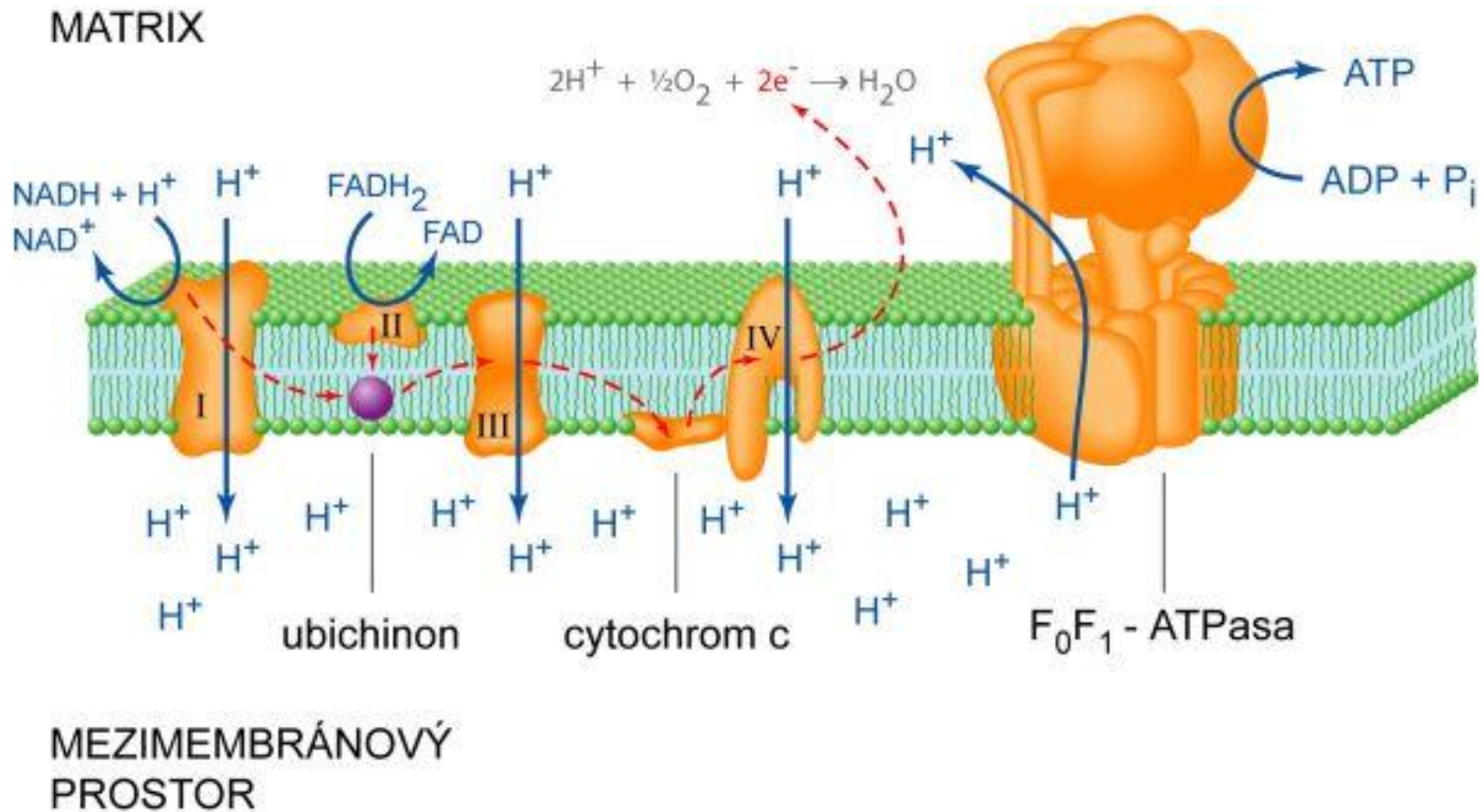


**Dýchací řetězec,  
oxidativní fosforylace,  
mitochondriální transportní systémy**

**JAN ILLNER**

# Dýchací řetězec & oxidativní fosforylace



# Tvorba energie v živých systémech

**ATP** – zdroj E pro biochemické procesy

Tvorba ATP:  $\text{ADP} + \text{P}_i$

- 1) Substrátová fosforylace – malá část, význam za anaerobních podmínek
- 2) Fotosyntetická fosforylace – chloroplasty zelených rostlin, chlorofyl
- 3) Oxidativní fosforylace** – dominantní způsob tvorby ATP pro živočišné buňky

# Tvorba energie v živých systémech

## Využití živin na tvorbu ATP:

Oxidace účinkem *dehydrogenáz*



Tvorba redukovaných koenzymů



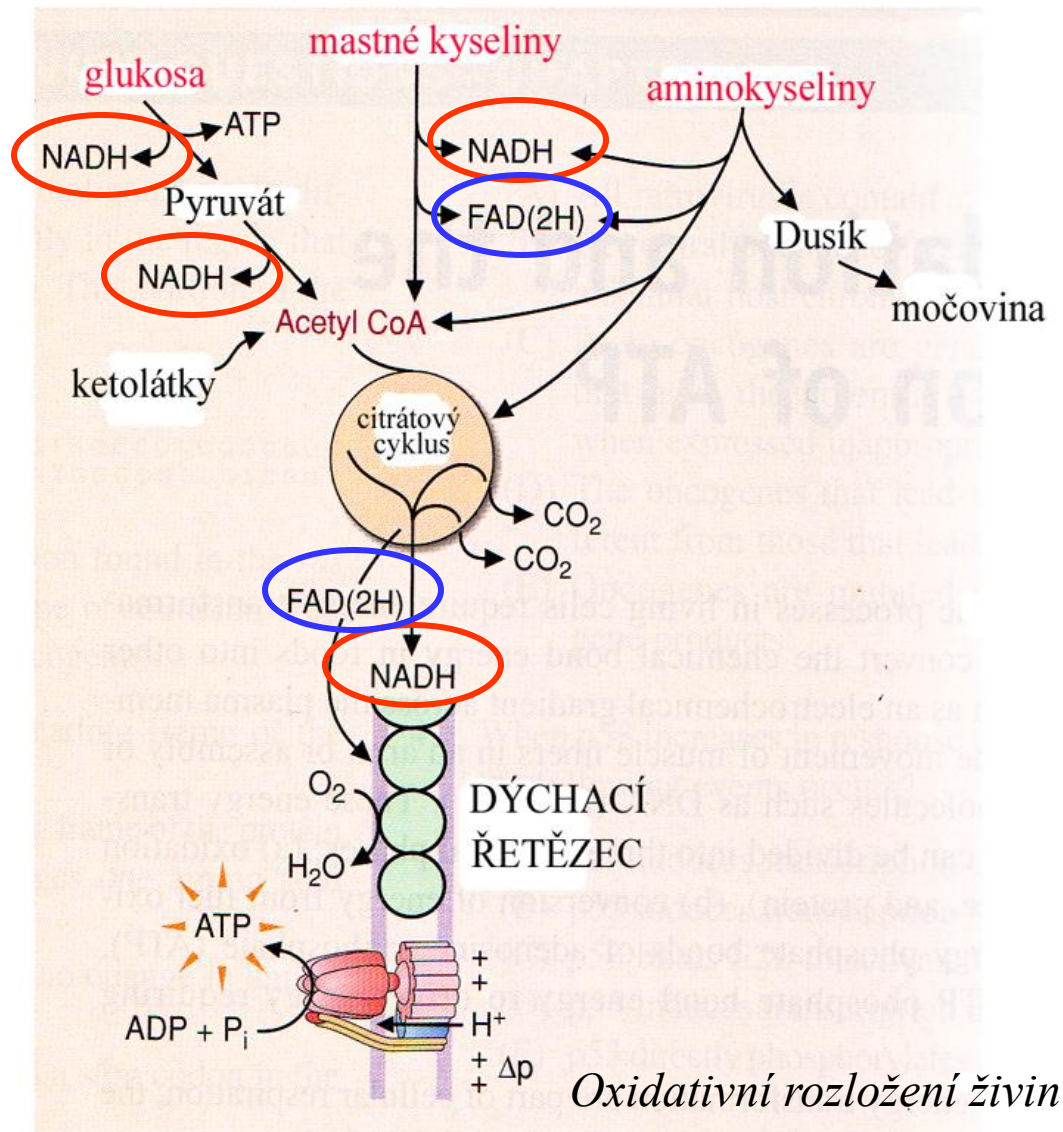
Přenos redukovaných ekvivalentů



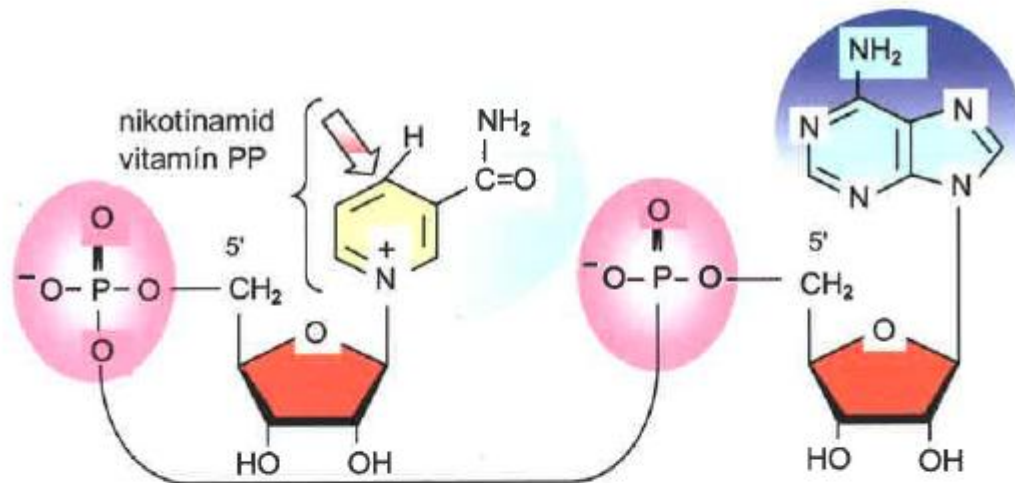
Tvorba protonového gradientu



Tvorba ATP

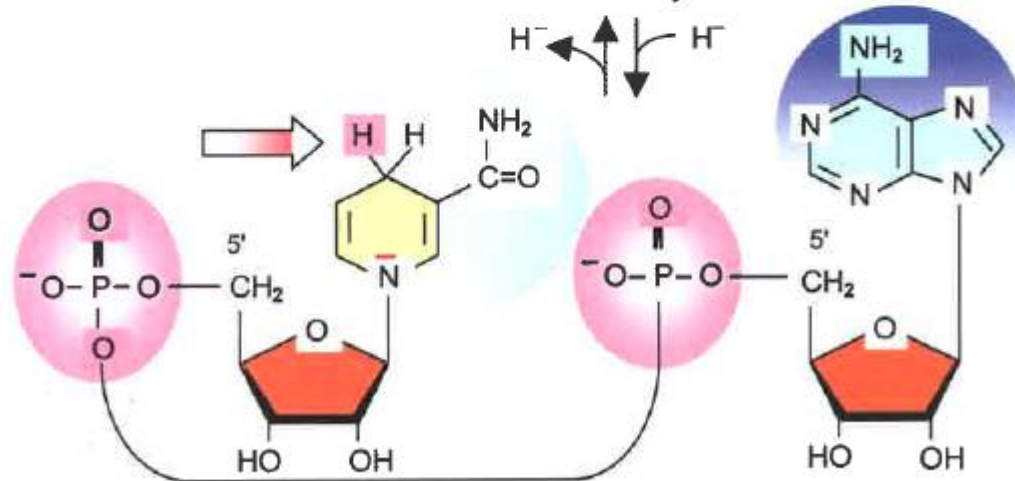


# Nikotinamidové koenzymy



**nikotínamidadenínindinukleotid – NAD<sup>+</sup>**  
oxidovaná forma koenzýmu

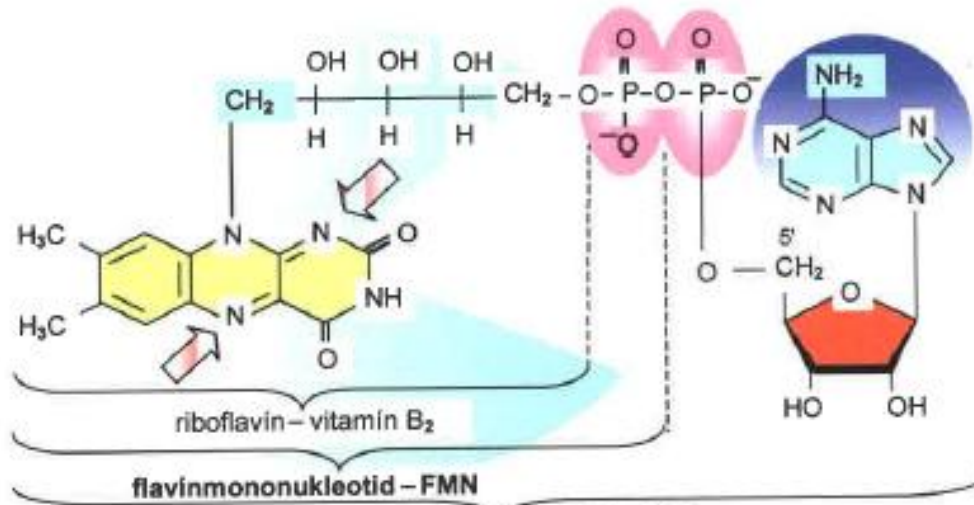
**NAD<sup>+</sup>**



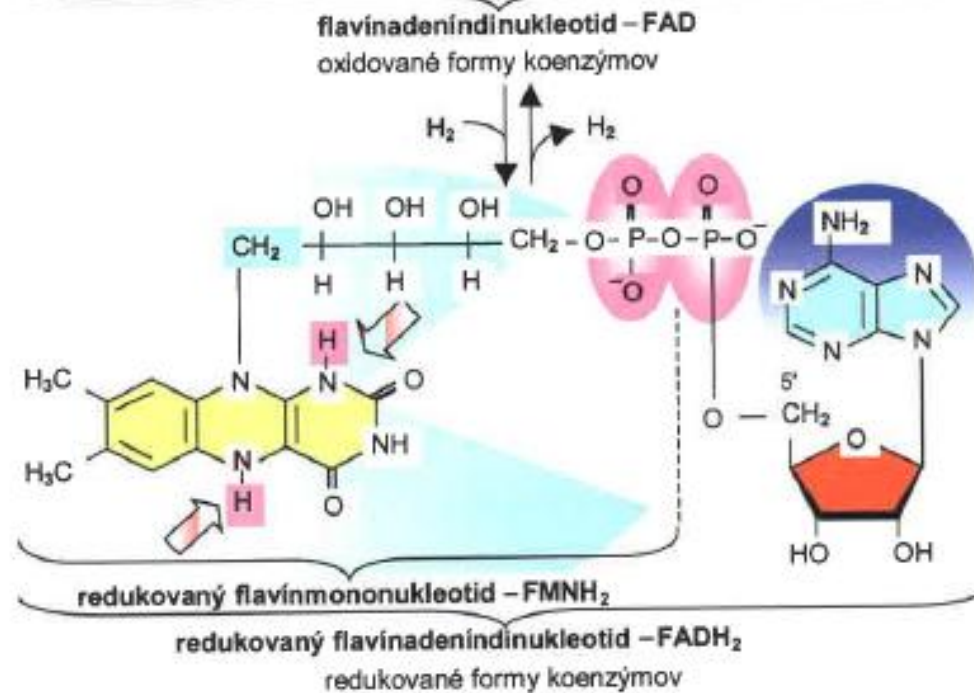
**nikotínamidadenínindinukleotid – NADH**  
redukována forma koenzýmu

