

Chaîne Respiratoire Mitochondriale (CRM) et Phosphorylation Oxydative (PO)

I – Introduction :

L'Acétyl-CoA est une molécule clé du métabolisme ; produit par différentes voies métaboliques (glycolyse, dégradation des AA...), l'Acétyl-CoA va être oxydé au cours du cycle de Krebs (catabolisme oxydatif et aérobie), pour générer notamment 2 coenzymes réduits : **NADH+H⁺** et **FADH₂**.

Ces coenzymes réduits **doivent être réoxydés avec la CRM** ; cette réoxydation va permettre la **génération d'énergie** utilisée pour créer un **gradient de protons**. Ce gradient va nous servir à la **synthèse d'ATP** à travers la phosphorylation oxydative grâce à **l'ATP Synthase** +++

(Alors là pas de panique, ça fait un peu beaucoup d'informations en peu de lignes, mais relax, on va revenir sur tout ça pendant le cours)

☛ **La PO = Réoxydation des coenzymes réduits + Production d'ATP grâce à l'énergie générée.**



Les cofacteurs réduits NADH+H⁺ et FADH₂ ne proviennent pas uniquement du CK !!

Il y a 2 pools de cofacteurs réduits :

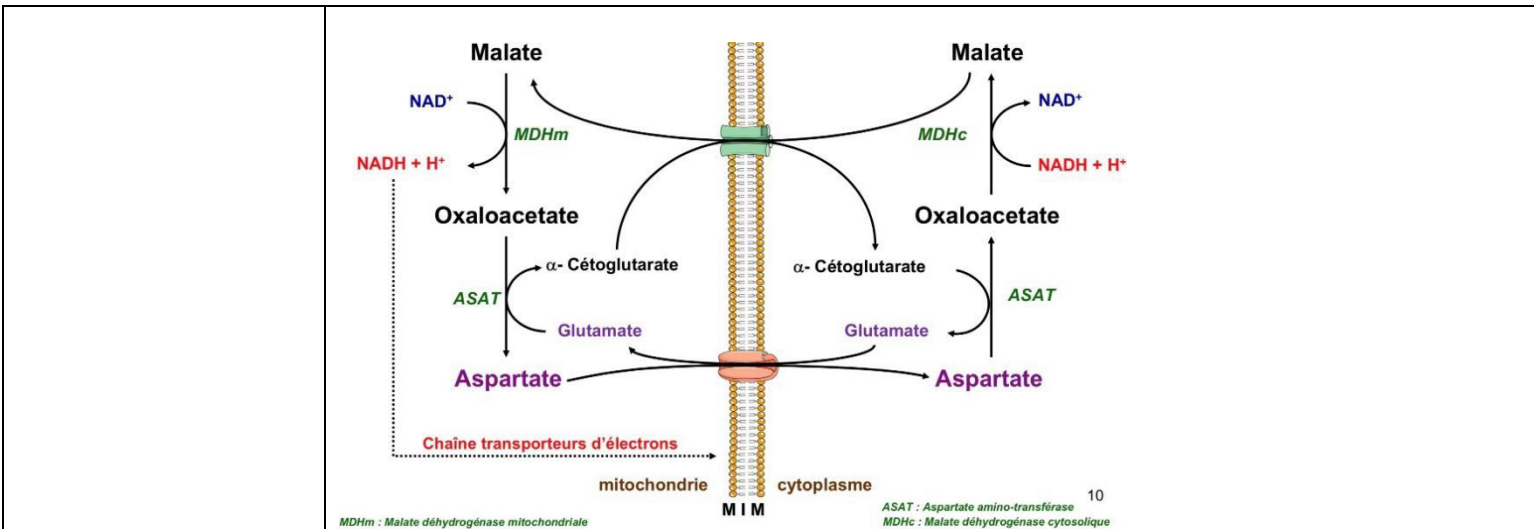
☞ **1 pool venant du cytoplasme** : besoin de passer dans la mitochondrie pour être réoxydés MAIS la MIM est imperméable donc → **Transporteur actif et sélectif** (concerne NADH de la glycolyse).

