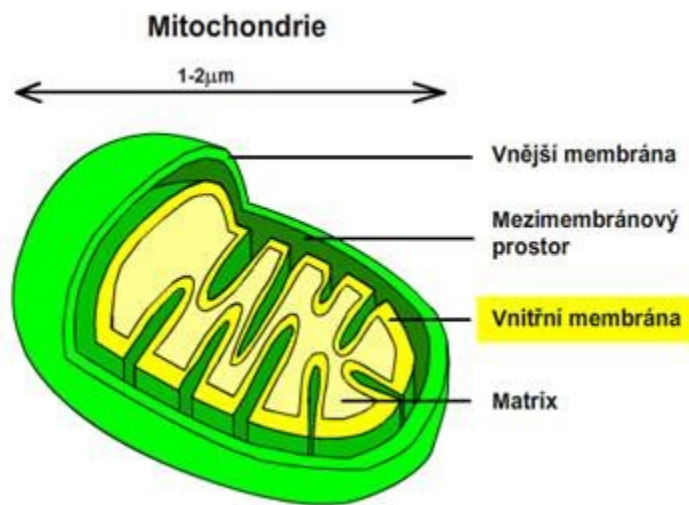


Obr. 1: Složení rostlinné a živočišné eukaryotní buňky.

3. Složení mitochondrie

Mitochondrie jsou elipsoidní orgány s vlastním genetickým aparátem. Obsahují dva typy membrán: vnější a vnitřní. Vnější membrána obsahuje protein porin, který umožňuje volnou difuzi. Vnitřní membrána je volně propustnou pouze pro O_2 , CO_2 a H_2O . Vnitřní membrána obsahuje transportní proteiny, které regulují průchod iontů, metabolitů a nízkomolekulárních sloučenin. Membrány určují dva oddělené prostory: mezimembránový prostor a matrix (gelovitou hmotu s obsahem vody menším než 50 %). Proteiny podílející se na transportu elektronů (z NADH a $FADH_2$) a oxidační fosforylaci (syntéze ATP) jsou vázány k vnitřní mitochondriální membráně.

Viz animace: [Složení mitochondrie](#).

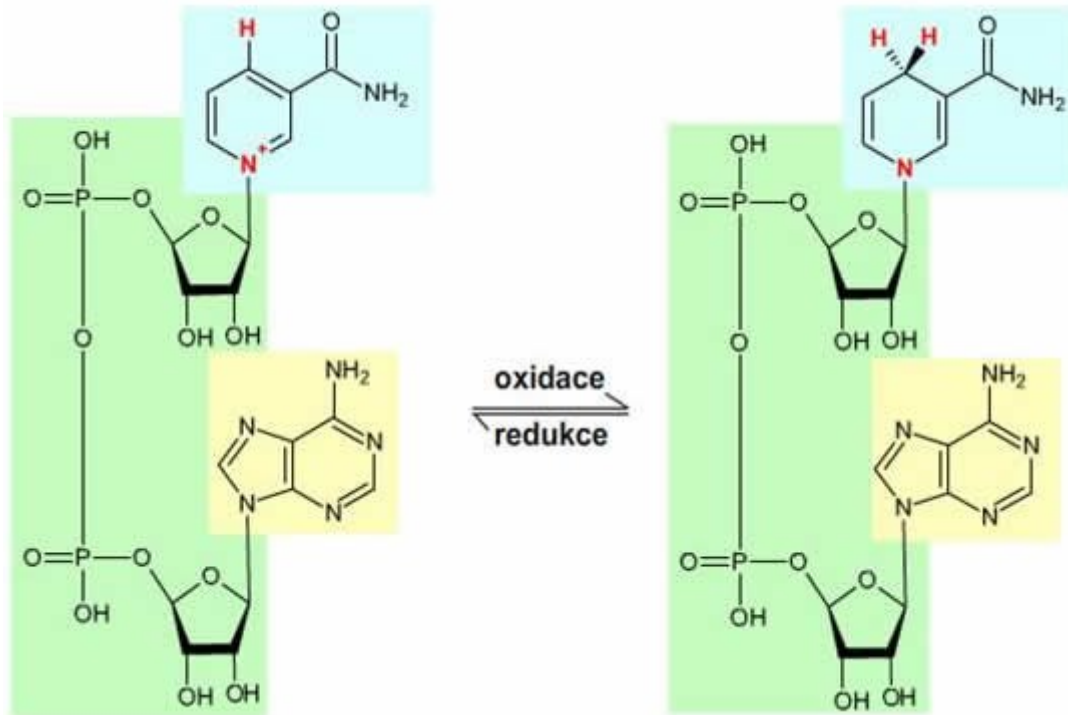


Obr. 2: Složení mitochondrie.