**NADH**

# Flavinové koenzymy



**FAD**



**FADH<sub>2</sub>**



# Osud koenzymů

Redukované koenzymy

**NADH a FADH<sub>2</sub>**

vytvořené během

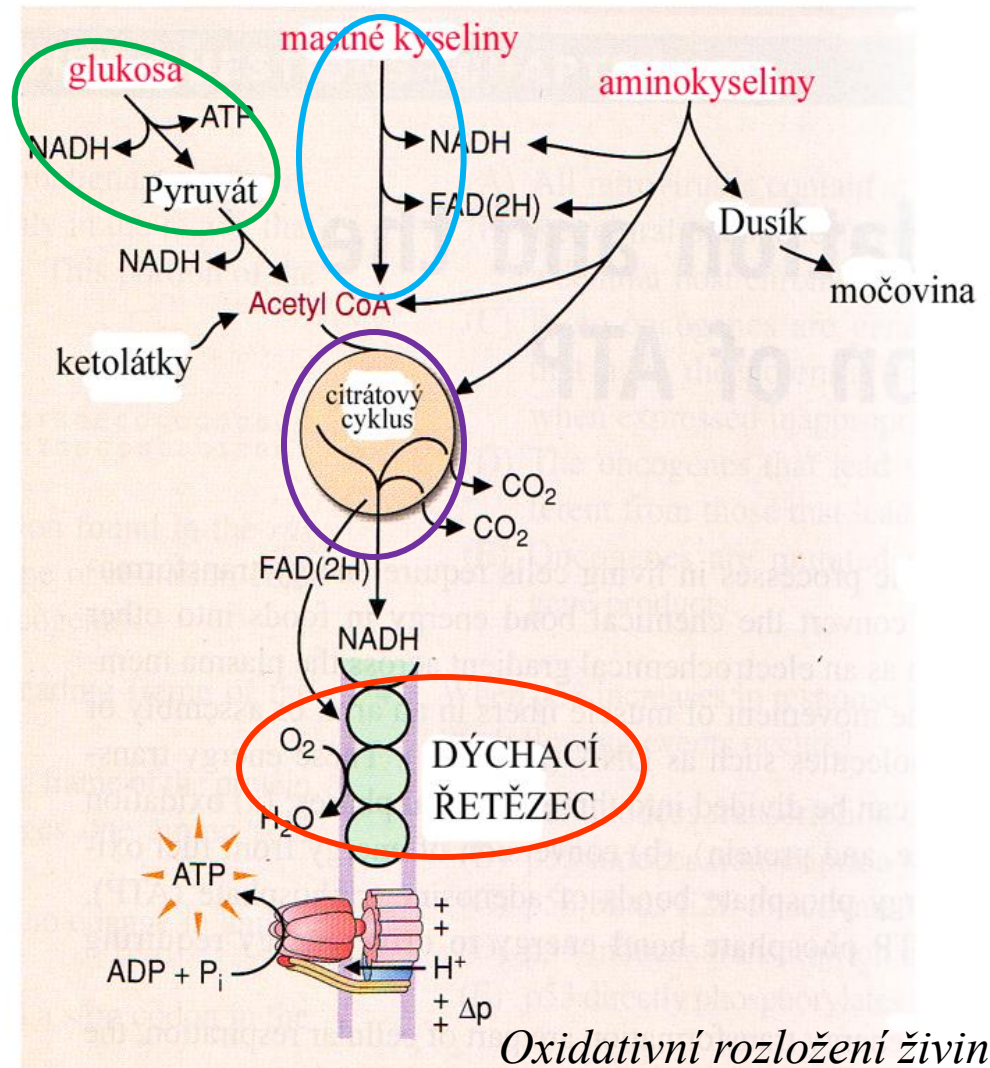
citrátového cyklu

oxidace mastných kyselin

glykolýzy

jsou **oxidovány** v

dýchacím řetězci



# Mitochondrie

## Vnitřní membrána

velký povrch  $\Rightarrow$  **kristy**

**nepropustná**, transportéry

kardiolipin, enzymy DŘ, *ATP-syntháza*

## Vnější membrána

*monoaminoxidáza* (MAO)

**propustná** díky porinu

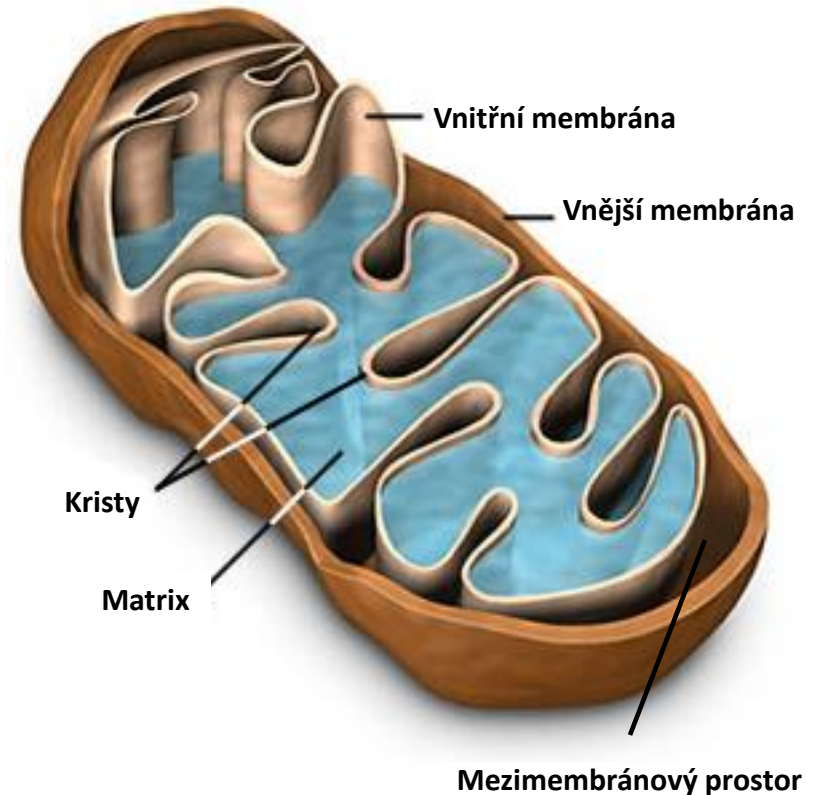
enzymy prodl. řet. MK, met. fosfolipidů,  
*acyl-CoA-syntháza*, *glycerolfosfátacyltransferáza*

## Matrix

enzymy CC,  $\beta$ -ox. MK, částečné syntézy hemu

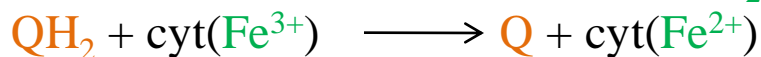
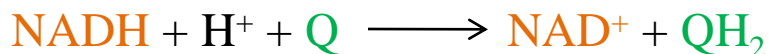
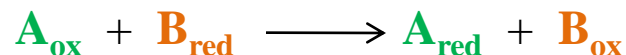
## Mezimembránový prostor

*adenylátkináza*, *kreatinkináza*





# Oxidačně – redukční (redoxní) reakce



$E^0$  ... standardní oxidačně – redukční **potenciál**

Redoxní systém	$E^{0'}$ [V]
$\text{NAD}^+/\text{NADH} + \text{H}^+$	- 0,32
pyruvát/laktát	- 0,19
oxalacetát/malát	- 0,17
$\text{FAD}/\text{FADH}_2$	- 0,12
$2\text{H}^+/\text{H}_2$ (pH = 0)	0
fumarát/sukcinát	+ 0,03
ubichinon oxidovaný/redukovaný	+ 0,10
cytochrom c ( $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ )	+ 0,23
cytochrom $\text{a}_3$ ( $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ , $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ )	+ 0,39
$1/2 \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	+ 0,81

# Dýchací řetězec

přenos **elektronů** systémem přenašečů z redukovaných koenzymů na koncový akceptor **O<sub>2</sub>**

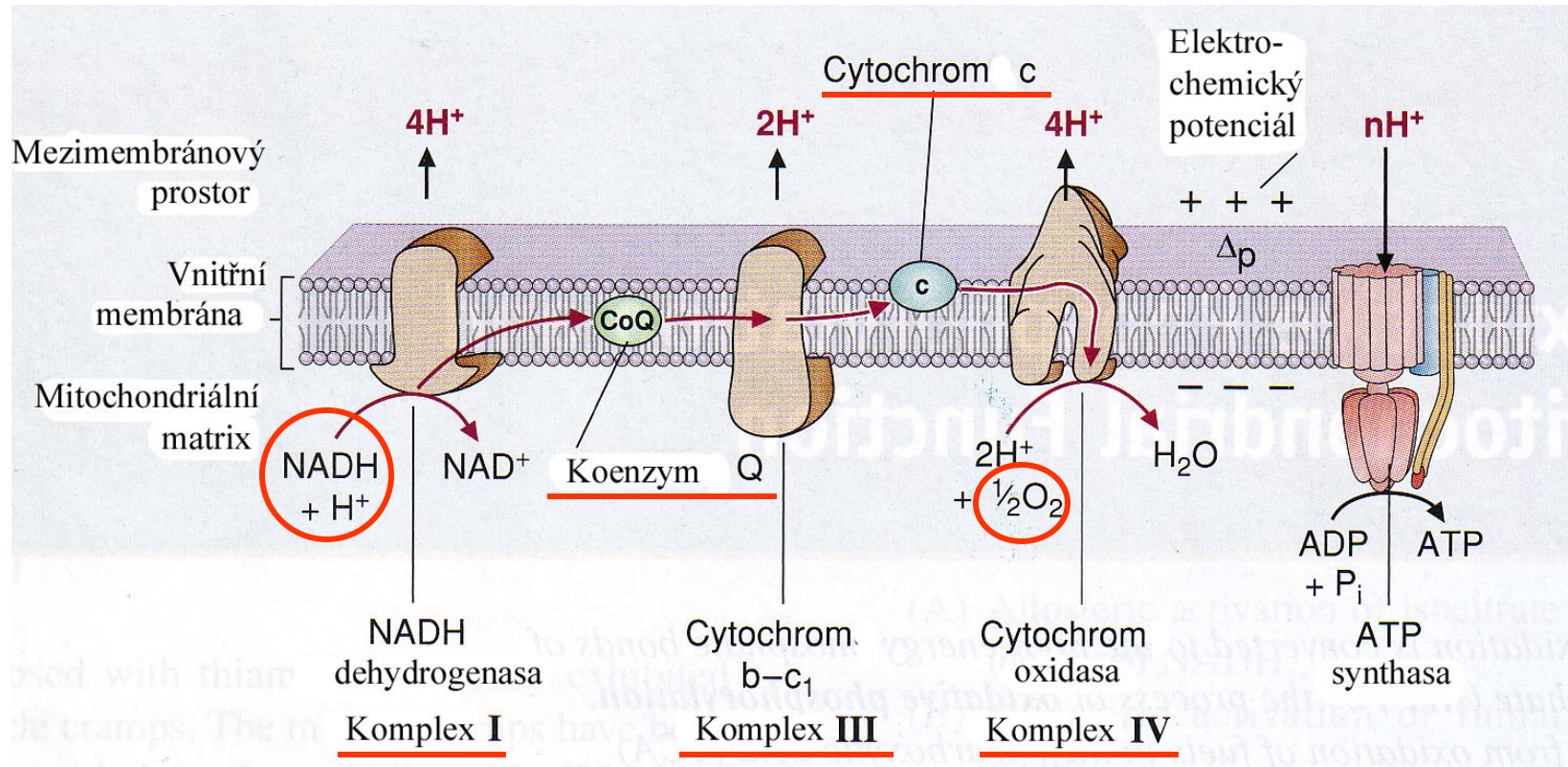
složky dýchacího řetězce:

**4** velké enzymové lipoproteinové **Greenovy komplexy**  $\Rightarrow$  zakotveny v membráně  
**koenzym Q** (ubichinon, CoQ)  $\Rightarrow$  mobilní složky  
**cytochrom c**

přenos elektronů se uskutečňuje od redoxních systémů s **nejnižším** redoxním potenciálem (NADH/NAD<sup>+</sup>) do systému s **nejvyšším** redoxním potenciálem (1/2 O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O)

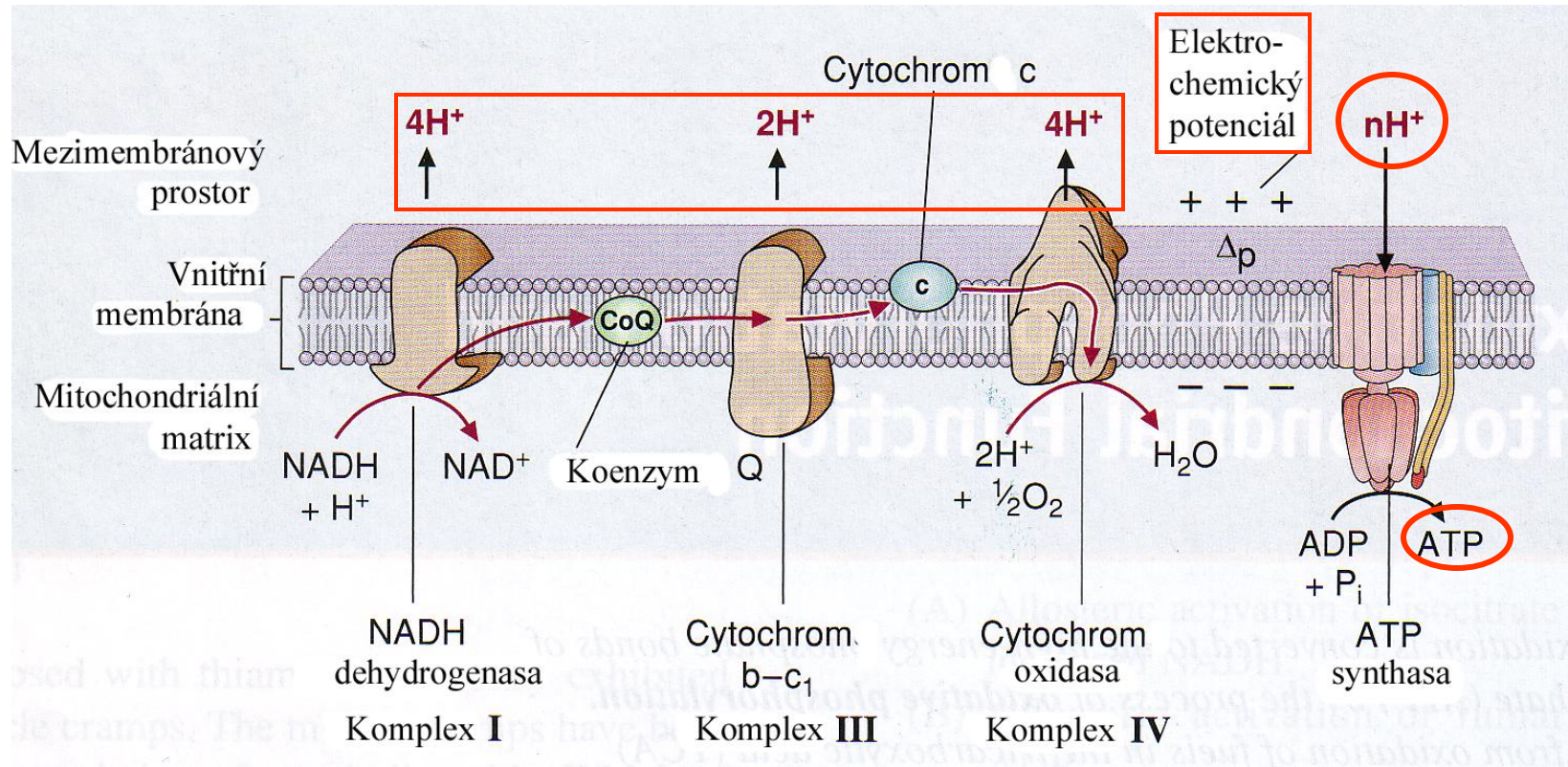
= ve směru **zvyšujícího** se redoxního potenciálu

