

Dýchací řetězec a tvorba ATP (FBLT)

Náplň podkapitoly

1. Úvod do problematiky dýchacího řetězce a tvorby ATP
2. Mitochondriální elektronový transportní řetězec

Úvod do problematiky dýchacího řetězce a tvorby ATP

Oxidace je **ztráta elektronů**, případně **zvýšení oxidačního čísla** příslušného prvku. Odebrané elektrony musí skončit na jiném prvku, a proto je oxidace jedné látky vždy spojena s redukcí látky jiné. Slovo „oxidace“ pochází ze slova „oxid“, které označuje sloučeninu obsahující kyslík. Kyslík není pro průběh oxidace nezbytně nutný.

Kyslík je oxidační činidlo. Má vysokou tendenci **přijímat elektrony**. Afinita prvku k elektronům je vyjádřena hodnotou jeho elektronegativity. Elektronegativita kyslíku je jedna z nejvyšších mezi prvky, vyšší má už jenom fluor. Přesun elektronů na kyslík, včetně tvorby vazeb s kyslíkem, je proces termodynamicky výhodný, tzn. **uvolňuje energii**.

To, že se v naší atmosféře s 20 % kyslíku samovolně nevznítíme, se dá zdůvodnit jediné existencí jistých kinetických bariér.

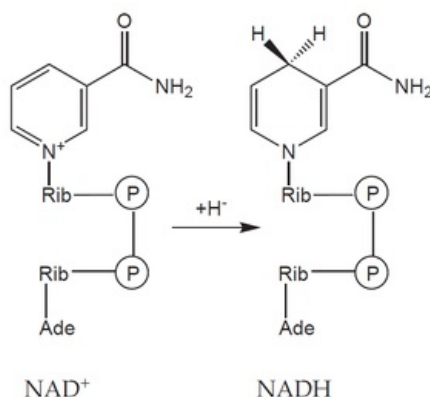
Organizmy žijící na Zemi našly způsob využití energie přenosem elektronů z méně elektronegativních prvků na kyslík. Naše buňky **oxidují organické sloučeniny** obsažené v potravě na **CO₂** a **H₂O** za **spotřeby kyslíku a produkce energie**. Tento proces někdy nazýváme také spalování živin. Na rozdíl od hoření je transfer elektronů z organických molekul na kyslík v našich buňkách rozdělen do mnoha kroků. Většina uvolněné energie se tak nepřemění na teplo a světlo, ale ukládá se ve formě chemického potenciálu. Z didaktických důvodů můžeme oxidativní metabolismus rozdělit do dvou fází:

1. **Oxidace substrátu spojená s redukcí kofaktorů enzymů;**
2. **Reoxidace redukovaných kofaktorů kyslíkem.**

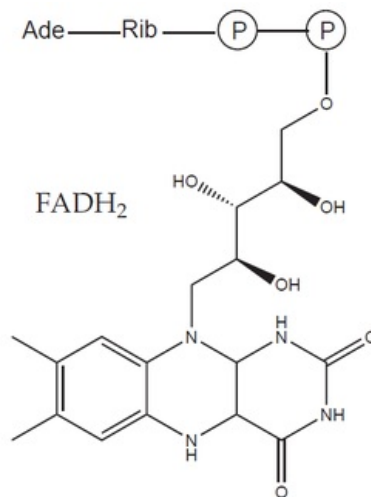
 Podrobnější informace naleznete na stránce Co pohání naše buňky.

Odbourávání glukózy

Jako příklad můžeme uvést glukózu. Její šestiuhlíkatá molekula (C₆H₁₂O₆) je v procesu glykolýzy a pyruvátdehydrogenázové reakce postupně oxidována na dvě molekuly **kyseliny octové** (ve formě acetylkoenzymu A) a dvě molekuly **CO₂**. Během této reakce dochází k redukcí čtyř molekul koenzymu NAD⁺ (nikotinamidadenindinukleotid) na NADH, přičemž každý přijme dva elektrony (často naznačeno jako přijetí hydridového aniontu H⁻).



Vytvořený acetyl-CoA vstupuje do citrátového cyklu a je dále oxidován na dvě molekuly CO₂ a čtyři molekuly redukovaných kofaktorů (tři NADH a jeden FADH₂ – flavinadenindinukleotid). Ve výsledku dochází při oxidaci glukózy k tvorbě **12 redukovaných kofaktorů** a **šesti molekul CO₂**. V tomto procesu nedošlo ke spotřebě žádného molekulárního kyslíku (O₂) – chybějící atomy kyslíku byly poskytnuty molekulami vody. V té se kyslík vyskytuje již v redukované formě (O^{-II}), která se elektronového transferu neúčastní.