4. Úvod do dýchacího řetězce a koenzymy NADH a FADH₂

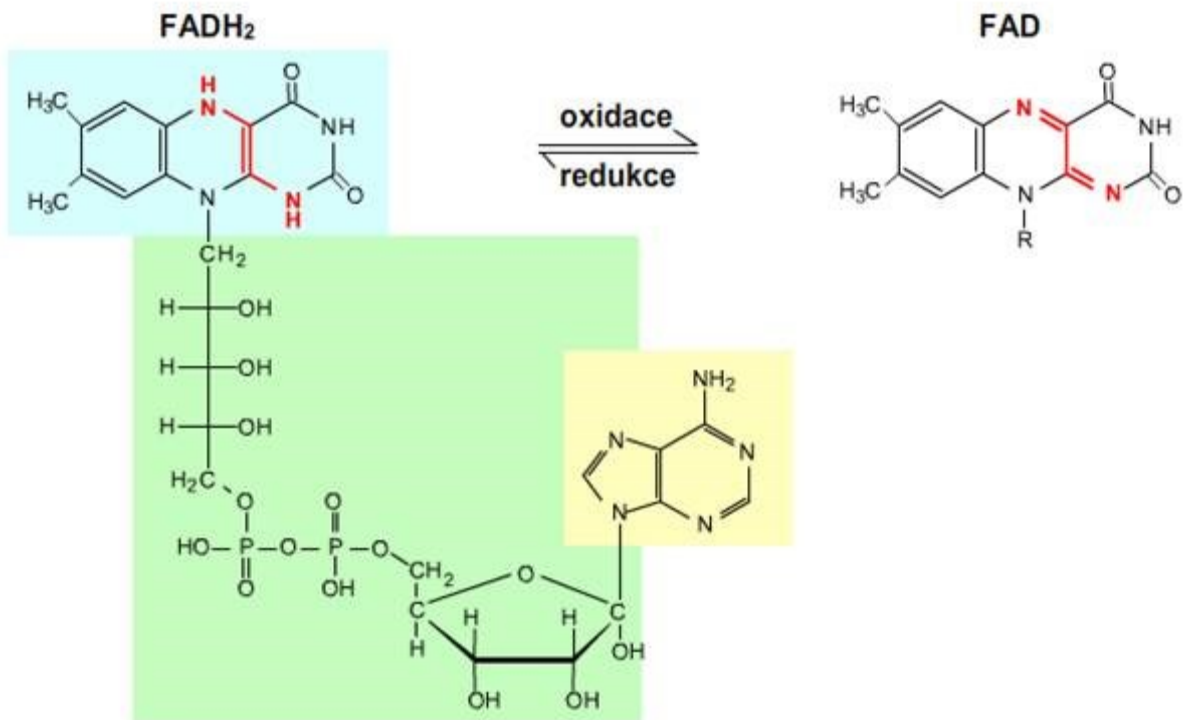
Dýchací řetězec je souborem reakcí, které ukončují energetické odbourávání sacharidů, lipidů a bílkovin. Během tohoto odbourávání dochází ke vzniku redukovaných koenzymů – **NADH** a **FADH₂**.

NADH (nikotinamidadenindinukleotid) se v dýchacím řetězci zpět oxiduje na NAD⁺ dle reakce: **NADH + H⁺ → NAD⁺ + 2 H⁺ + 2 e⁻**.



Obr. 3: Nikotinamidadenindinukleotidfosfát v oxidované (nalevo) a redukované podobě (napravo).

FADH₂ (flavinadenindinukleotid) se v dýchacím řetězci zpět oxiduje na FAD dle reakce: **FADH₂ → FAD + 2 H⁺ + 2 e⁻**.



Obr. 4: Flavinadenindinukleotid.

Elektrony z redukovaných koenzymů jsou přenášeny po sérii akceptorů uspořádaných v dýchacím řetězci na elementární kyslík za vzniku vody. Protony z redukovaných koenzymů a z matrix mitochondrie jsou přenášeny do mezimembránového prostoru. Protony přecházejí zpět z mezimembránového prostoru do matrix. Při tomto přenosu dochází ke vzniku ATP (viz animace [pH rozdíl](#) a [Syntéza ATP](#)).

Viz animace: [Úvod do dýchacího řetězce](#); [NADH](#); [FAD](#); [NADH – redoxní děj](#); [FAD – redoxní děj](#).

5. Komplex I

Komplex I (neboli NADH-ubichinonoxidoreduktasa) přenáší elektrony z **NADH** na **koenzym Q** (CoQ, ubichinon), který tím redukuje na ubichinol (CoQH₂). Oxidace NADH je výrazně exergonickou reakcí (NADH je redukční činidlo):



Komplex I obsahuje flavinmononukleotid (**FMN**) a dále **Fe-S klastry**, které se zúčastňují přenosu elektronů z NADH na CoQ.

Fe-S klastry obsahují ionty železa, které mění své oxidační stavy:



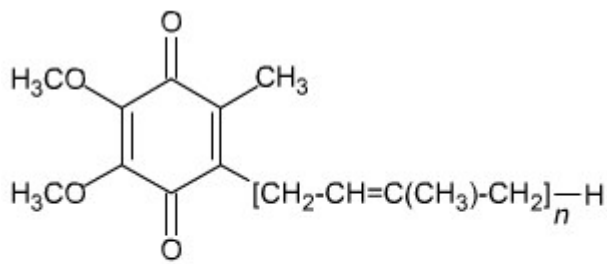
Transport elektronů skrze komplex I: Dva elektrony a proton z NADH přechází na FMN za vzniku FMNH⁻ a NAD⁺. Elektrony z FMNH⁻ (po jednom) přecházejí na CoQ, který je postupně redukován na ubisemichinon CoQH[•] (radikál) a poté až na CoQH₂ (ubichinol). Při navázání elektronu na CoQ dochází zároveň k navázání protonu H⁺ z matrix.