# Dýchací řetězec



přenos elektronů jednotlivými komplexy dýchacího řetězce až na konečný kyslík

# Dýchací řetězec



uvolnění energie během redoxních reakcí



pumpování  $\text{H}^+$  z matrix do mezimembránového prostoru

elektrochemický gradient

=

protonový gradient

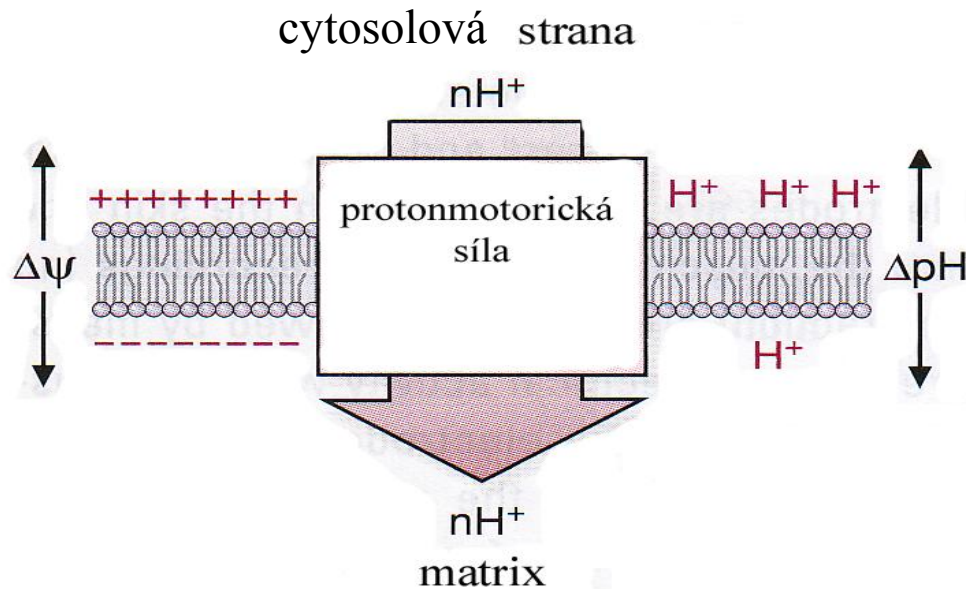


energie pro **syntézu ATP**



# Elektrochemický gradient

protonmotivní síla (hybná síla protonů)  
elektrický + chemický potenciál



$\Delta pH = 0,75-1,0$  pH jednotky

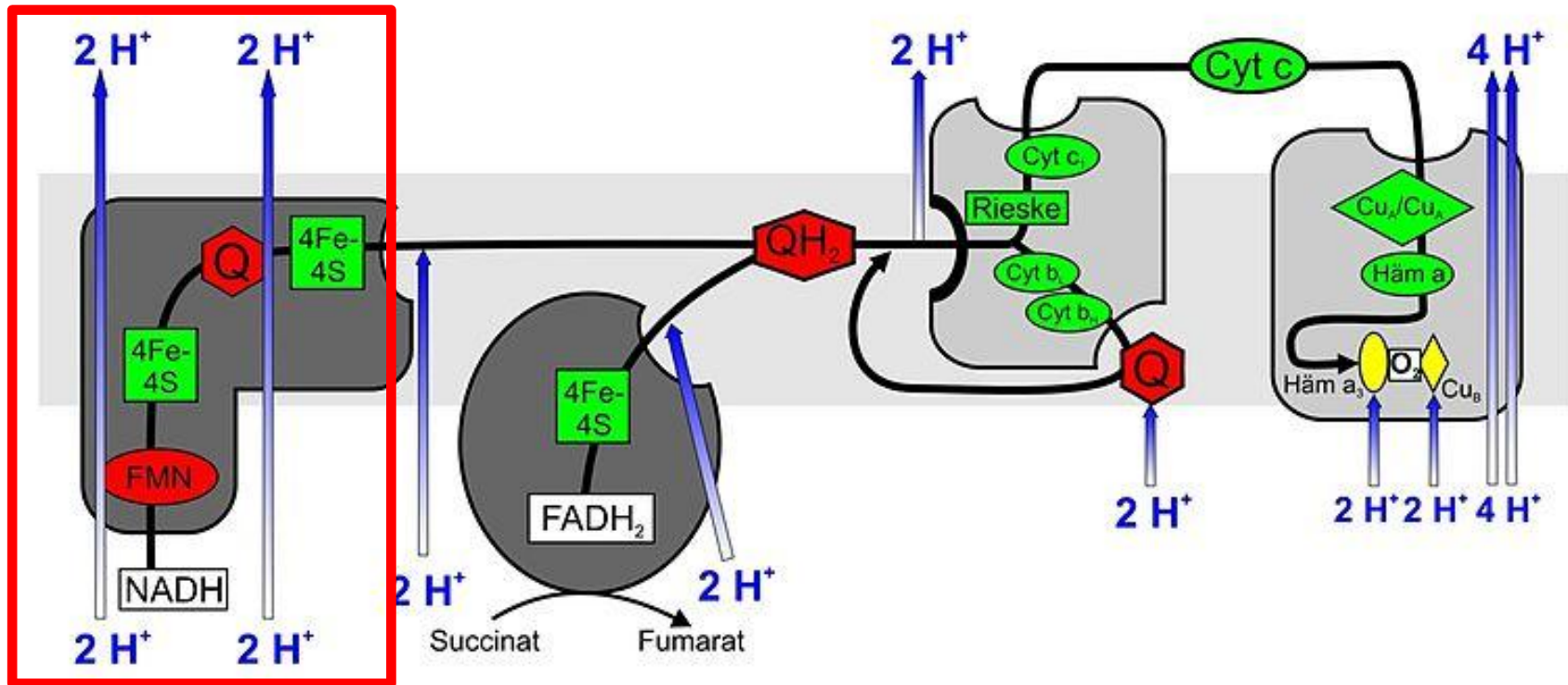
$\Delta\psi = 0,15-2,0$  V

## Mitchellova chemiosmotická teorie

- mechanismus přenosu elektronů
- tvorba protonového gradientu
- tvorba ATP



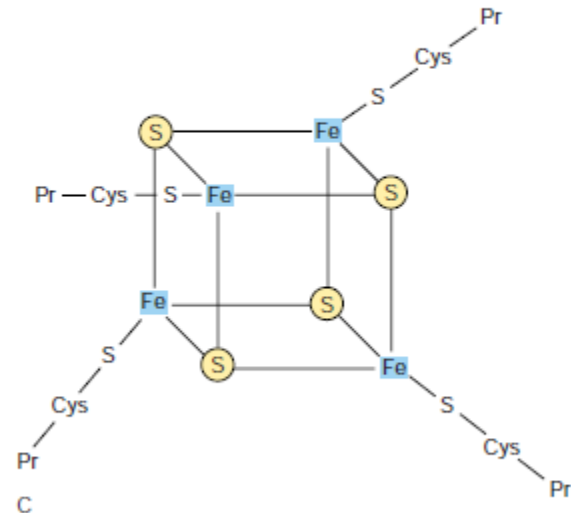
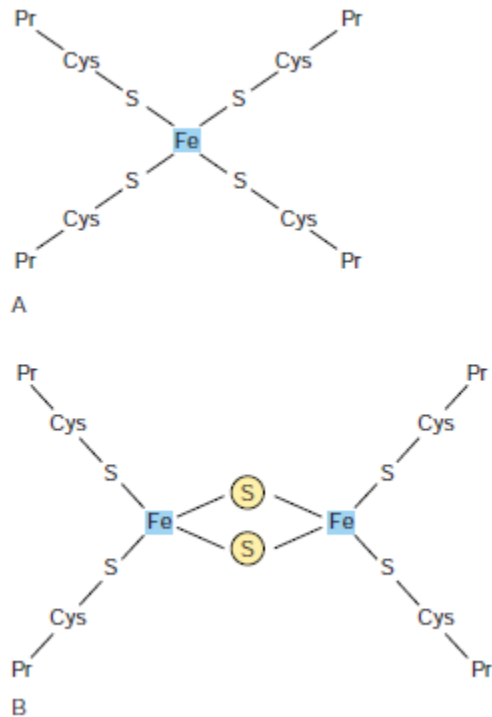
# Komplex I *NADH: ubiquinon-oxidoreduktáza* *NADH dehydrogenáza*



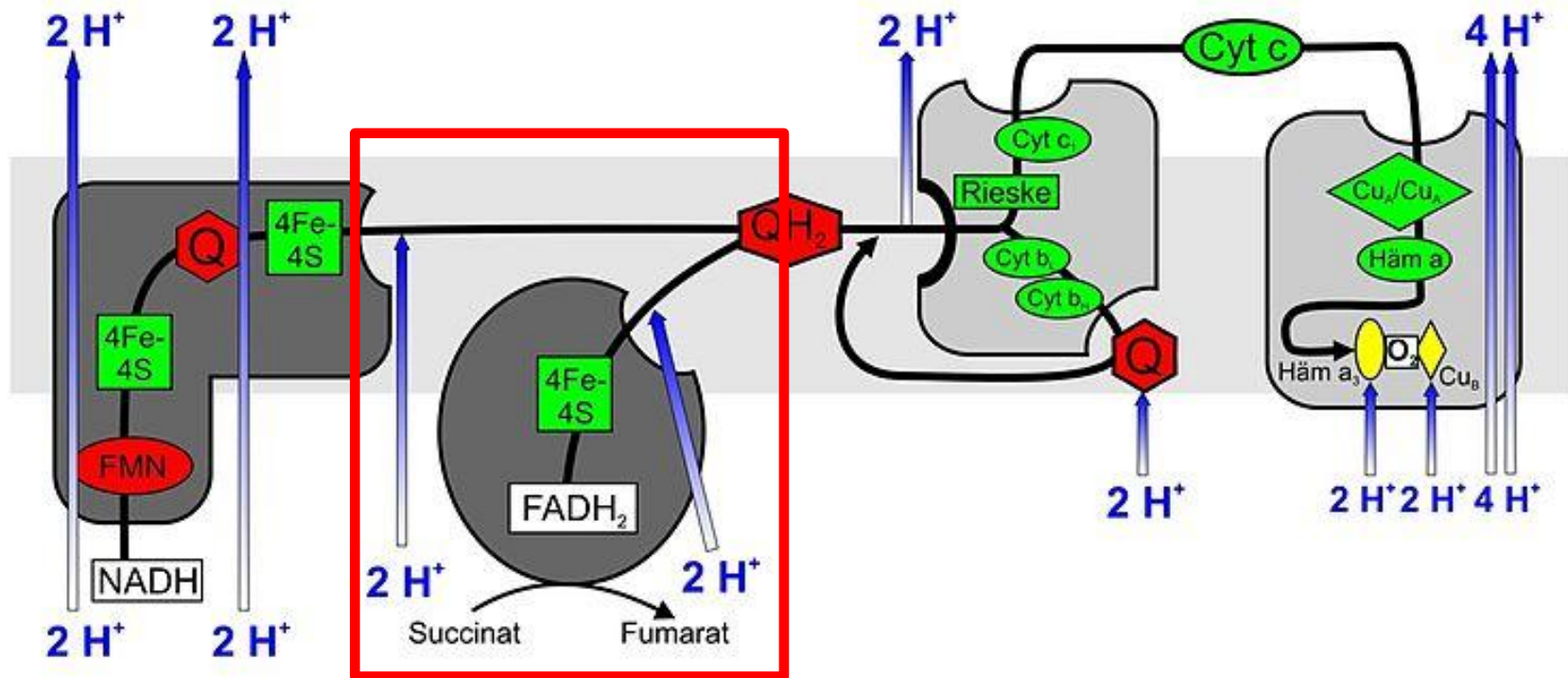
přenos 2 elektronů z NADH na Q spojen s přenosem 4 protonů přes membránu

# FeS proteiny

proteiny obsahující **nehemové železo** (1, 2 nebo 4 atomy) a **síru**  
Fe vázáno k anorganické S a/nebo pomocí –SH skupin cysteinu k proteinům