☞ **1 pool venant de la mitochondrie** : pas besoin de transporteurs ! (concerne cofacteur du CK, décarboxylation oxydative, β-oxydation).

Petit point enzymo : les coenzymes sont un sous-type de cofacteurs (non mais wtf). Donc parmi les cofacteurs on va retrouver : 1) des ions métalliques (Mg²⁺, Cu²⁺...) 2) des coenzymes (NAD⁺, NADP⁺, FAD, TPP...)

II – Les différents systèmes de transport de la membrane mitochondriale :

Antiports	<ul style="list-style-type: none"> • 2 molécules transportées dans des directions opposées • Ex : ADP/ATP → ADP rentre dans la mitochondrie / ATP en sort
Symports	<ul style="list-style-type: none"> • 2 molécules transportées dans la même direction • Ex : → Pi + H⁺ → Pyruvate + H⁺ } passent du cytoplasme à la mitochondrie
Navette Malate/Aspartate	<ul style="list-style-type: none"> • Dans les cellules du cœur, foie et rein • Système de 2 antiports pour faire passer le NADH+H⁺ du cytosol vers la mitochondrie • L'OAA est converti en Malate. • Le Malate (qui rentre) traverse la MIM grâce à un antiport avec l'α-cétoglutarate qui • Le Malate est oxydé en OAA → production NADH+H⁺ qui s'engagera dans la CRM. • OAA converti en Aspartate. • L'Aspartate sort grâce à un 2^{ème} antiport avec le glutamate. • Aspartate retransformée en OAA dans le cytoplasme. • Système complexe utilisant des enzymes catalysant des réactions réversibles qui existe sous forme mitochondriale et cytoplasmique.



**Navette
Glycérophosphate**

- Dans les cellules des muscles et du cerveau**

 - Le DHAP est converti en G3P + oxydation du $\text{NADH} + \text{H}^+$ en NAD^+ .
 - Le G3P passe dans l'EIM, est converti à nouveau en DHAP (qui va repasser dans le cytosol + réduction du FAD en FADH_2 (complexe présent sur la MIM)).
 - FADH_2 réoxydé dans la CRM.

A partir du $\text{NADH} + \text{H}^+$ dans le cytosol on se retrouve avec un FADH_2 dans la mitochondrie grâce à des réactions réversibles catalysées par des enzymes ayant des formes cytoplasmiques et mitochondriales.

En breeeeef on a :

- Navette Malate/Aspartate : transfert DIRECT du NADH du cytosol vers la mitochondrie (ça veut dire qu'au départ, dans le cytoplasme, on a du NADH , et qu'à l'arrivée, dans la mitochondrie, aussi !)
- Navette Glycérophosphate : à partir du NADH on récupère du FADH_2 .

Ces différences auront une conséquence sur les tissus car la réoxydation de $\text{NADH} + \text{H}^+$ vaut 3 ATP alors que celle du FADH_2 vaut 2 ATP.

CRM et Phosphorylation Oxydative

I – Généralités :

La CRM et la PO ont différents buts (*dont on a déjà parlé*) :

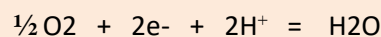
- ✓ **Réoxyder** les cofacteurs réduits (NADH+H⁺ et FADH₂)
- ✓ Utiliser le potentiel énergétique libéré par cette réoxydation pour **produire de l'ATP** (créé par phosphorylation sur une molécule d'ADP) par l'ATP synthase.

Ces réactions ont lieu :

- **Tout le temps**
- Dans la **MIM** de toutes les cellules qui ont des mitochondries DONC **PAS LES ERYTHROCYTES** (GR).

Mais qu'est-ce que ça implique la PO ?