Během přenosu elektronů z NADH na CoQ skrze komplex I dochází k přenosu čtyř H⁺ z matrix do mezimembránového systému. Redukovaný ubichinol (CoQH₂) je uvolněn z komplexu I a je nahrazen další molekulou oxidovaného ubichinonu (CoQ).

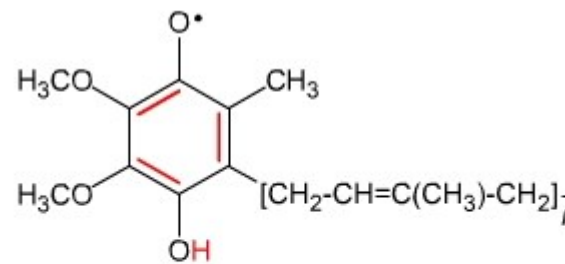
Oxidační stavy koenzymu Q (viz obr. 5):

- $\text{CoQ} + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{CoQH}^{\bullet}$ (vznik ubisemichinonu – radikál);
 $\text{CoQH}^{\bullet} + \text{H}^+ + \text{e}^- \rightarrow \text{CoQH}_2$ (vznik ubichinolu – redukováná forma);
 $\text{CoQH}_2 \rightarrow \text{CoQH}^{\bullet} + \text{H}^+ + \text{e}^-$ (vznik ubisemichinonu – radikál);
 $\text{CoQH}^{\bullet} \rightarrow \text{CoQ} + \text{H}^+ + \text{e}^-$ (vznik ubichinonu – oxidovaná forma).

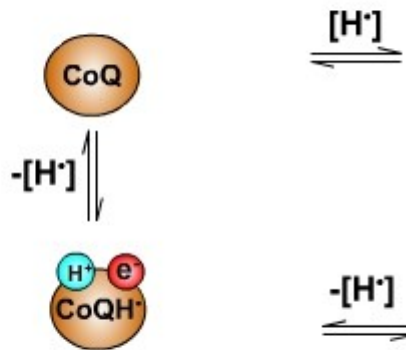
Viz animace: [Komplex I](#).



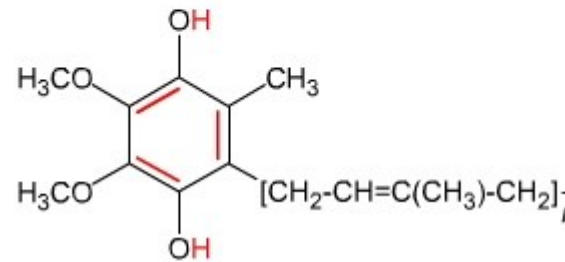
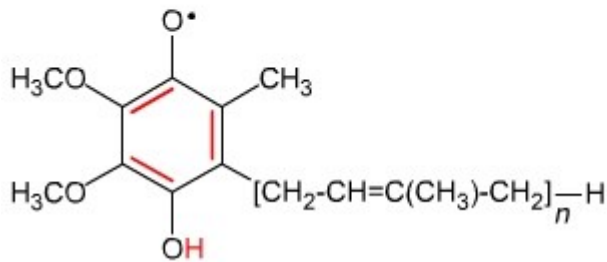
Koenzym Q
(CoQ, ubichinon)
oxidovaná forma



Koenzym QH•
(CoQH•, ubisemichinon)
radikálová forma



Koenzym QH•
(CoQH•, ubisemichinon)
radikálová forma



Koenzym QH2
(CoQH2, ubichinol)
redukována forma



Obr. 5: Formy koenzymu Q.

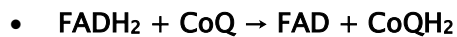
6. Komplex II

Komplex II (neboli sukcinát–ubichinonoxidoreduktasa) přenáší elektrony ze **sukcinátu** na **koenzym Q** (CoQ, ubichinon), který tím redukuje na ubichinol (CoQH₂). Sukcinát se oxiduje na fumarát za vzniku redukovaného koenzymu FADH₂. Jedná se o reakci, která je součástí citrátového cyklu.

Komplex II obsahuje **cytochrom *b*** (cyt *b*) a **Fe–S klastry**, které se zúčastňují přenosu elektronů z FADH₂ na CoQ. Fe–S klastry i cyt *b* obsahují ionty železa, které mění své oxidační stavy:



Transport elektronů skrze komplex II: Elektrony (vždy po jednom) přecházejí z FADH₂ na koenzym Q. Oxidace FADH₂ je exergonickou reakcí (FADH₂ je redukční činidlo):

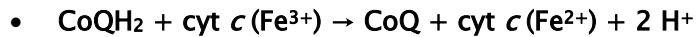


CoQ je postupně redukován na ubisemichinon CoQH• (radikál) a v následujícím kroku na CoQH₂ (ubichinol). Redukovaný ubichinol (CoQH₂) je uvolněn z komplexu I a je nahrazen další molekulou oxidovaného ubichinonu (CoQ).