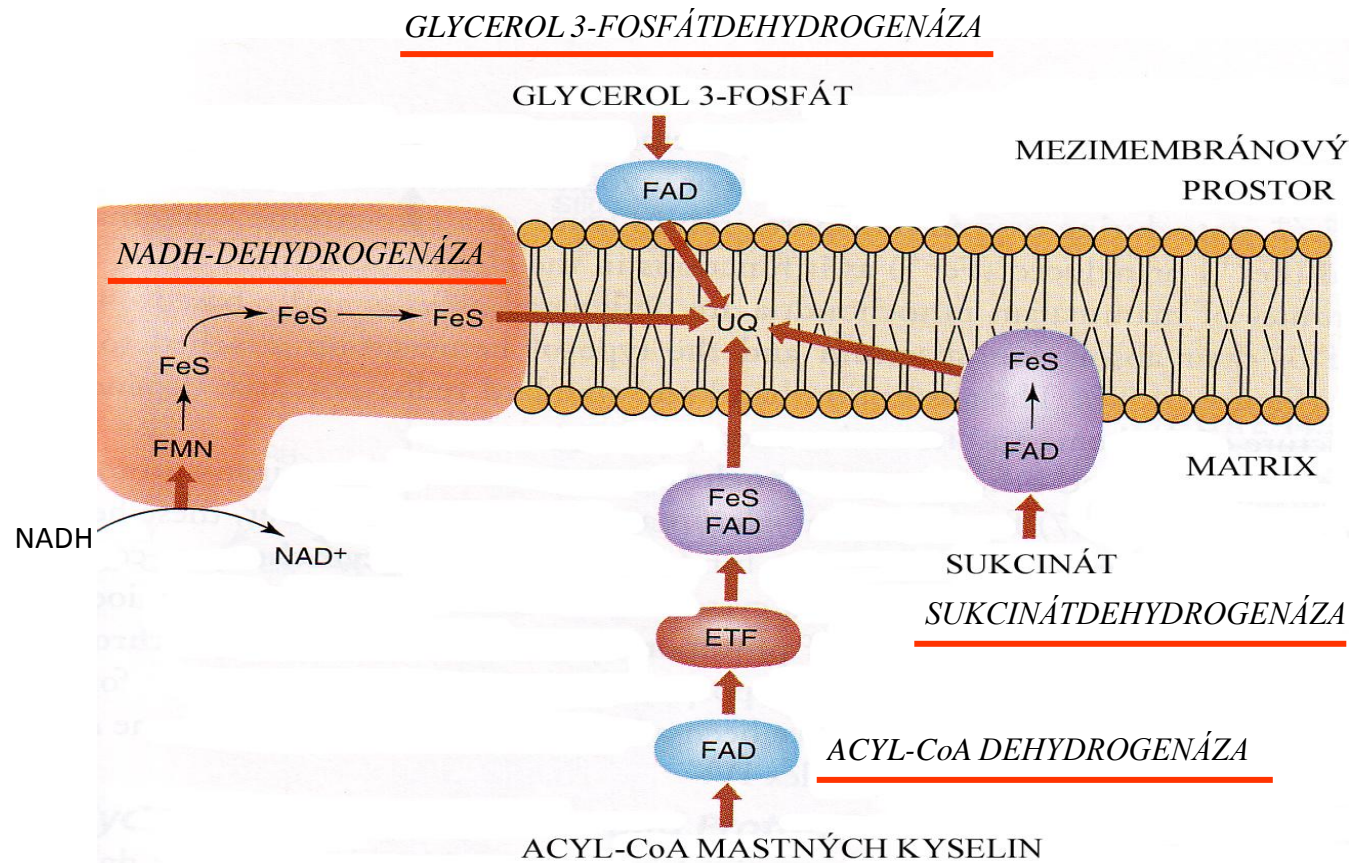


# Komplex II *sukcinát: ubichinon-oxidoreduktáza* *sukcinát dehydrogenáza*

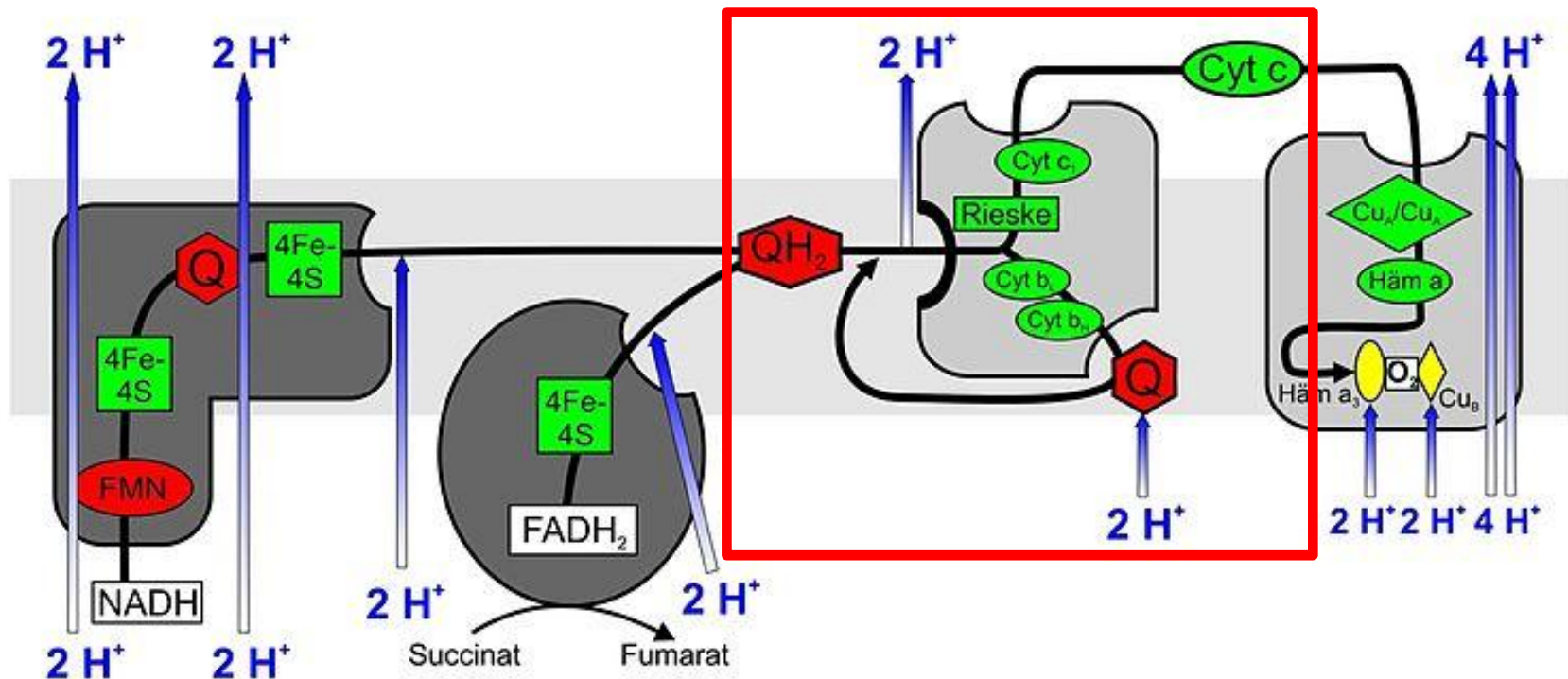


vznik FADH<sub>2</sub> v citrátovém cyklu a přenos 2 elektronů na Q

# Oxidace $\text{FADH}_2$ v dýchacím řetězci



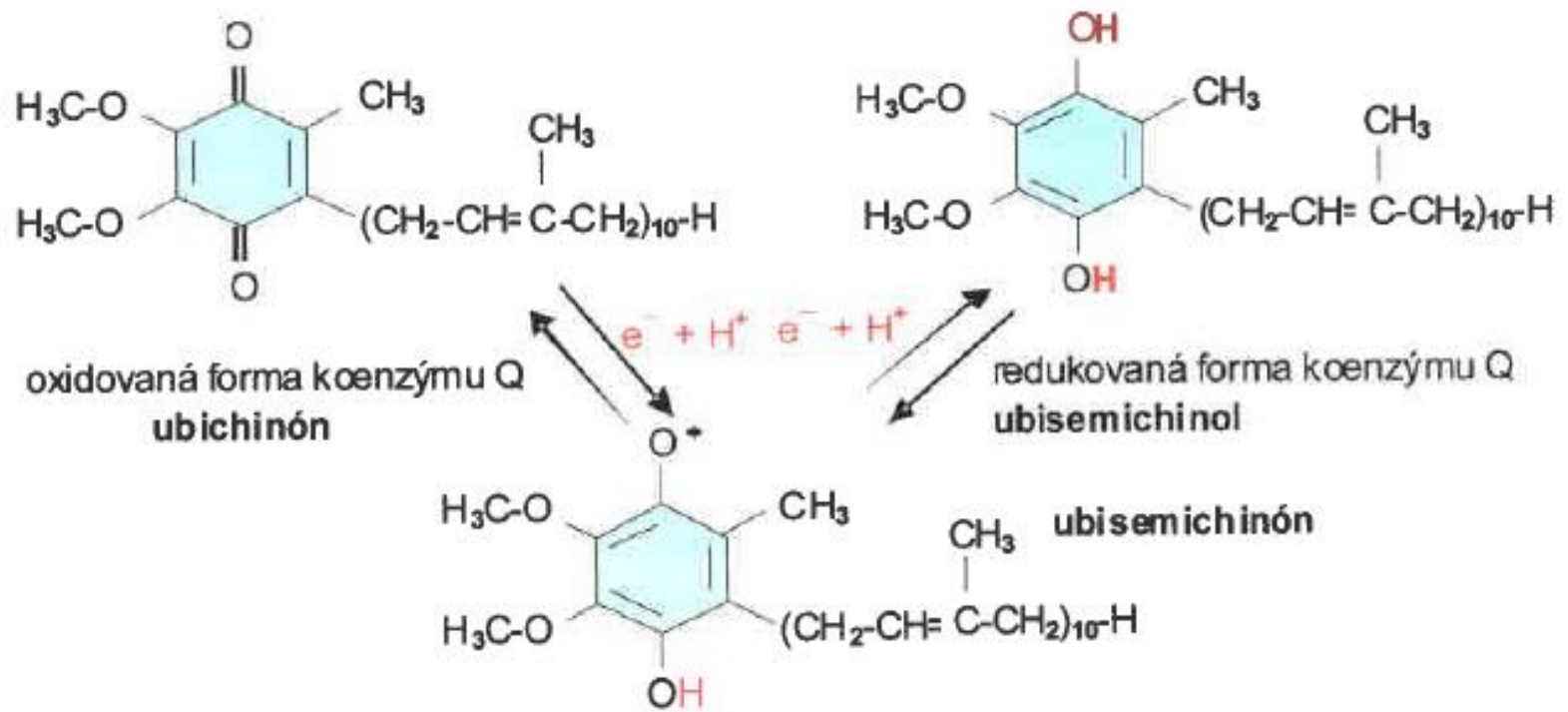
# Komplex III *ubichinol: cytochrom c-oxidoreduktáza* *cytochrom c reduktáza*



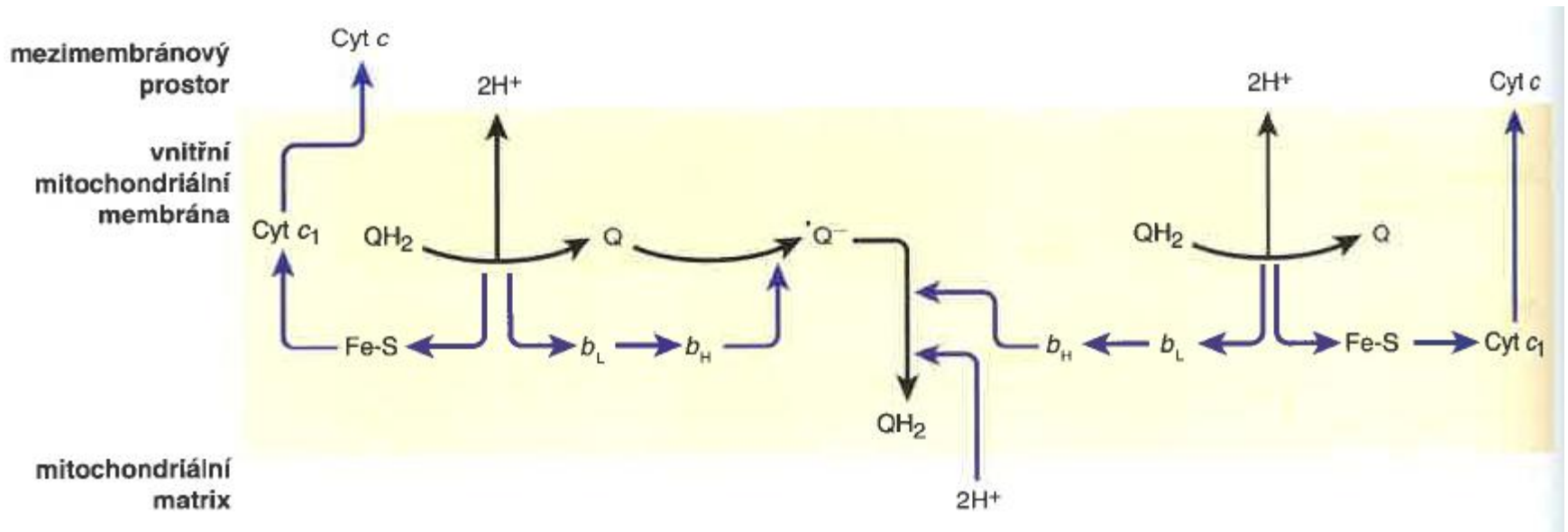
přenos 2 elektronů z QH<sub>2</sub> na cyt c se zapojením cyt c<sub>1</sub>, b<sub>L</sub>, b<sub>H</sub> a Rieskeho FeS



# Formy koenzymu Q



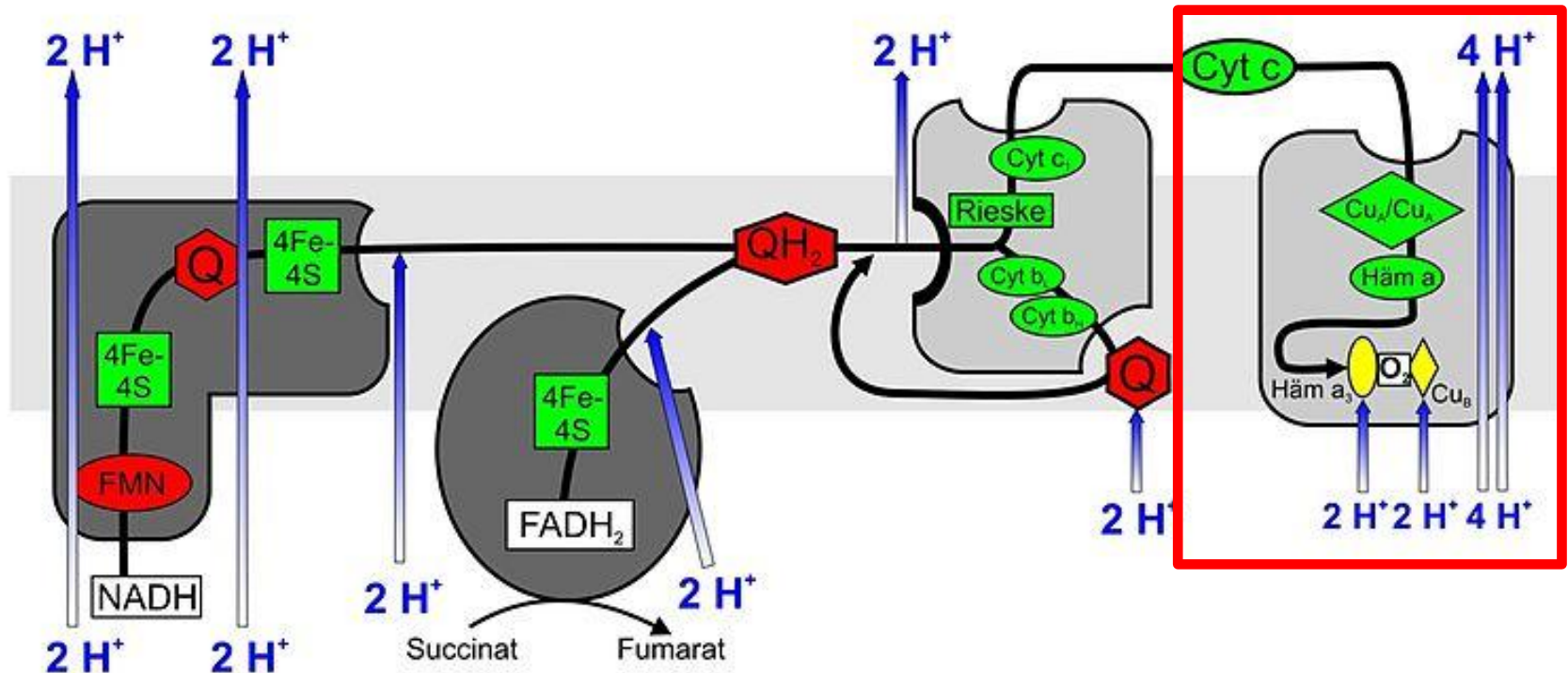
# Cyklus koenzymu Q



otočení 1 cyklu vede **k oxidaci 2  $\text{QH}_2$**  na  $\text{Q}$  za **uvolnění 4  $\text{H}^+$**  do mezimembránového prostoru a **k redukci jednoho  $\text{Q}$**  na  $\text{QH}_2$  za **přijetí 2  $\text{H}^+$**  z matrix

# Komplex IV *cytochrom c*: kyslík-oxidoreduktáza

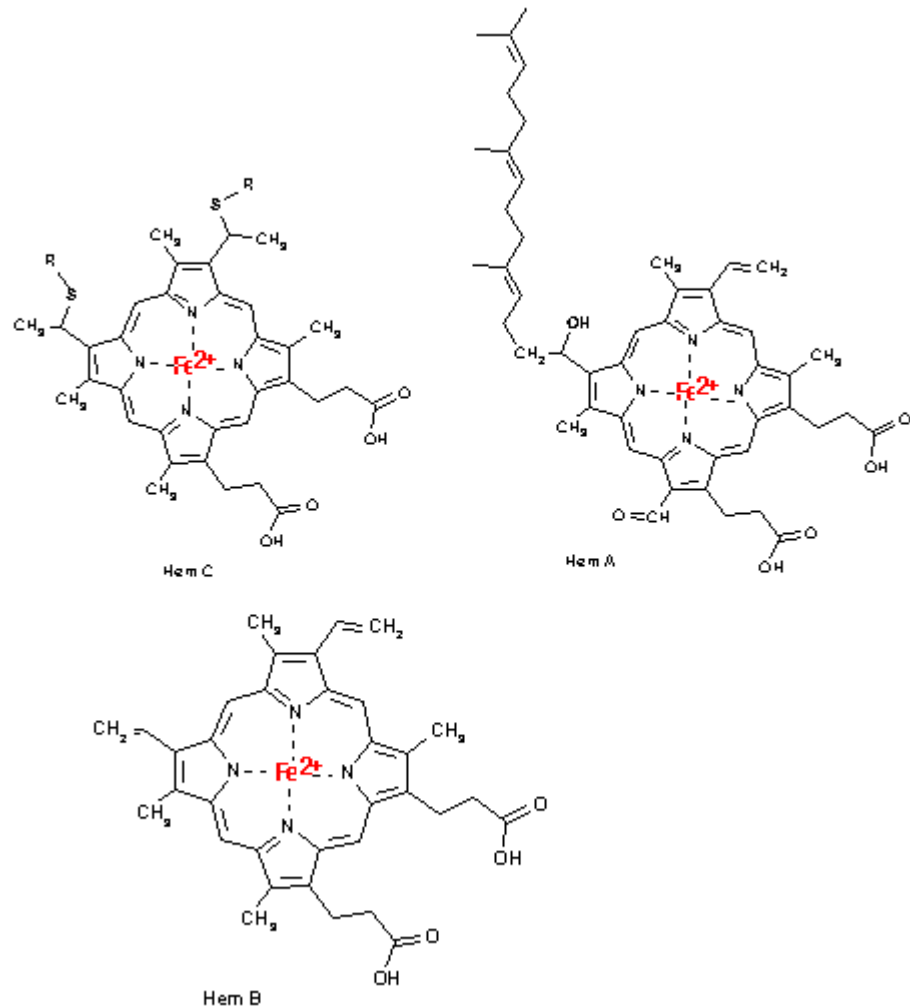
## *cytochrom c oxidáza*



přenos 4 elektronů z cyt c na  $O_2$  se zapojením hemových skupin a,  $a_3$  a mědi  
 8  $H^+$  odstraněných z matrix: 4  $H^+$  na tvorbu 2 molekul vody  
 4  $H^+$  přechází do mezimembránového prostoru