Le but est de réoxyder les coenzymes réduits, donc cela va impliquer **un transfert d'électrons de haute énergie** à partir du NADH+H⁺ et du FADH₂ vers la molécule qui va les accepter, c'est-à-dire, l'accepteur final : **l'oxygène**, qui va être réduit en eau :



ATTENTION ! Ce transfert d'électrons (e⁻) ne se fait **pas de manière directe du NADH vers l'O₂**, mais de manière décroissante (sinon la cellule exploserait à cause du trop-plein d'énergie), par des échanges successifs entre les différents couples redox au sein des complexes de la MIM (on les aborde juste après). Aussi, ce **transfert est couplé à un transfert de protons H⁺ à travers la MIM**.

C'est quoi déjà l'oxydo-réduction ?

- ➔ Réactions de transfert d'électrons : les électrons passent d'une molécule qui peut donner des électrons (=potentiel redox négatif) à une molécule qui peut les accepter (=potentiel redox positif).
- ➔ **OXYDATION = Pertes d'électrons**
- ➔ **REDUCTION = Gain d'électrons**
- ➔ Une réaction d'oxydation est **TOUJOURS** couplée à une réaction de réduction +++

Voici avant de tout détailler, une vue globale de la CRM et de la PO :

La CRM comprend 4 complexes membranaires (MIM) + l'ATP synthase MAIS il faut distinguer les 4 premiers complexes (oxydo-réduction) ≠ production d'ATP (qui utilise un mécanisme différent).

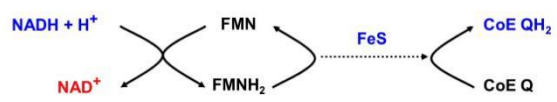
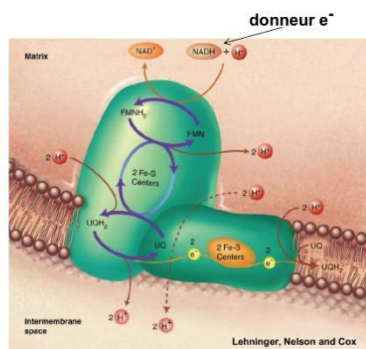
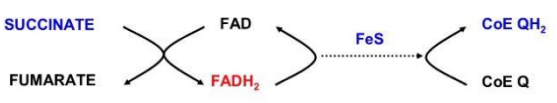
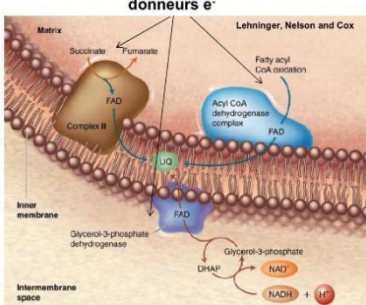
🌀 Dans les complexes 1,3 et 4 : on a un transfert d'électrons → génération d'énergie → création d'un flux de protons de la matrice vers l'EIM → création d'un gradient électro-chimique qui permet la synthèse d'ATP.

Dans ces réactions d'oxydo-réduction, on retrouve plusieurs **intermédiaires** : le **coenzyme Q** et le **cytochrome C** (lipophiles, bougent au sein de la MIM et facilitent le transport des e⁻ entre les complexes), et les **protéines Fer-Soufre**.

Les protéines Fer-Soufre (FeS) c'est quoi ?

- ➔ Associées aux flavoprotéines, elles sont petites et non hémiques
- ➔ Structures différentes les unes des autres
- ➔ Intermédiaires pour le transfert des e- des complexes 1 et 2 vers le Coenzyme Q
- ➔ Possèdent des atomes de **fer** et des atomes de **souffre**
- ➔ Le **souffre** est soit **inorganique**, soit provient des **résidus cystéines** de ces protéines. Stabilisent les atomes de fer par des liaisons de coordination
- ➔ Le **fer** = élément clé ➔ le seul qui **permet le transfert d'électron** en changeant de valence (fer ferrique Fe³⁺ à un fer ferreux Fe²⁺)
- ➔ Il y a autant de **souffre INORGANIQUE** que de fer +++