Viz animace: [Komplex II](#).

7. Komplex III

Komplex III (neboli ubichinol–cytochrom–*c*–oxidoreduktasa) přenáší elektrony z redukovaného koenzymu Q (ubichinolu, CoQH₂) na cytochrom *c* :

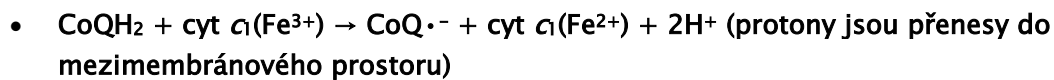


Komplex III obsahuje **cytochrom *b*** (cyt *b*), který váže dva hemy (*b_H* a *b_L*), **cytochrom *c*₁** (cyt *c*₁) a **Rieskeho Fe–S protein (ISP)**. Cytochromy a Rieskeho Fe–S protein obsahují ionty železa, které mění své oxidační stavy:

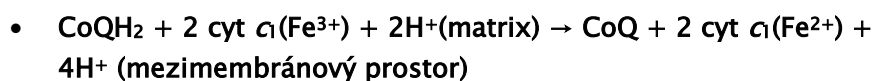


Transport elektronů skrze komplex III: Mechanismus, kterým komplex III přebírá elektrony od CoQH₂ se nazývá **Q–cyklus**, během kterého dochází k pumpování H⁺ z matrix do mezimembránového protonu. Jedním z meziproductů Q–cyklu je stabilní **CoQ•⁻ semichinon**. Komplex III obsahuje dvě vazebná místa: **Q_o**, který váže CoQH₂, a **Q_i**, který váže CoQ•⁻ a CoQ.

CoQH₂ (produkt komplexu I nebo II) se váže do Q_o místa. Jeden z elektronů je přenesen přes ISP na cyt *c*₁ (a posléze až na cyt *c*), přičemž se uvolní dva protony do mezimembránového prostoru. Vzniká CoQ•⁻. Druhý elektron přechází na hem *b_L*, který posléze redukuje hem *b_H*. Vzniklý CoQ je uvolněn z Q_o místa a váže se do Q_i místa. Elektron z hemu *b_H* přechází zpět na CoQ za opětovného vzniku CoQ•⁻:



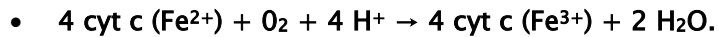
Jiná molekula CoQH₂ se váže do Q_o místa – děje se opakují. Další elektron z hemu *b_H* redukuje CoQ•⁻ za současného navázání dvou protonů z matrix mitochondrie. Vzniká CoQH₂. Na každé dva CoQH₂, které vstupují do Q–cyklu se jeden CoQH₂ regeneruje. Výsledkem je sumární reakce:



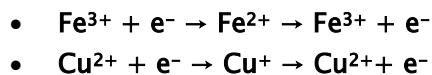
Viz animace: [Komplex III](#).

8. Komplex IV

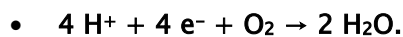
Komplex IV (neboli cytochrom-*c*-oxidasa) katalyzuje oxidaci čtyř po sobě redukovaných molekul cytochromu *c* (cyt *c*) za současné redukce molekuly O₂. Produktem je voda:



Komplex IV obsahuje **Cu_A centrum**, **cytochrom *a*** (cyt *a*) a binukleární komplex **cytochromu *a*₃** (cyt *a*₃) a **Cu_B centra**. Cytochromy a Cu centra obsahují ionty železa a mědi, které mění své oxidační stavy:



Transport elektronů skrze komplex IV: Molekula O₂ se váže do binukleárního centra. Cyt *c* slouží jako pohyblivý přenašeč elektronů z komplexu III na komplex IV. Elektrony jsou přenášeny z cyt *c* přes Cu_A centrum, cyt *a* a binukleární komplex cyt *a*₃ a Cu_B centra až na kyslík. Molekula kyslíku je postupně redukována na O²⁻ ionty, které s protony z matrix reagují za vzniku dvou molekul vody:



Na úplnou redukci jedné molekuly kyslíku na dvě molekuly vody je zapotřebí čtyř elektronů a čtyř protonů. Během přenosu čtyř elektronů skrze komplex IV dochází k přenosu čtyř protonů z matrix do mezimembránového prostoru:

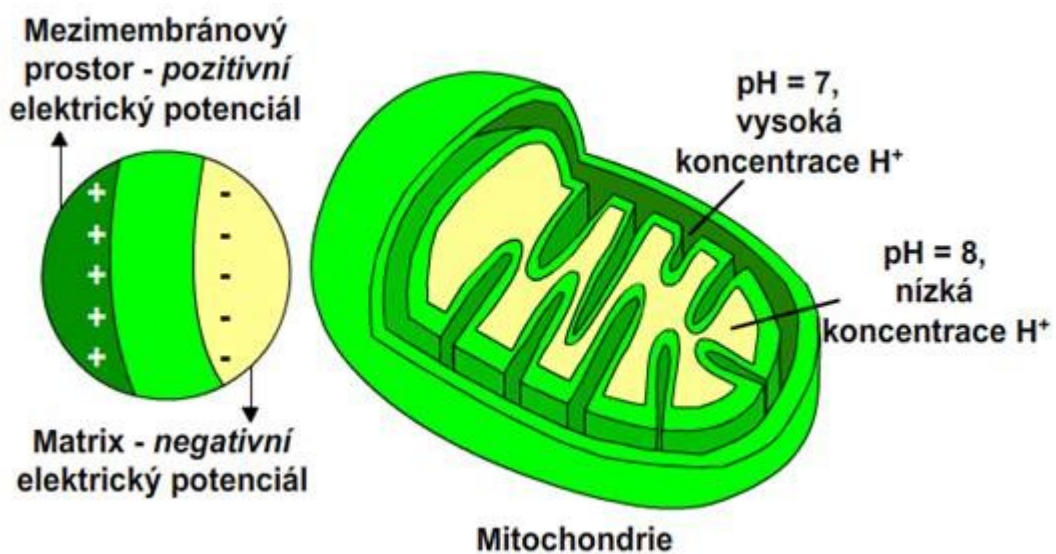


Viz animace: [Komplex IV](#).

9. Syntéza ATP (oxidační fosforylace)

Během transportu elektronů dýchacím řetězcem vzniká volná energie. Tato energie způsobuje, že komplexy I, III a IV se zúčastní translokace protonů z matrix do mezimembránového prostoru. Vytváří se elektrochemický protonový gradient (koncentrace protonů je v mezimembránovém prostoru vyšší než v matrix). Matrix je oblast nízké koncentrace protonů a negativního elektrického potenciálu. Mezimembránový prostor je oblast vysoké koncentrace protonů a pozitivního elektrického potenciálu. Výsledný elektrochemický potenciál tohoto gradientu je využit k syntéze **ATP**.

Viz animace: [pH rozdíly](#).

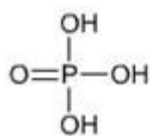


Obr. 6: pH rozdíly a elektrický potenciál v mitochondrii.

Syntéza ATP je endergonický proces, při kterém vzniká ATP (**adenosintrifosfát**) z ADP (**adenosindifosfát**) a P (anorganický fosfát). Reakce je katalyzována enzymem ATP-synthasou a je poháněna transportem protonů (viz animace [pH rozdíly](#)). Protony přecházejí skrze ATP-synthasu z mezimembránového prostoru zpět do matrix mitochondrie. Vzniká tak energie, která je využita k syntéze ATP. Předpokládá se, že na vznik jedné molekuly ATP je zapotřebí zpětného přenosu tří až čtyř protonů. Tato syntéza ATP se nazývá oxidační fosforylace.

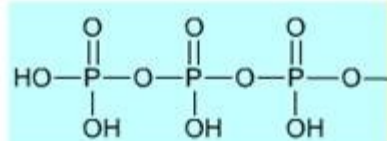
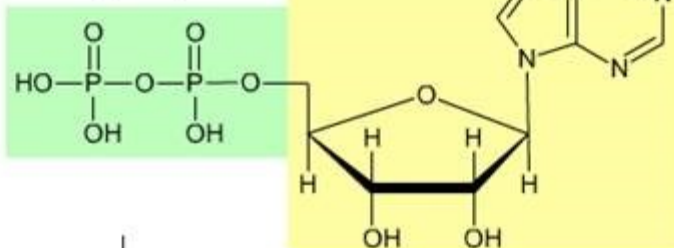
Viz animace: [ATP synthasa](#).

Anorganický fosfát (P_i)



+

Adenosindifosfát
(ADP)



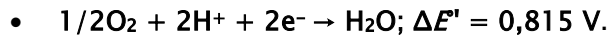
Adenosintrifosfát
(ATP)

Obr. 7: Rovnice oxidační fosforylace.

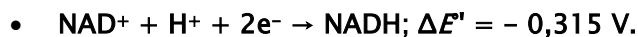
10. Schéma redoxních potenciálů

Afinita oxidovaného substrátu k elektronům vzrůstá s jeho standardním redoxním potenciálem E' .