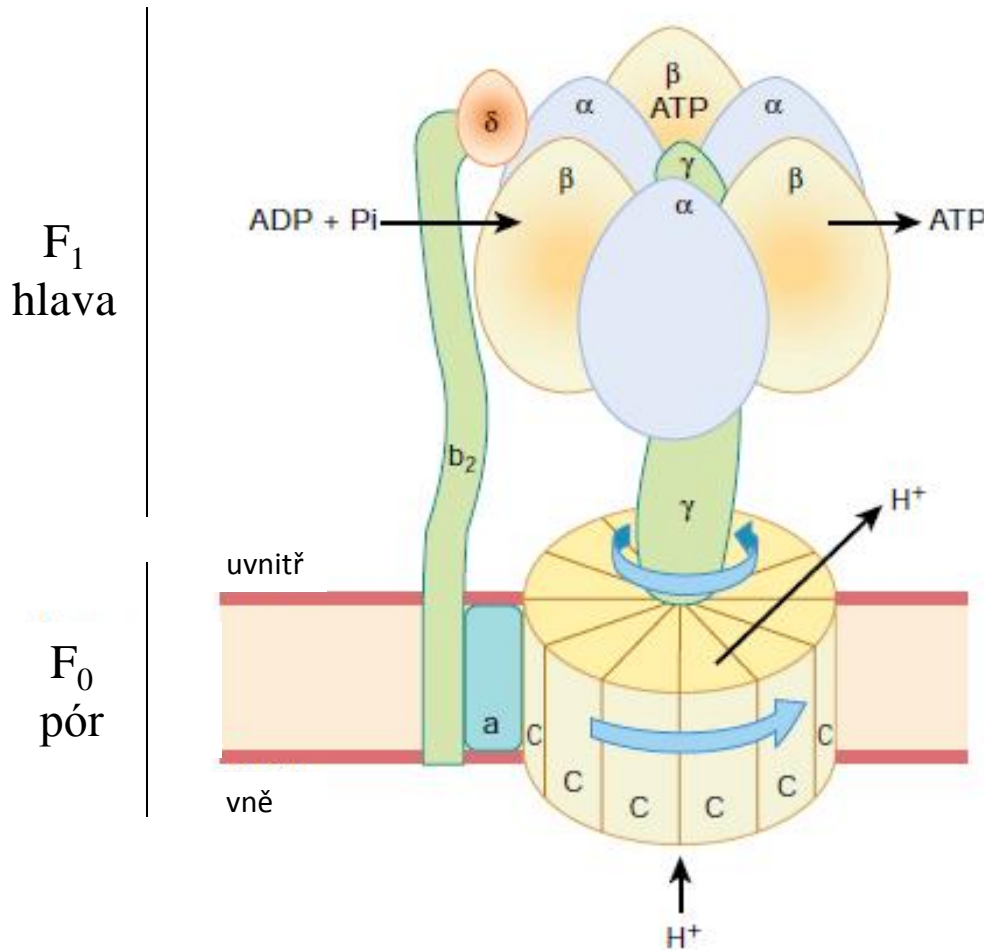
# Cytochromy a, b, c

- **hemoproteiny** obsahující protoporfyrin IX a atom Fe
- liší se postranními řetězci



# „Komplex V“ *ATP-syntháza*

zakotvena ve vnitřní membráně, poháněna  $H^+$ , tvorba  $ATP = ADP + P_i$



**F<sub>0</sub> podjednotka:** protonový kanál  
C proteinový komplex s  $\gamma$  podjedn.  
průchod  $H^+$  jej **roztáčí**

**F<sub>1</sub> podjednotka:** fosforylační mech.  
hlavička se třemi  $\alpha$  a třemi  $\beta$  podjedn.  
připojena k membráně, **nerotuje**

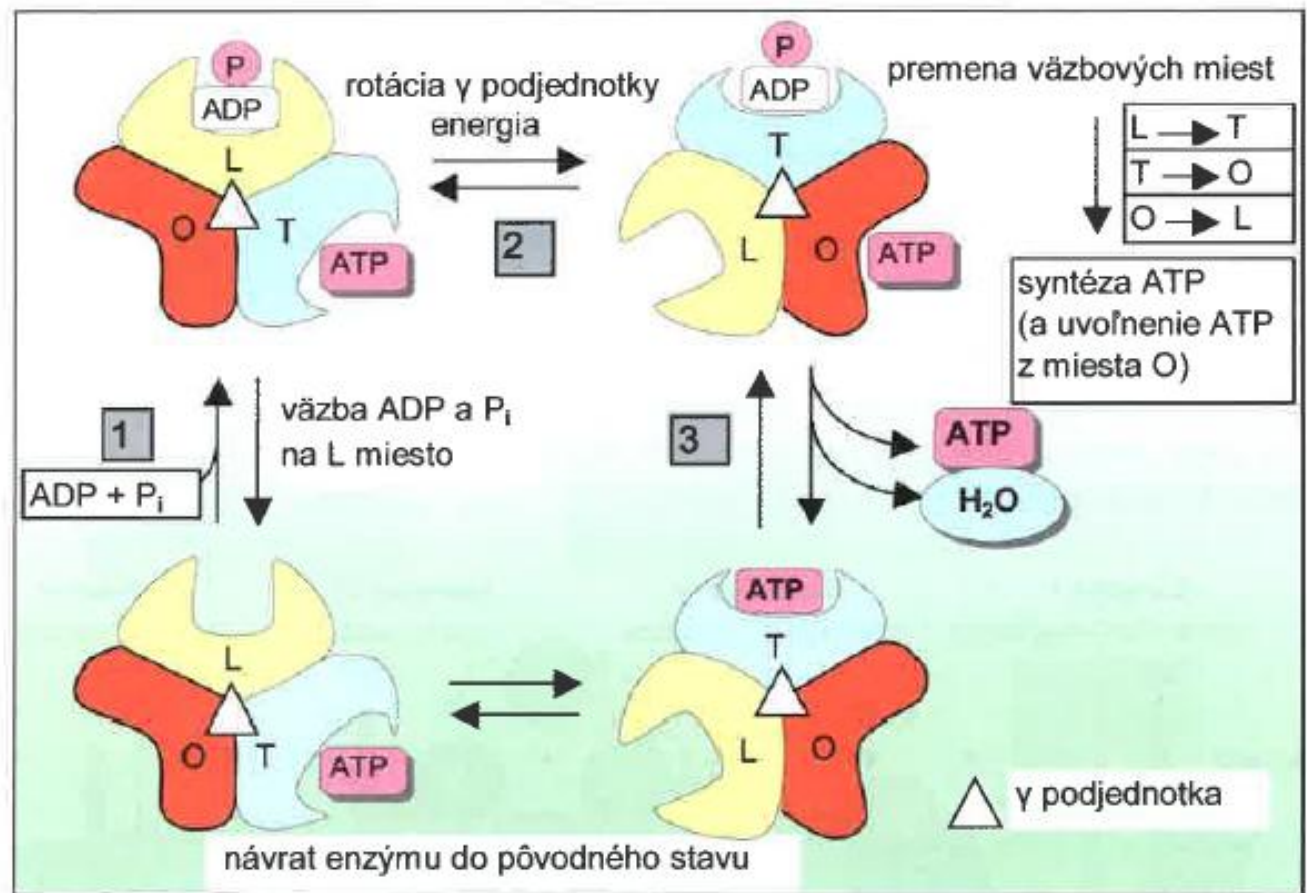


# Syntéza ATP

předání ADP a  $P_i$  na  $\gamma$  podjedn. a tvorba ATP  
 uvolnění ATP po změně konformace  $\beta$  podjedn.

3 konformace  
 $\beta$  podjednotky:

uvolněná (L)  
 těsná (T)  
 otevřená (O)

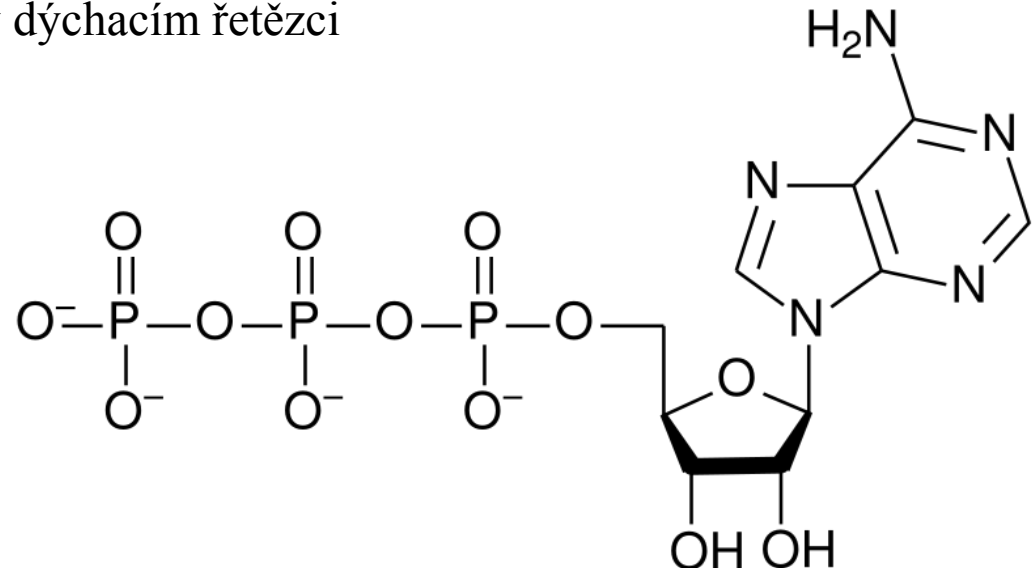


# Většina energie je tvořena v dýchacím řetězci

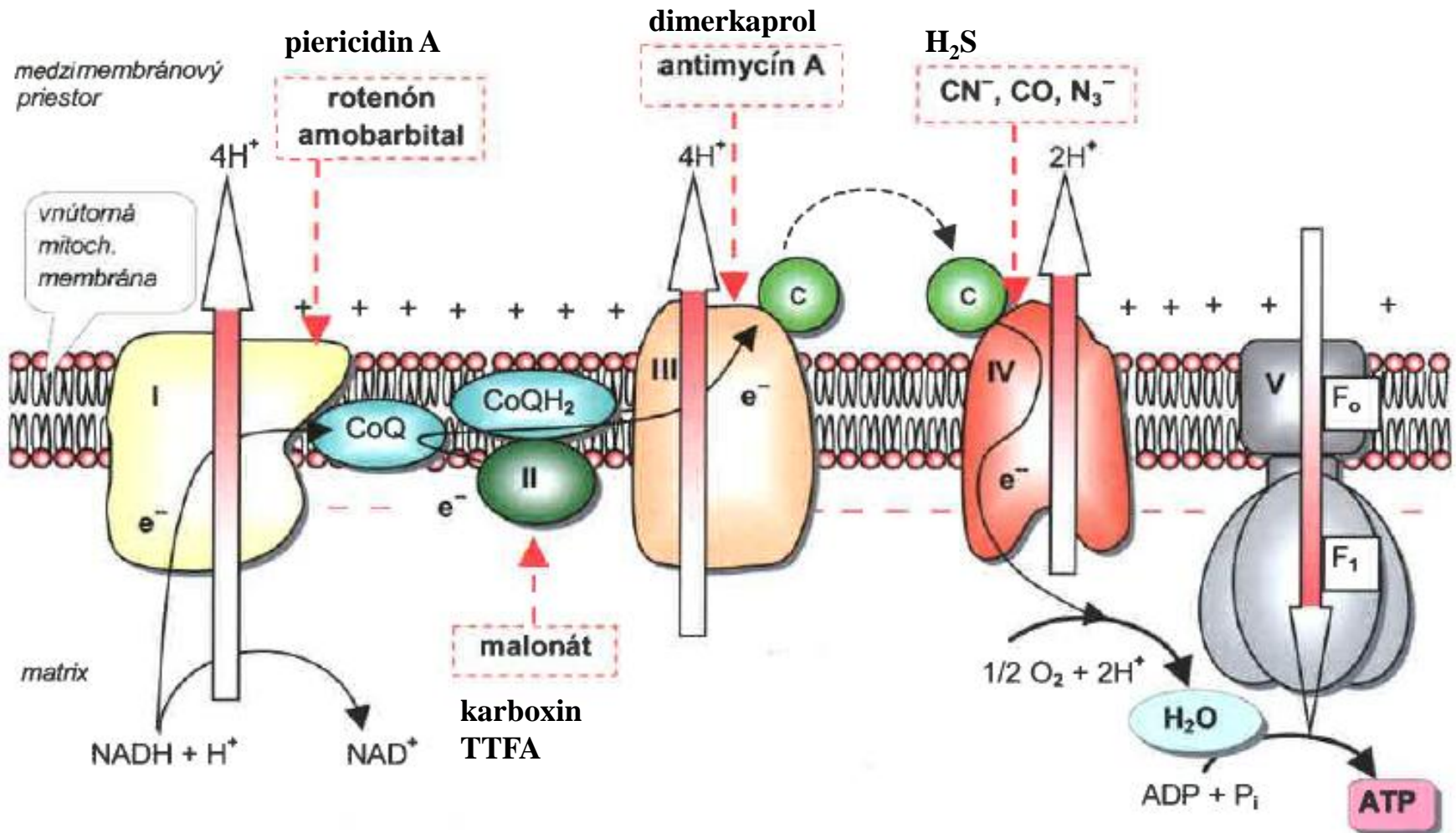
oxidace 2 e<sup>-</sup> **NADH** ..... **2,5 mol ATP** za spotřeby 0,5 mol O<sub>2</sub>  
1 mol substrátu oxidován přes komplexy I, III a IV

oxidace 2 e<sup>-</sup> **FADH<sub>2</sub>** ..... **1,5 mol ATP**  
1 mol substrátu oxidován přes komplexy II, III a IV

celkovou oxidací **1 mol glukózy** lze získat **30 – 32 mol ATP**,  
z toho 26 – 28 mol ATP vzniká v dýchacím řetězci