Aby mohla metabolická dráha fungovat, musí být redukované kofaktory zpětně **reoxidovány**. Proces reoxidace nastává nejčastěji v mitochondriích, kde redukované kofaktory předávají získané elektrony kyslíku (redukují ho). Redukce kyslíku pak vede k uvolnění značného množství energie.

Mitochondriální elektronový transportní řetězec

Mitochondrie jsou v buňce vázány na cytoskelet. Podle *endosymbiotické teorie* Lynn Margulisové se vyvinuly z aerobních bakterií, které byly předtím pohlceny fagocytujícími archebakteriemi. Část jejich genomu se přesunula do jádra „hostitelské“ buňky a tím se na ní staly závislé, zbytek genomu ale zůstal v mitochondriích. Kromě vlastních genů mají také vlastní proteosyntetický aparát vykazující znaky prokaryot (70S ribozomy), a proto bývají označovány jako **semiautonomní organely**.

Zevní mitochondriální membrána

Od vnějšího prostředí je odděluje podobná membrána endoplazmatického retikula. Tato membrána je poměrně dobře propustná pro většinu látek s menší molekulovou hmotností, ale zamezuje vstupu bílkovin a jiných makromolekul. Současně obsahuje:

- enzymy metabolismu mastných kyselin a fosfolipidů;
- tzv. TOM komplex (*translocase of the outer membrane*) přenášející proteiny z cytoplazmy do mezimembránového prostoru.

Mezimembránový prostor má složení podobné cytosolu (tzn. že obsah proteinů v něm je v porovnání s matrix nízký) a obsahuje například i **cytochrom c** a **proapoptotické proteiny**.

Vnitřní mitochondriální membrána

Membrána výrazně selektivní, polární molekuly přes ni téměř neprocházejí (s výjimkou několika, které mají vlastní transportéry). Vnitřní membrána obsahuje:

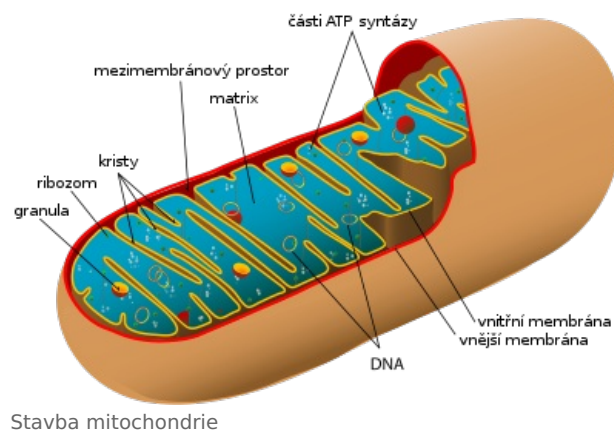
1. fosfolipid kardiolipin;
2. enzymy dýchacího řetězce;
3. tzv. TIM komplex (*translocase of the inner membrane*) transportující určité proteiny.

Směrem do matrix vybíhá v podobě různých výběžků, nejčastěji krist a tubulů.

Mitochondriální matrix

Má podobu hustého proteinového gelu obsahujícího enzymy mnoha metabolických drah (Krebsova cyklu, β -oxidace MK, ornitinového cyklu a dalších). Dále se zde nachází mDNA (a příslušné tRNA a mRNA), ribozomy či anorganické ionty (jako Ca^{2+}).

Elektronový transportní řetězec



Redukované kofaktory přicházející z **cytoplazmy** (přes speciální transportní systém), a také z reakcí probíhajících v **matrix**, jsou reoxidovány na vnitřní mitochondriální membráně souborem enzymů nazývaných **elektronový transportní řetězec (ETC – electron transfer chain)**. Ten se skládá ze čtyř enzymových komplexů označovaných jako **Komplex I-IV**.