Kyslík má velkou afinitu k elektronům (kyslík je silné oxidační činidlo):



NAD^+ má malou afinitu k elektronům (NAD^+ je slabé oxidační činidlo; $NADH$ je silné redukční činidlo):



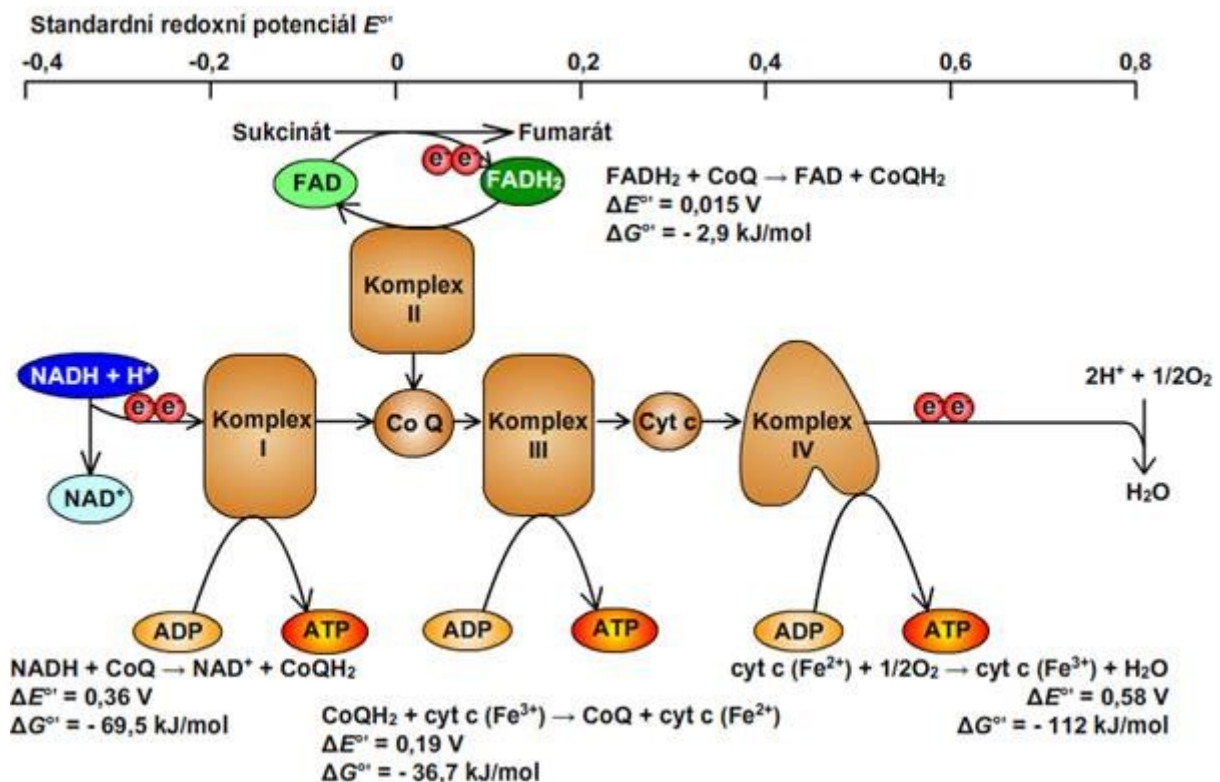
$NADH$ je v tomto spojení donorem elektronů a O_2 je akceptorem elektronů. Celková reakce:



Změna standardní volné energie pro tuto reakci: $\Delta G' = -nF\Delta E' = (-2 \times 96\,485 \times 1,13) \text{ kJ/mol} = -218 \text{ kJ/mol}$

Energie potřebná na vznik jedné molekuly ATP z ADP a fosfátu je rovna $30,5 \text{ kJ/mol}$ (jedná se o standardní volnou energii, $\Delta G'$).

Oxidace jedné molekuly $NADH$ vede k syntéze $\sim 2,5$ molekul ATP . Oxidace jedné molekuly $FADH_2$ vede k syntéze $\sim 1,5$ molekul ATP .



Obr. 8: Schéma redoxních potenciálů.

Viz animace: [Schéma redoxních potenciálů](#).

(Pozn. Hodnoty $\Delta E'$ a $\Delta G'$ převzaty z Voet, 2011.)