# Inhibitory dýchacího řetězce

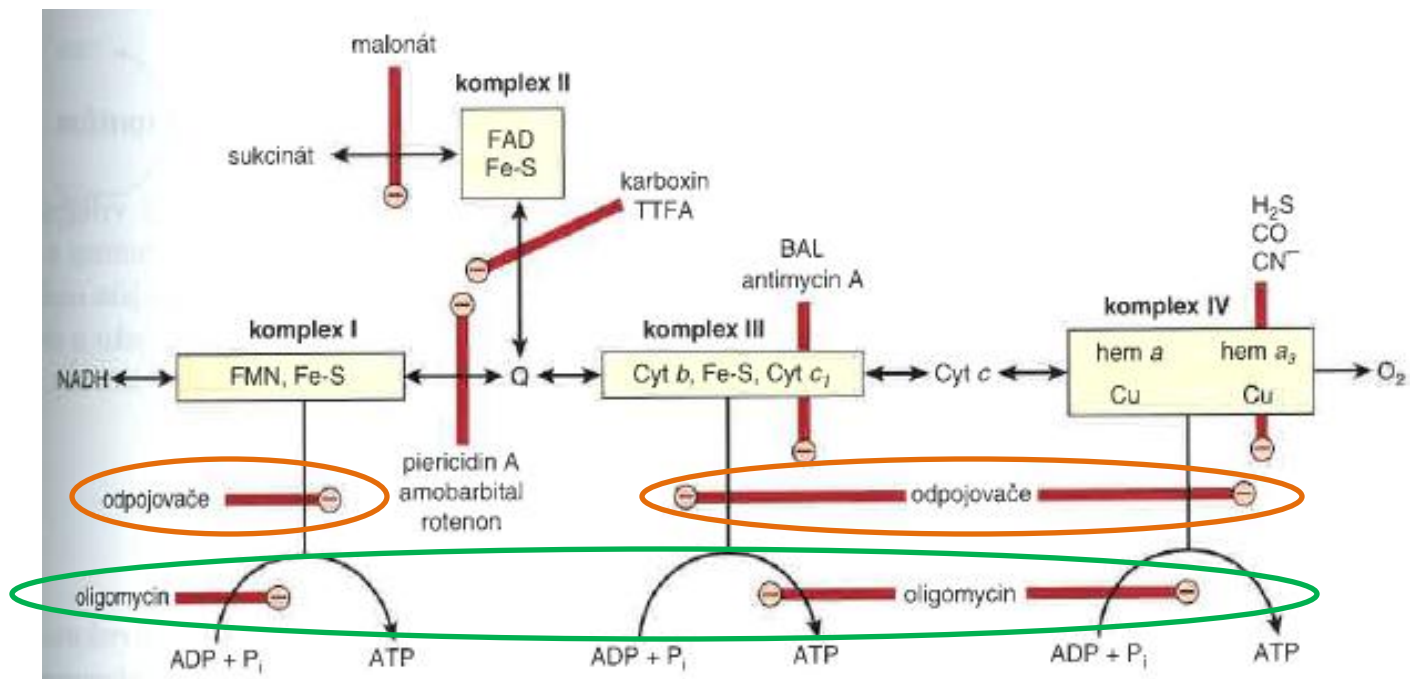


# Inhibitory oxidativní fosforylace

**inhibitory** – cizorodé látky, v případě blokace procesů spojených s tvorbou E jsou toxické  
inhibiční zásah je specifický pro určité místo

**antraktylosid** – inhibitor transportéru přes vnitřní mitochondriální membránu

**oligomycin** – antibiotikum zcela zabraňující oxidaci a fosforylaci, blokuje tok protonů přes *ATP-syntházu*

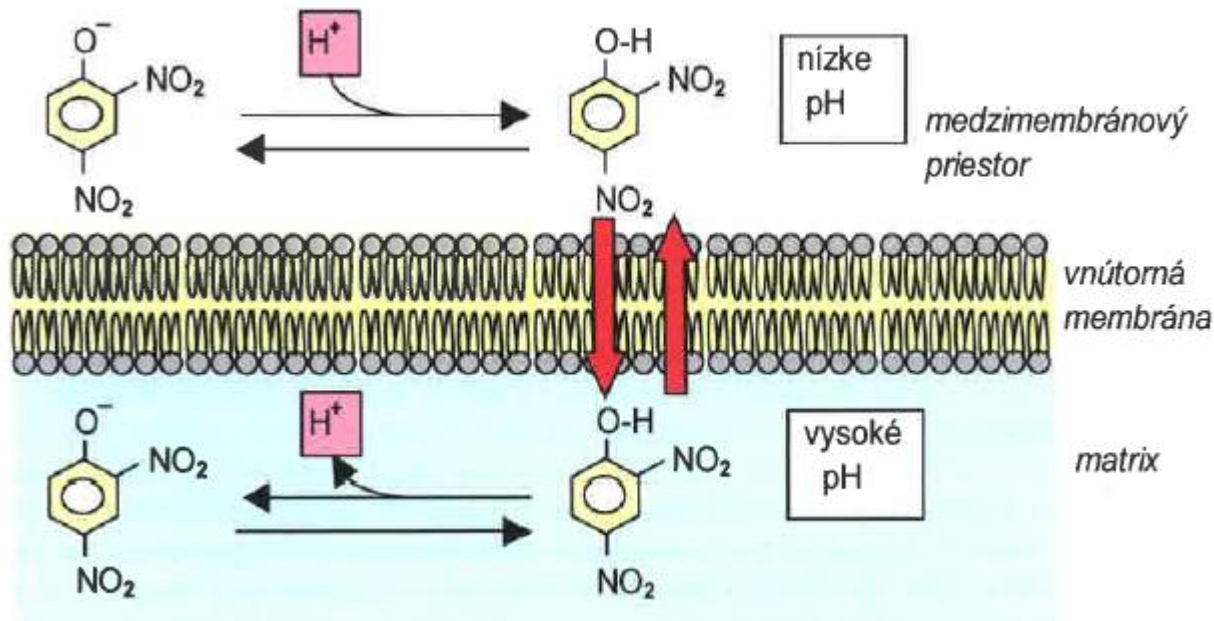


# Odpojovače (rozpojovače) oxidativní fosforylace

**odpojovače** – odpojení oxidace v dýchacím řetězci od fosforylace  
*in vivo* **toxické sloučeniny** způsobující nekontrolované dýchání

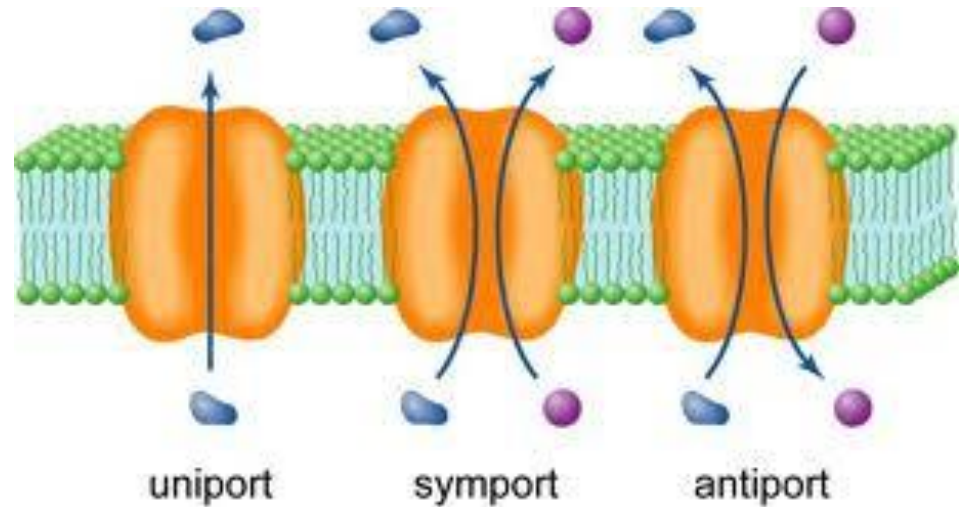
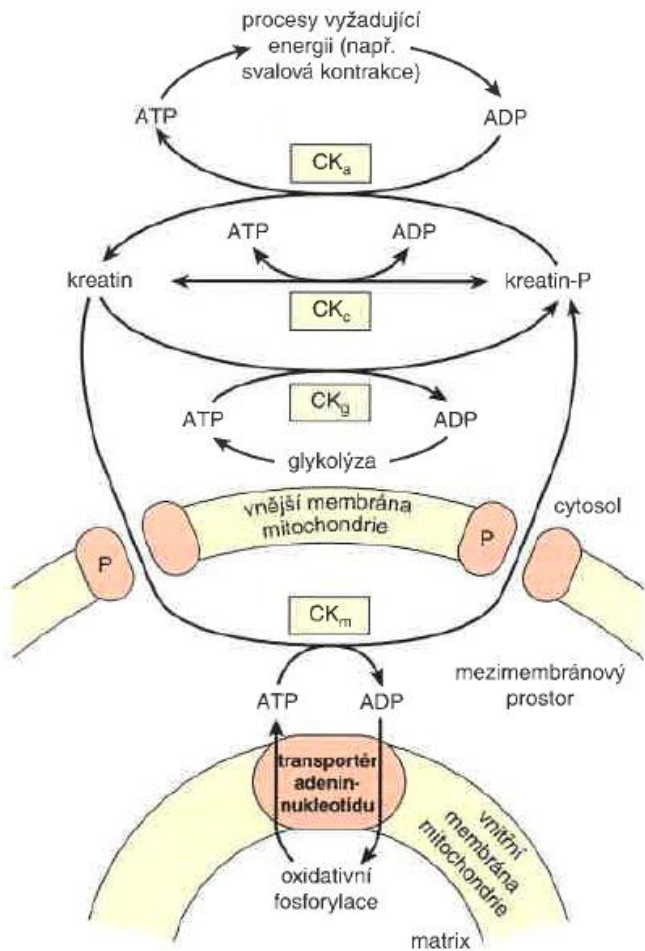
**2,4-dinitrofenol** – přenáší proton přes membránu, ruší protonový gradient

**termogenin** – fyziologický odpojovač v hnědé tukové tkáni

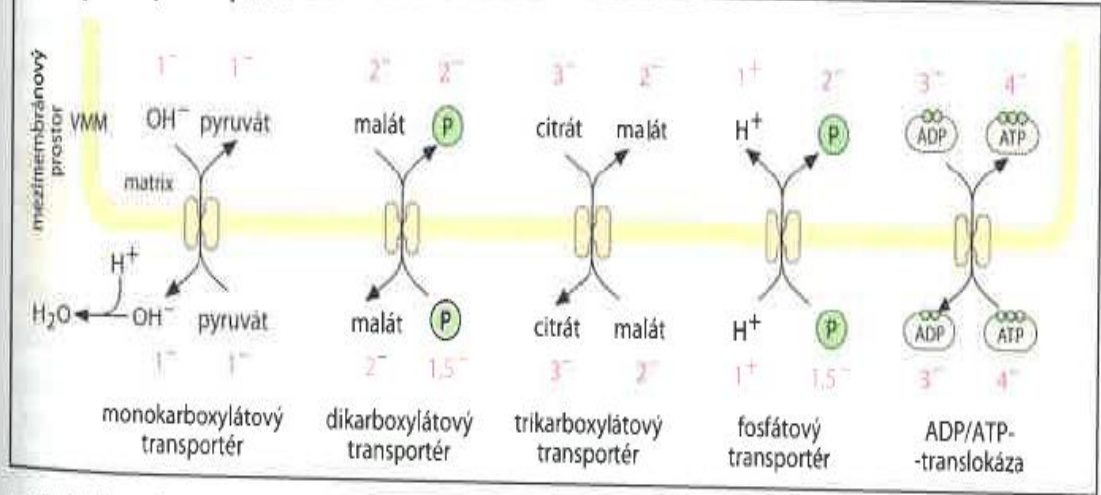




# Mitochondriální transportní systémy



## B. Způsoby transportu



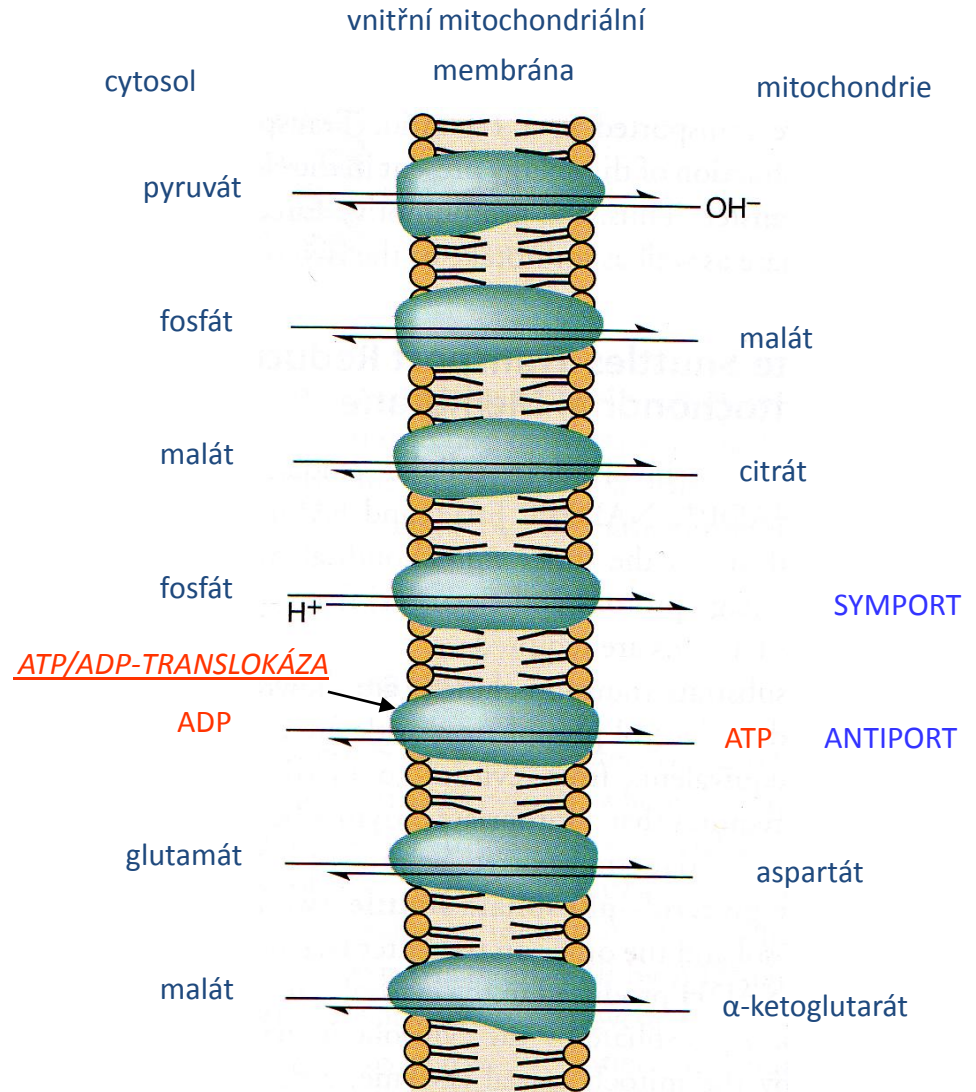
# Mitochondriální transportéry

**Vnitřní** membrána je volně  
prostupná pouze pro:

- a) malé nenabitě molekuly:  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$
- b) **monokarboxylové kyseliny**  
(3-hydroxymáselná, octová),  
nedisociovaná forma