Komplex I (NADH dehydrogenáza)

- Komplex I katalyzuje **oxidaci NADH na NAD⁺** a zároveň transfer dvou elektronů na koenzym Q (CoQ) nazývaný též **ubichinon**. Přesná struktura mitochondriálního Komplexu I není úplně známá, ale víme, že obsahuje přes 40 podjednotek, jednu molekulu FMN a několik atomů železa v komplexech se sírou (FeS klastry, *FeS clusters*). Elektrony uvolněné z NADH se navážou na FMN a následně jeden po druhém přeskakují z jednoho FeS klastru na další, dokud nedorazí k ubichinonu a neredukují ho na **ubichinol**.
- Ubichinol** (CoQH₂ či UQH₂) je tedy redukovaná forma ubichinonu (CoQ anebo UQ). Termín koenzym Q zahrnuje obě formy. Jedná se o extrémně hydrofobní molekulu, a to díky jeho dlouhému isoprenoidovému postrannímu řetězci, kterým je připojen na nepolární jádro vnitřní mitochondriální membrány. Zde CoQ funguje jako mobilní přenašeč elektronů z Komplexu I a II (případně jiných enzymů) na Komplex III.

Komplex II

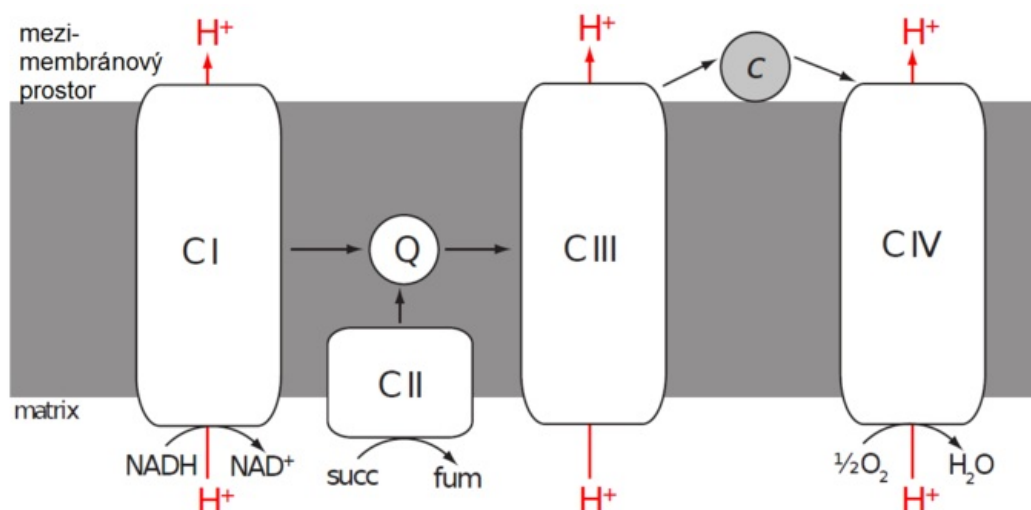
- Komplex II katalyzuje **oxidaci sukcinátu na fumarát** a je integrální součástí citrátového cyklu (sukcinátdehydrogenáza). Elektrony získané oxidací jsou nejdříve transportovány na FAD vázané v enzymu a následně přes řetězec tří FeS klastrů a cytochrom b na **ubichinon**.

Komplex III (cytochrom c reduktáza)

- Komplex III přijme elektrony z **redukováného CoQ** a předá je (přes dva cytochromy a FeS klaster) na další mobilní přenašeč elektronů – **cytochrom c**. Cytochrom c je malý hemoprotein připojený na vnější povrch vnitřní mitochondriální membrány. Na rozdíl od předchozích enzymů může jedna molekula cytochromu c přenášet jen jeden elektron. Dochází přitom k **redukci železa** hemu **z ferri (III) na ferro (II)** formu. Elektrony z ubichinolu jsou tedy jeden po druhém přeneseny komplexním procesem nazývaným Q-cykus.

Komplex IV (cytochrom c oxidáza)

- Komplex IV, poslední člen ETC, převezme elektrony z **redukováného cytochromu c** a přes dva cytochromy a tři atomy mědi je předává **konečnému příjemci** (akceptoru), kterým je **kyslík**.



Redoxní potenciál

Aby mitochondriální **elektronový transportní řetězec (electron transport chain, ETC)** mohl fungovat popsáním způsobem, musí existovat síla, která přes něj „tlačí“ elektrony z NADH až na molekulární kyslík. V případě hořícího dřeva jsme mluvili o elektronegativitě elementárního kyslíku. Příbuzná míra afinity pro elektrony je **redoxní potenciál**.