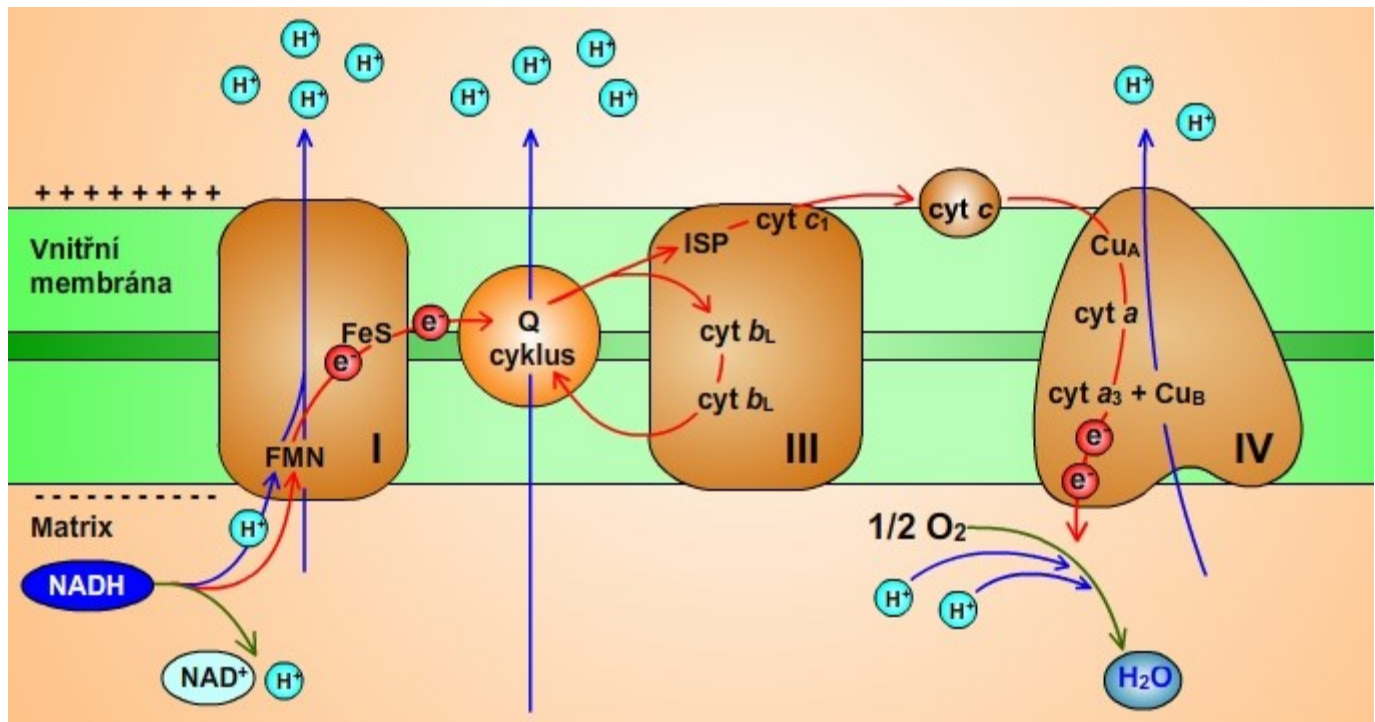
(Pozn. Standardní redoxní potenciál E' je napětí generované při reakci poločlánku za standardních biochemických podmínek (při koncentraci výchozích látek a produktů rovnající se 1 mol/l a s koncentrací $[H^+]$ definovanou jako 1 při pH = 7) vztažených ke standardní vodíkové elektrodě. Rozdíl standardního redoxního potenciálu $\Delta E'$ redoxní rovnice lze vyjádřit takto: $\Delta E' = E'_{(\text{akceptor})} - E'_{(\text{donor})}$.)⁶

(Pozn. Změna standardní volné energie může být vypočítána z rovnice:

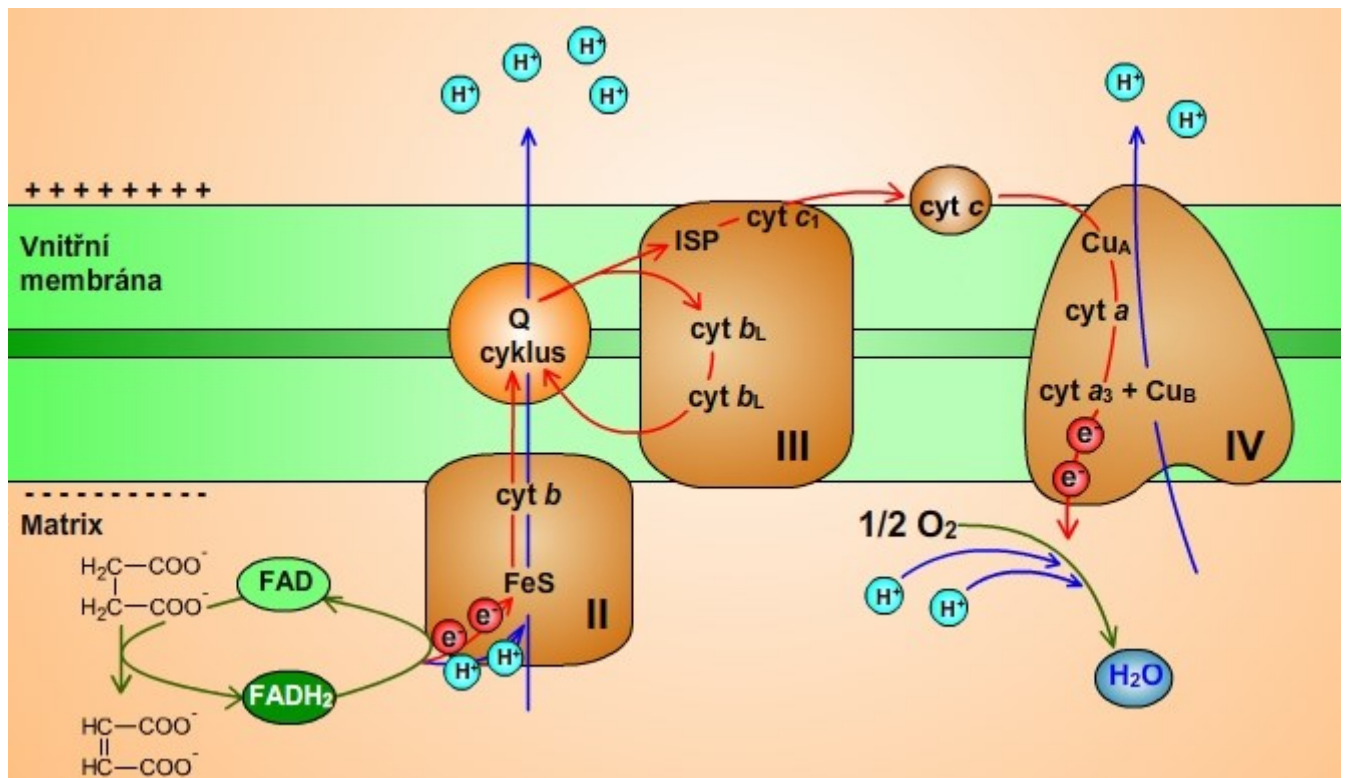
$\Delta G' = -nF\Delta E'$, kde F (Faradayova konstanta) pro elektron je 96 494 C/mol a n je počet přenesených elektronů na mol reaktantů.)