**Mastné kyseliny** s dlouhým  
řetězcem – **karnitinový systém**

**Di- a trikarboxylové anionty** a  
**aminokyseliny** – **specifické**  
**transportéry**



# Člunky

Transportní systémy cytosol – mitochondrie

Vnitřní membrána **nepropustná pro NADH**

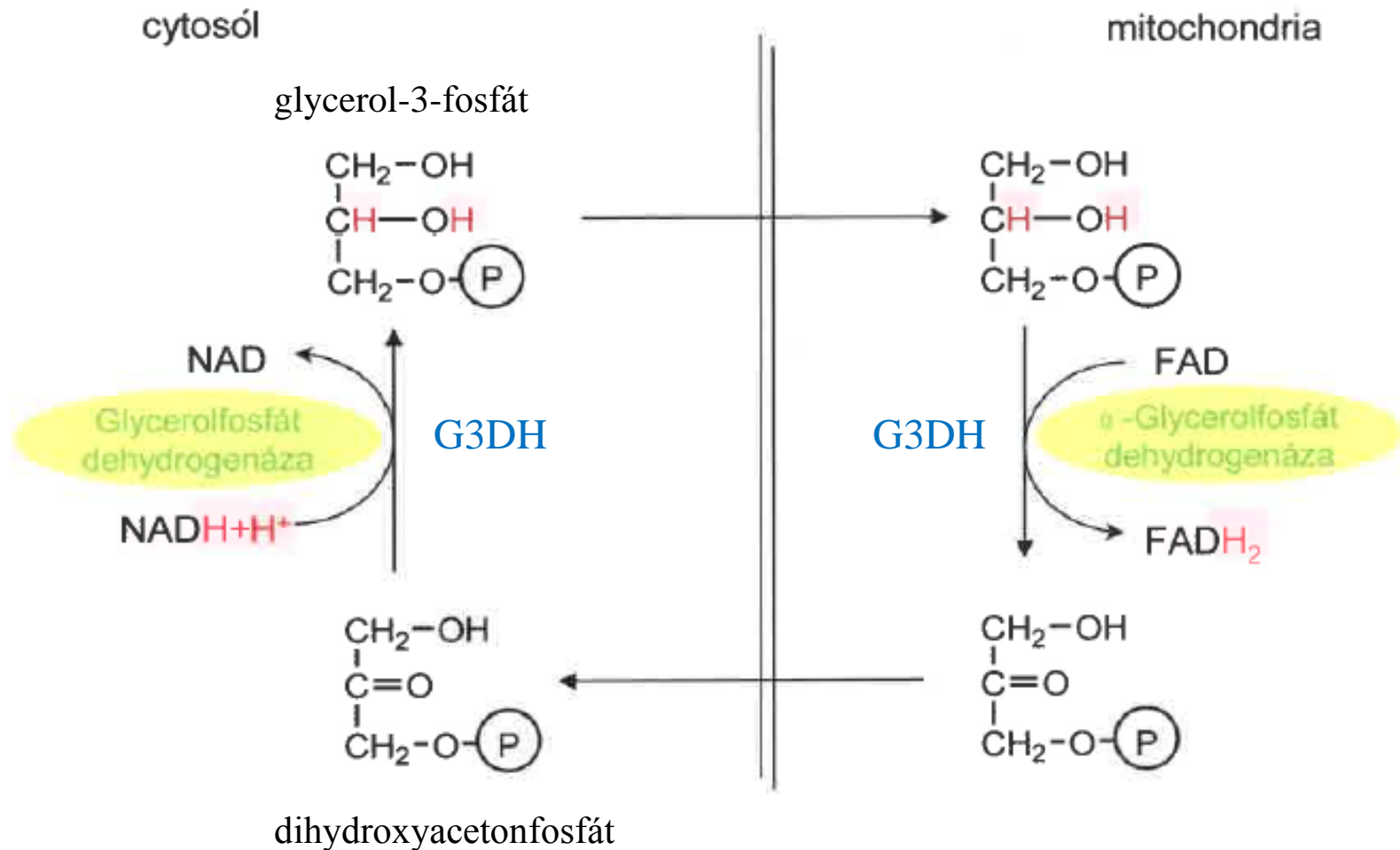
Přenos přes membránu vyžaduje **substrátové páry** s vhodnými *dehydrogenázami*  
na každé straně

**Glycerolfosfátový člunek**

**Malátový člunek**

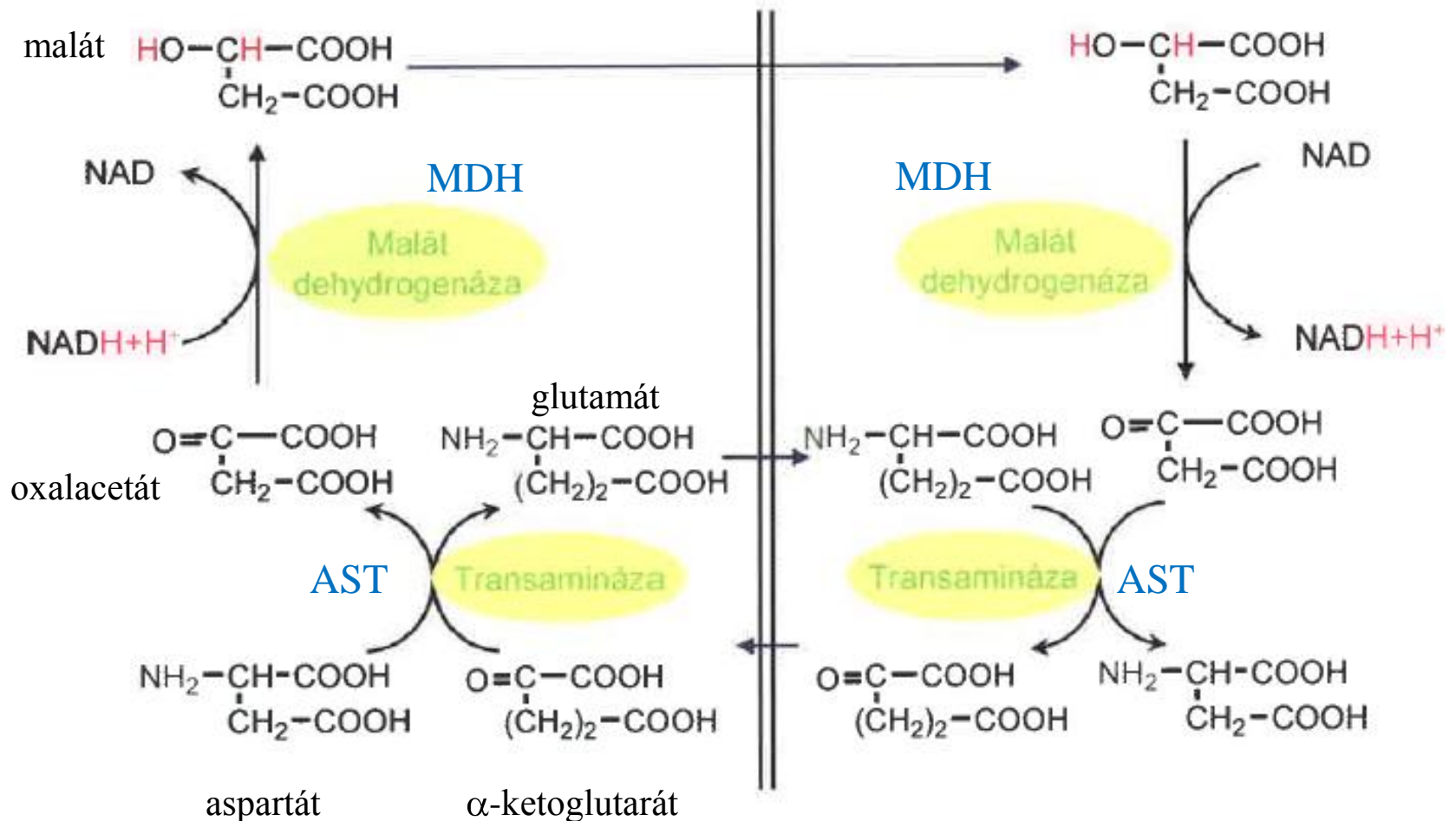
# Glycerolfosfát – dihydroxyacetonfosfátový člunek

Enzym: *glycerol-3-fosfátdehydrogenáza* (G3PDH)



# Malát – aspartátový člunek

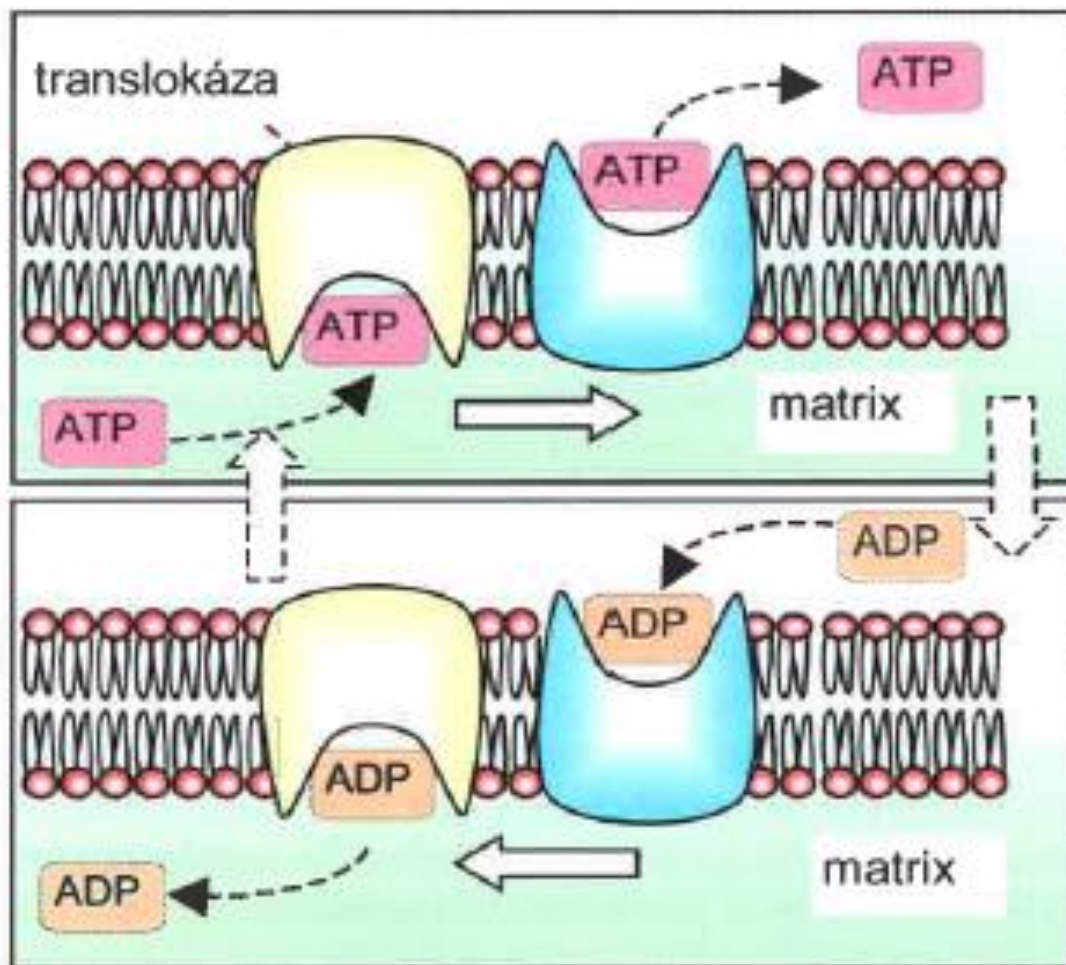
Enzymy: *malátdehydrogenáza* (MDH), *glutamát oxalacetáttransamináza* (GOT) = *aspartát aminotransferáza* (AST)