V podkapitole Co pohání naše buňky jsme popisovali elektrodový potenciál vytvořený ponořením tyčinky čistého kovu do roztoku jeho iontů (tedy jeho oxidované formy). Pokud oddělíme dvě poloreakce přítomné v každé redoxní reakci (redukci a oxidaci), můžeme pro ně za standardních podmínek definovat **standardní elektrodové potenciály**. V závislosti na směru těchto reakcí je nazýváme **standardní oxidační** a **standardní redukční potenciál**. Souhrnně mluvíme o **redoxním potenciálu** (obvykle popisuje reakci ve směru jejího typického průběhu).

Tok elektronů ve správném směru (tj. z NADH na kyslík přes komplexy a mobilní přenašeče elektronů) v ETC lze vysvětlit tím, že redoxní (konkrétněji redukční) potenciály všech „zastávek po cestě“ se postupně zvyšují. To znamená, že při postupu řetězcem se jeho jednotlivé články stále snáze a snáze redukují. Kyslík, nacházející se na konci řetězce, se redukuje zdaleka nejsnadněji – jde o velmi dobré oxidační činidlo.

Energie

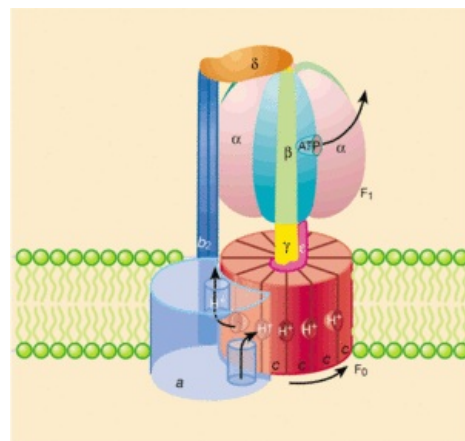
Výhodou použití kyslíku jako **finálního akceptoru elektronů** je množství energie, které se následně nabízí k dispozici. Také velký nárůst redukčního potenciálu mezi NADH (či FADH_2) a kyslíkem a jemu odpovídající změna volné energie (ΔG) se nepromrhá. Použije se na **pumpování protonů (H^+)** z matrix mitochondrie do mezimembránového prostoru.

Tok elektronů přes **Komplexy I, III a IV** je spojený s **přečerpáním určitého množství protonů na jeden pár elektronů**. Komplex II žádné protony nepřenáší. Protože je vnitřní mitochondriální membrána vysoce nepropustná pro protony, dochází na ní k **tvorbě protonového gradientu** (množství protonů je větší v mezimembránovém prostoru než v matrix). Vyšší koncentrace protonů znamená nižší pH a pozitivní elektrický potenciál. Mezimembránový prostor má proto kyslejší prostředí a je pozitivně nabitý vůči matrix. Membránový potenciál mitochondrie je obvykle vyjádřen jako napětí.

V mitochondrii se energie protonového gradientu na vnitřní membráně použije na výrobu jiného druhu energie – **chemické energie uložené v molekulách ATP**.

Syntéza ATP je katalyzována enzymem **$\text{F}_1\text{-F}_0$ -ATP syntáza**. F_0 podjednotka tvoří kanál přes vnitřní membránu mitochondrie, a umožňuje tak návrat protonů z mezimembránového prostoru zpět do matrix. Tok protonů po elektrochemickém gradientu se využívá k otáčení části enzymu. Rotace je následně přenášena na centrální osu (stopku) F_1 podjednotky enzymu, která tlačí na vnější podjednotky. Ty jsou drženy nehybným spojením s periferní stopkou (osou), a tím je na nich poháněna fosforylace ADP na ATP. Podjednotka F_1 má tři místa syntézy ATP, tudíž jedna kompletní otočka umožní tvorbu tří molekul ATP.

Specifický přenašeč (ANT – *adenine nucleotide translocator*) následně přenáší nově nasyntetizované molekuly ATP výměnou za ADP ven z matrix do cytoplazmy.



ATP-synthasa

Stechiometrie

Všechny výše popisované procesy slouží primárně k tomu, aby se ze substrátu získala energie na užitečnou práci. Je proto pochopitelné, že nás zajímá, kolik energie mohou mitochondrie vytěžit například z molekul glukózy nebo kyseliny palmitové.