II – Les complexes de la Chaîne Respiratoire Mitochondriale :

Complexe 1	NADH UBIQUINONE REDUCTASE
	<p style="text-align: center;">Catalyse le transfert des électrons du NADH + H⁺ à l'ubiquinone</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>Structure protéine : 16 à 25 chaînes</p> <p>Couple redox ➔ FMN / FeS</p> <p>donneur e⁻ ➔ NADH + H⁺</p> <p>accepteur e⁻ ➔ CoE Q (Ubiquinone)</p> <p>fonction ➔ Réductase</p> <p>autre nom ➔ NADH déshydrogénase</p> <p>Associé au transfert de H⁺ dans l'espace intermembranaire</p> <div style="text-align: right;">  </div> <ol style="list-style-type: none"> 1) NADH+H⁺ réoxydé en NAD⁺ et FMN réduit en FMNH₂ 2) Transfert des e⁻ aux FeS et FMNH₂ réoxydé en FMN 3) Transfert des e⁻ au Coe Q (Ubiquinone) réduit en Coe QH₂ (Ubiquinole) 4) L'énergie produite par le transfert d'électron permet un transfert de protons de la matrice vers l'EIM (ici 4 H⁺)
Complexe 2	SUCCINATE UBIQUINONE REDUCTASE
	<p style="text-align: center;">Catalyse l'oxydation du succinate en fumarate</p> <div style="text-align: center;">  </div> <p>Structure protéine : 4 chaînes</p> <p>Couple redox ➔ FAD / FeS</p> <p>donneur e⁻ ➔ Succinate</p> <p>accepteur e⁻ ➔ CoE Q (Ubiquinone)</p> <p>fonction ➔ Réductase</p> <p>autre nom ➔ Succinate déshydrogénase</p> <p>Absence de transfert de H⁺ dans l'espace intermembranaire</p> <div style="text-align: right;">  </div>

- 1) Oxydation du Succinate en Fumarate et réduction du FAD en FADH₂
- 2) Transfert des e⁻ sur les FeS
- 3) Réduction du Coe Q en Ubiquinole, qui va se déplacer sur la MIM pour apporter les électrons au complexe 3, où il sera réoxydé en Ubiquinone.

➔ Pas assez de différence énergétique entre les 2 éléments du couple rédox ➔ pas assez d'énergie pour un transfert de protons vers l'EIM ++

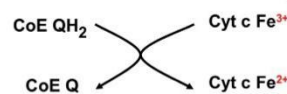
Les électrons peuvent rentrer dans la CRM par l'intermédiaire de 2 autres enzymes (sans passer par les complexes 1 et 2) :

- La Glycérol phosphate DH mitochondriale (navette glycérophosphate)
- L'Acyl CoA DH de la β-oxydation

Complexe 3

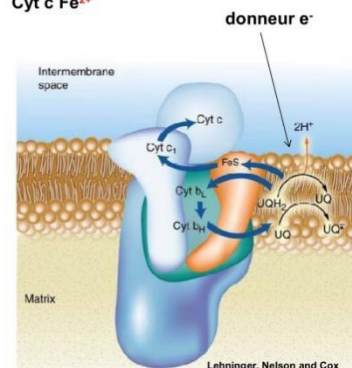
UBIQUINONE CYTOCHROME C REDUCTASE

Catalyse le transfert des électrons au cytochrome C



- Structure protéine : 8 chaînes
- Couple redox ➔ **Cytochromes b et C1**
- donneur e⁻ ➔ **CoE QH₂ (Ubiquinol)**
- accepteur e⁻ ➔ **Cytochrome C**
- fonction ➔ Réductase

Associé au transfert de H⁺ dans l'espace intermembranaire



Problème : le Cyt C ne peut accepter qu'un e⁻ à la fois alors que le Coe QH₂ doit lui donner 2 ☹

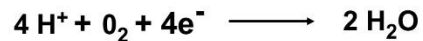
Solution : 3 cytochromes interviennent : c1, b1 et C ☺