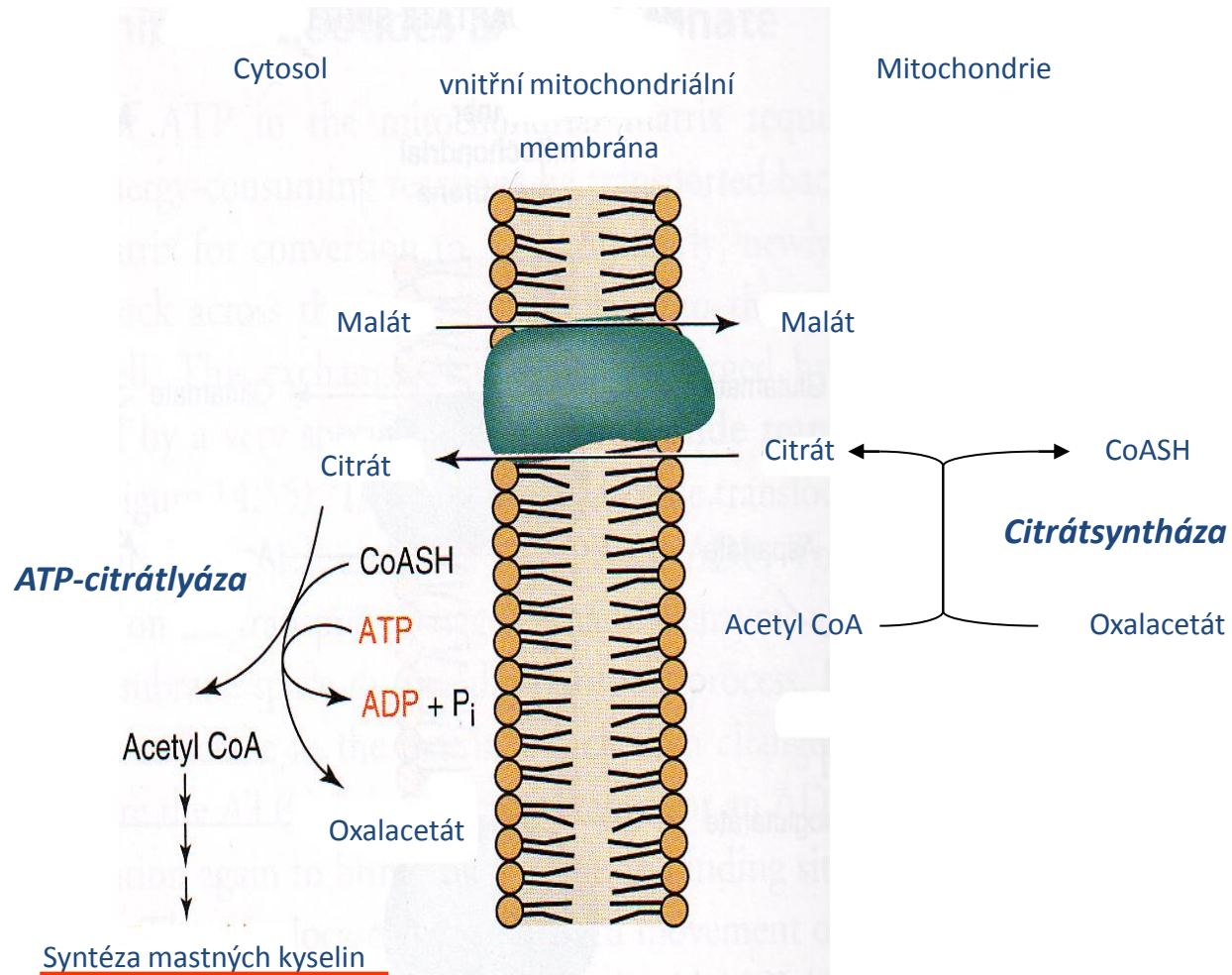


# Přenos ADP/ATP přes membránu

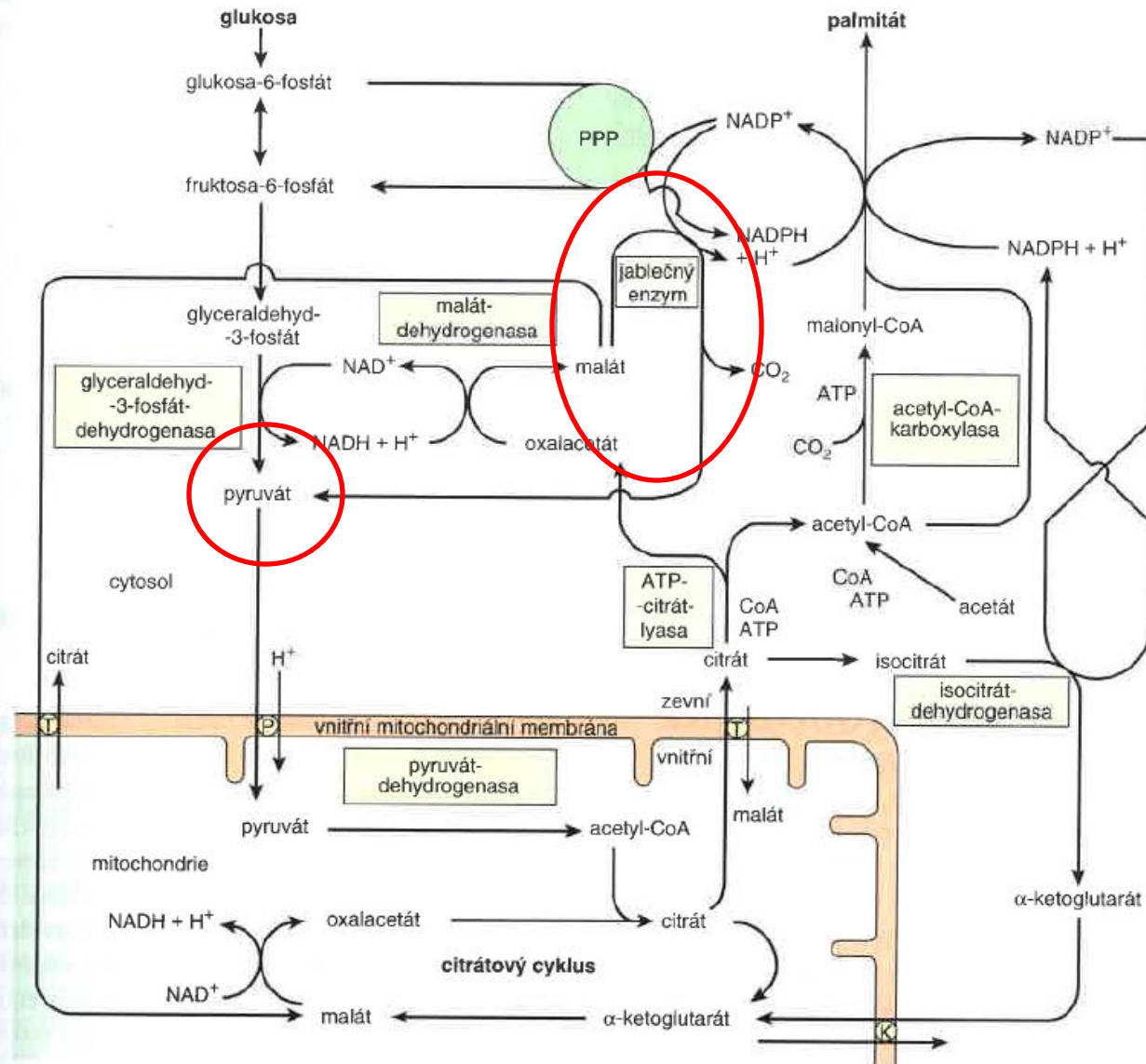
Enzym: *ADP/ATP translokáza*



# Export citrátu



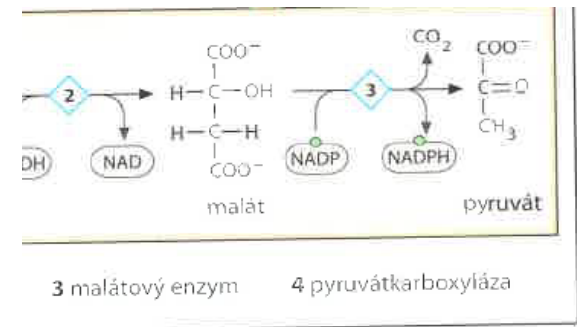
# „Jablečný enzym“



*NADPH-malátdehydrogenáza*

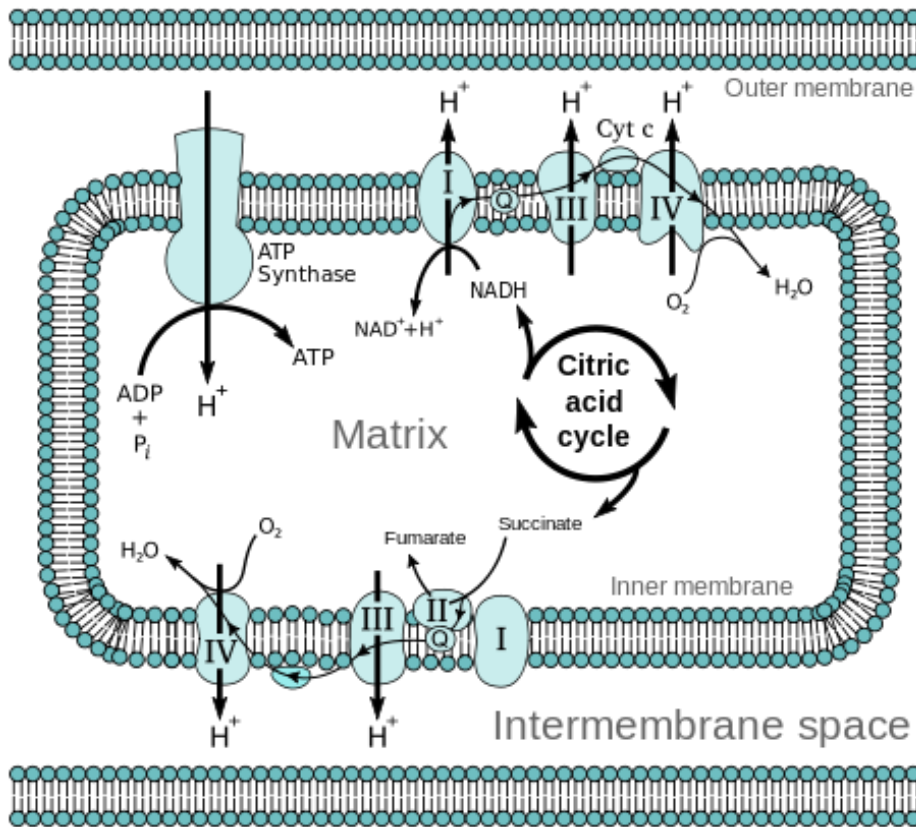
= zdroj NADPH mimo pentosafosfátovou dráhu

katalyzuje přeměnu malátu na pyruvát





# Souhrn I

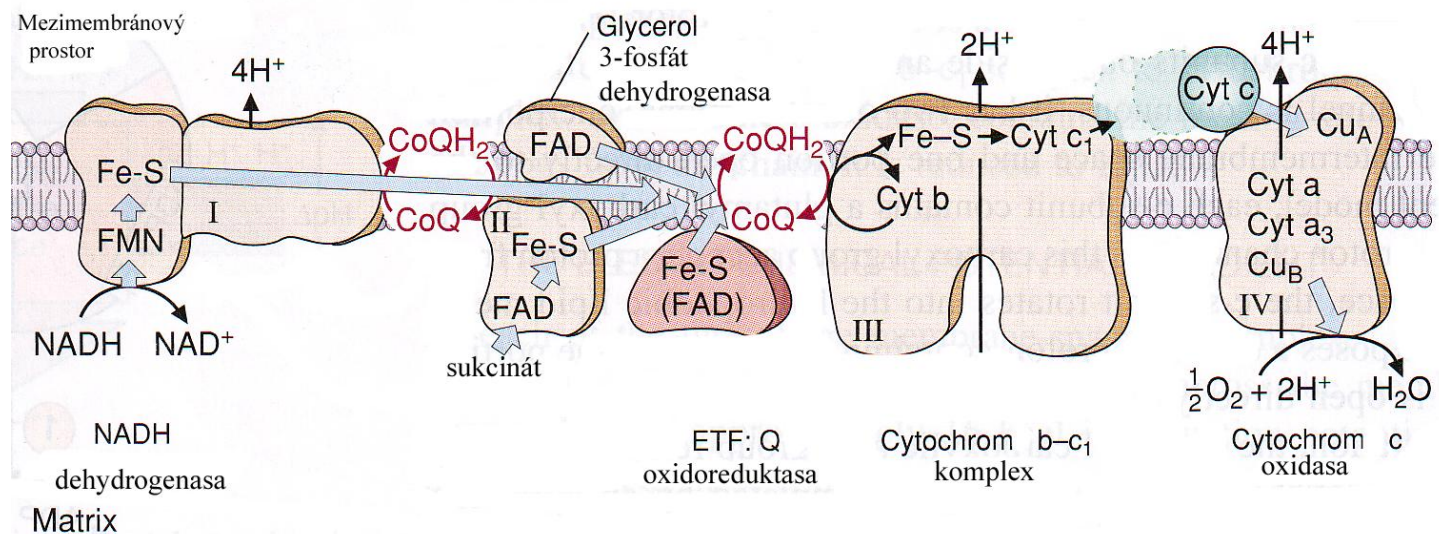


✓ **Dýchací řetězec** představuje řadu redoxních reakcí ve směru zvyšujícího se potenciálu, během kterých jsou **elektrony přeneseny na kyslík**.

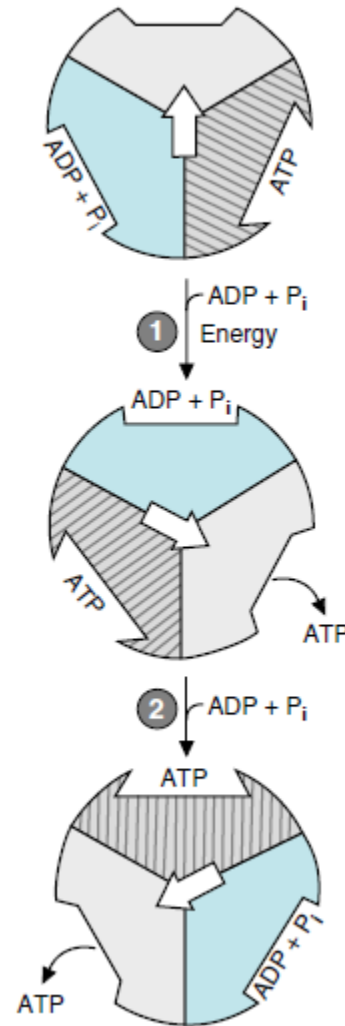
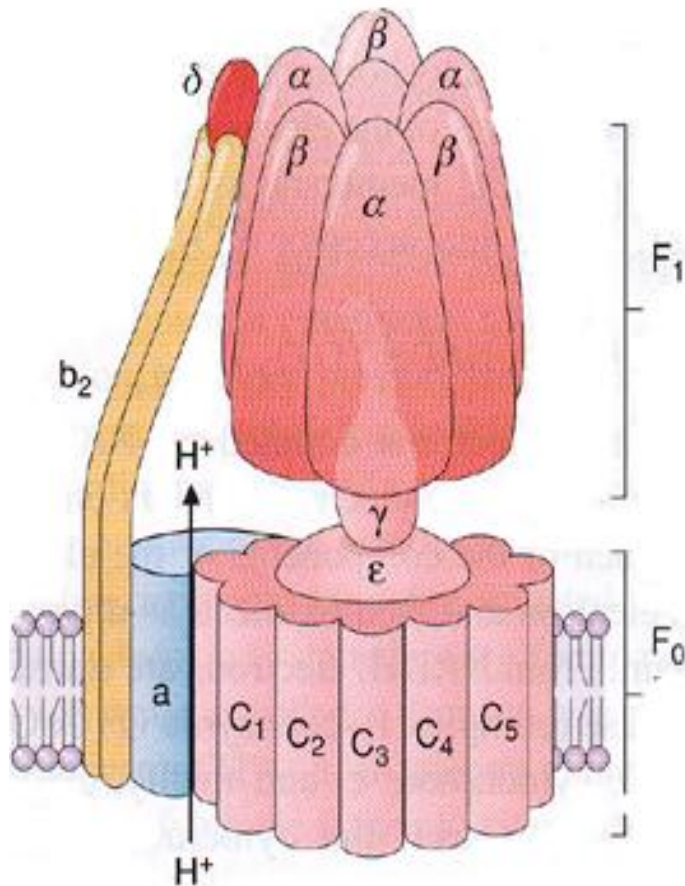
✓ Redoxní reakce způsobují „**pumpování**“  **$H^+$**  z matrix do mezimembránového prostoru.



✓ **Vytvoření protonmotivní síly.**



# Souhrn II



✓ Tok H<sup>+</sup> zpět do matrix pohání syntézu ATP v procesu zvaném **oxidativní fosforylace**.

✓ Syntéza ATP probíhá změnou konformace  $\beta$ -podjednotek **ATP-syntházy**.

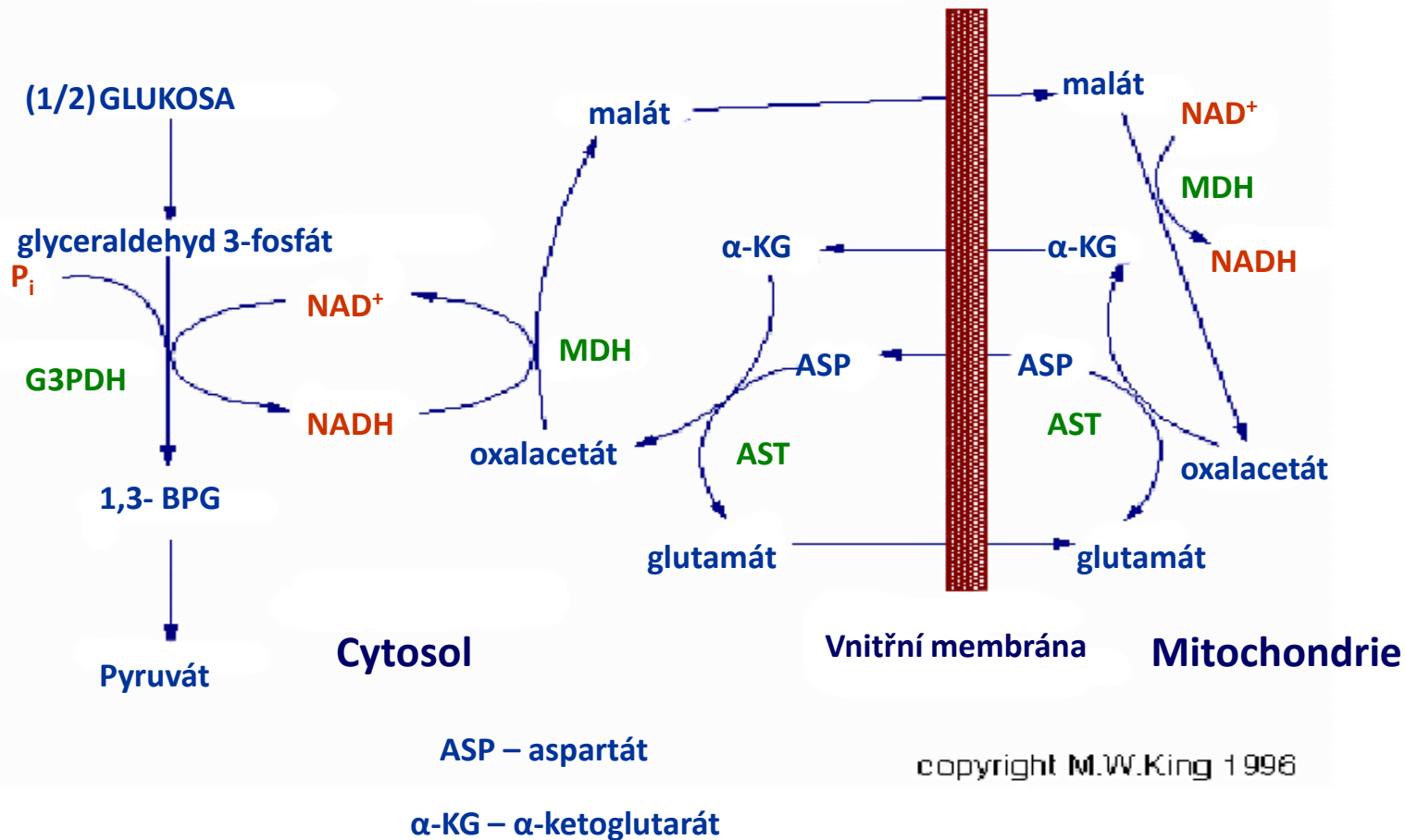


✓ Uvolnění nově syntetizované ATP a **jeho využití** pro biochemické pochody mimo mitochondrie.

✓ K přenosu ATP využít **specifický transportér** ADP/ATP *translokáza*.



# Souhrn III



MDH – malátdehydrogenáza

G3PDH – glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenáza

AST – aspartátaminotransferáza

✓ Intermediáty biochemických reakcí mohou přes membránu přecházet **pouze** za pomoci **transportních systémů**!

# Použitá literatura

- D. Dobrota a kolektiv, **Lekárska biochémia**, 1. vydání (2012), vydavatelství Osveta
- R. K. Murray a kolektiv, **Harperova ilustrovaná biochemie**, překlad 28. vydání (2012), nakladatelství Galén
- J. Koolman, K.H. Röhm, **Barevný atlas biochemie**, překlad 4. vydání (2012), vydavatelství Grada Publishing, a.s.
- M. Lieberman, A.D. Marks, **Marks' Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach**, third edition (2009)
- T. M. Devlin, **Textbook of Biochemistry with Clinical Correlations**, sixth edition (2006)

**Děkuji za pozornost!**

**Prostor pro dotazy...**