V předchozích částech jsme se zabývali množstvím elektronů (ve formě redukováných kofaktorů) odebraných při metabolismu glukózy. Podobně můžeme jejich počet zjistit i pro jiné substráty. Otázka mitochondriální stochiometrie tedy zní: kolik molekul ATP můžeme vyrobit v ETC na určitý počet přenesených elektronů? Tuto otázku můžeme dále rozdělit na dvě podotázky:

1. **Kolik protonů je transportováno přes membránu na jeden pár elektronů?** Na dva elektrony přeneseme deset protonů. Komplexy III a IV transportují dohromady šest protonů a komplex I přeneseme přibližně čtyři protony na elektronový pár.
2. **Kolik protonů se musí přemístit zpět do matrix, aby bylo možné vyrobit jednu molekulu ATP?** Tady je odpověď o něco složitější. Podle dnešních modelů $\text{F}_1\text{-F}_0$ -ATP syntázy je poměr H^+/ATP přibližně 4,33. Znamená to, že pro výrobu tří molekul ATP je třeba přenést třináct protonů – deset přes $\text{F}_1\text{-F}_0$ -ATP syntázu a další tři protony se použijí pro translokátor ANT na import ADP a fosfátu a na export ATP.

Uvedených čísel ovšem lze dosáhnout jen za optimálních podmínek, kdy všechny součásti ETC pracují bezchybně a vnitřní mitochondriální membrána je pro protony zcela nepropustná. Tyto podmínky samozřejmě nejsou obvyklé.

Rozpojení - uncoupling

Mechanismus převodu energie mezi ETC a syntézou ATP může být rozpojený, je-li umožněn zpětný tok protonů z mezimembránového prostoru do matrix. Tato neefektivní ztráta protonového gradientu promění v něm uloženou energii na její méně užitečnou formu – **teplo**.

Teplo je obecně mnohem méně užitečné než například ATP, ale existují situace, kdy schopnost produkovat teplo může zachránit život – například pokud je organismus vystaven nízkým teplotám.

Svalový třes je dobře známý mechanismus tvorby tepla, který využívají lidé i ostatní savci. Tento proces produkuje teplo prostřednictvím neefektivního převodu energie během svalové kontrakce. Novorozenci a mnoho zvířat používají jiný způsob – rozpojení mitochondriálního řetězce (*uncoupling*) = netřesová termogeneze.

Rozpojení dýchacího řetězce k produkci tepla se odehrává převážně ve speciální tkáni zvané **hnědá tuková tkáň**.

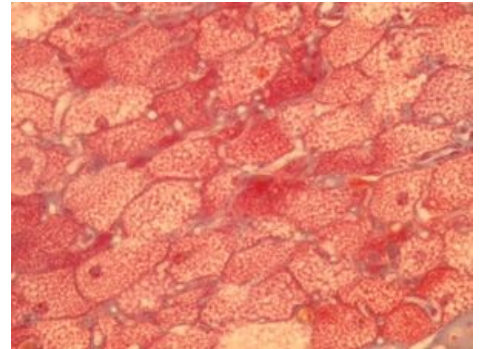
Hnědý tuk:

- je takto zbarvený proto, že **obsahuje mnoho mitochondrií**,
- jeho úlohou je zjednodušeně energii "plýtvat".

Bílý tuk:

- energii skladuje.

Mitochondrie hnědé tukové tkáně obsahují speciální protein, který tvoří kanál ve vnitřní mitochondriální membráně, a umožňuje tak přesun elektronů – **UCP-1** (*uncoupling protein-1, thermogenin*). Je-li hnědá tuková tkáň aktivována noradrenalinem (skrze β_3 -adrenergní receptory), hydrolyzuje své triacylglyceroly a uvolněné mastné kyseliny poskytují energii pro ETC a současně aktivují UCP-1.



Existují také jiné podtypy UCP (UCP-2 až UCP-5) exprimované v jiných tkáních, jejich funkce ale dosud není zcela objasněna.

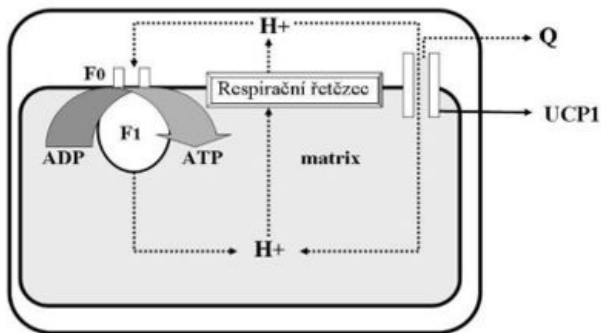


Schéma funkce UCP-1