11. Kompletní schéma dýchacího řetězce

Viz obrázek 9 a 10 níže a též animace: [Kompletní schéma dýchacího řetězce](#).

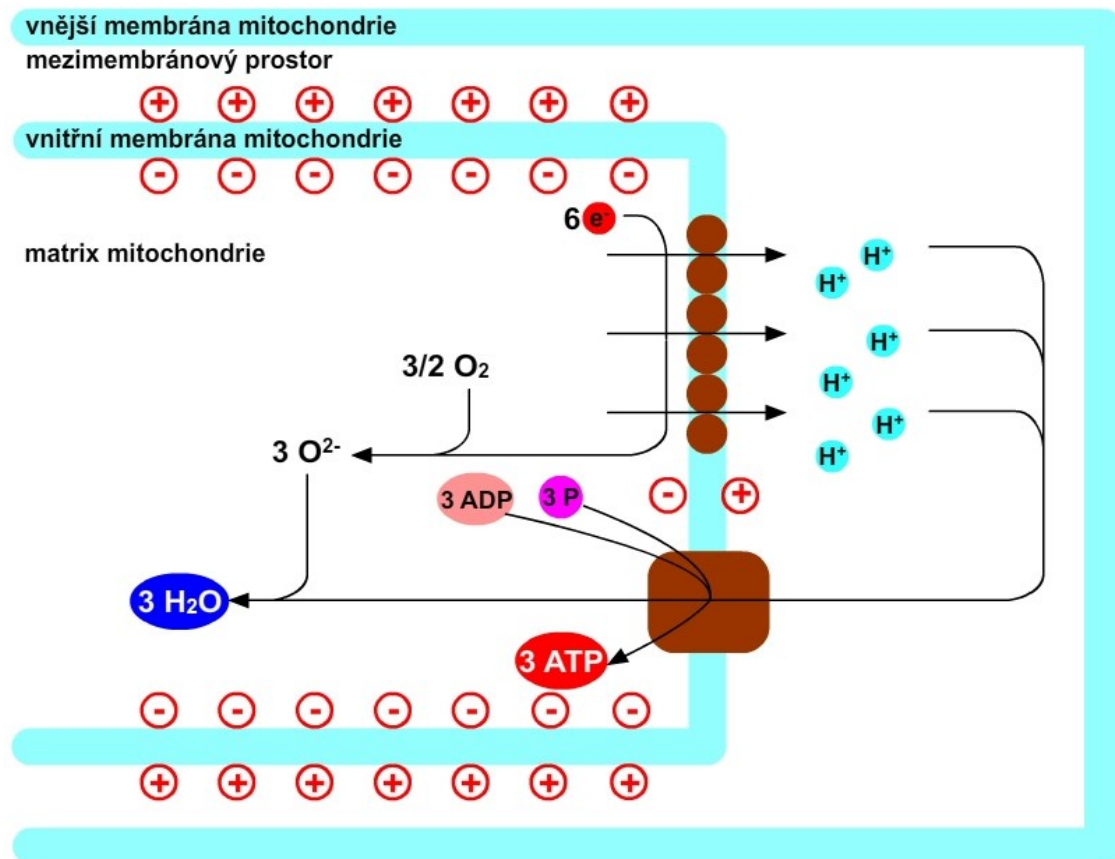


Obr. 9: Schéma dýchacího řetězce (komplex I, III a IV): Elektrony jsou přenášeny mezi komplexem I a komplexem III v membráně rozpustným CoQ (prostřednictvím Q-cyklu) a mezi komplexem III a IV periferním membránovým proteinem – cytochromem c.



Obr. 10: Schéma dýchacího řetězce (komplex I, III a IV): Komplex II přenáší elektrony ze sukcinátu na CoQ. Elektrony jsou prostřednictvím Q-cyklu přeneseny na komplex III a mezi komplexem III a IV periferním membránovým proteinem – cytochromem c.

koncový oxidační řetězec



Obr. 11: Zjednodušené schéma dýchacího řetězce.

12. Použitá literatura

Voet, D. J.; Voet, J. G. *Biochemistry*, 4th ed.; John Wiley & Sons, Inc.: United States of America, 2011; pp 823–870.