- 1) Transfert d'un e⁻ sur c1, et du 2^{ème} sur b1 (en attente).
- 2) Le Cyt C vient chercher le 1^{er} e⁻ sur c1.
- 3) Transfert de l'e⁻ de b1 sur c1.
- 4) Le Cyt C vient chercher le 2^{ème} e⁻ sur c1 (en gros, le Cyt C n'interagit qu'avec c1)
- 5) Le Cyt C est réduit (il a récupéré les deux e⁻) donc il perd son affinité pour le complexe 3 et devient mobile ➔ complexe 4

➔ Ici, l'énergie est suffisante pour qu'un transfert de protons de la matrice vers l'EIM puisse se faire !

Complexe 4 CYTOCHROME C OXYDASE

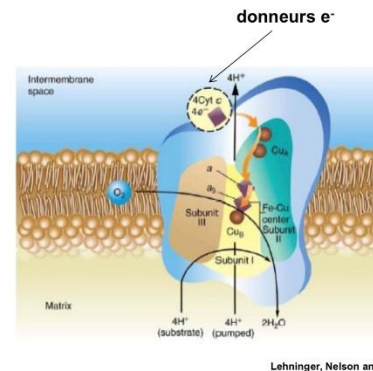
Catalyse la réduction de O₂ par 4 électrons



Alors ce passage, comme d'habitude, c'est un peu du freestyle, la prof s'emmêle souvent les pinceaux et on a du mal à comprendre, alors je me suis inspirée de l'explication d'un tuteur de l'année dernière donc essayez de comprendre comme vous pouvez <3

- Structure protéine : 7 chaînes
- Couple redox → **Cytochromes a, a3 et 2 Cu⁺⁺**
- donneur e⁻ → **Cytochrome C**
- accepteur e⁻ → **Oxygène moléculaire**
- fonction → **Oxydase**
- autre nom → **Cytochrome oxydase**

Associé au transfert de H⁺ dans l'espace intermembranaire



Ici on a une réduction de l'oxygène pour générer de l'eau ♦

- 1) Le Cyt C transfère les e⁻ sur les cyt a et a₃, associés à 2 atomes de cuivre Cu²⁺ (ça, c'est ce qu'il se passe dans la globalité de la réaction, donc je détaille) :
 - Cyt C transfère l'e⁻ sur le 1^{er} Cu²⁺
 - Le Cu²⁺ transfère l'e⁻ sur le cyt a
 - Le cyt a transfère l'e⁻ sur le cyt a₃
 - Le cyt a₃ transfère l'e⁻ au 2^{ème} Cu²⁺
 - Le Cu²⁺ transfère l'e⁻ à l'O₂

On ne parle là que d'un seul e⁻, donc j'imagine que ce parcours se fait deux fois car deux électrons mais on posera la question à la prof, comme chaque année ...

BILAN

En passant à travers ces différents complexes et en faisant intervenir différents acteurs pour le transfert d'électrons, la molécule de départ, le NADH réduit, a permis le transfert d'e⁻ de complexe en complexe, jusqu'à l'accepteur final → l'O₂, pour faire de l'eau.

Tous les complexes génèrent une quantité d'énergie suffisante pour entraîner un flux de protons la matrice vers l'EIM SAUF LE COMPLEXE 2 +++

Mais, du coup, pourquoi est-ce qu'on a fait passer tous ces protons dans l'EIM ? A quoi ça va nous servir ? En fait, ça a permis deux choses :

- ✓ **L'acidification de l'EIM (baisse du pH) → gradient de pH entre l'EIM et la matrice = gradient chimique**

Petit Point Physio ou Je-sais-plus-quelle-matière : le proton H⁺ est une particule acide ! C'est d'ailleurs [H⁺] qui caractérise l'acidité du corps humain ... bref, si H⁺ s'accumule d'un côté, sa concentration augmente et donc le pH devient plus acide, d'où le gradient de pH. Mais en plus d'être acide, le proton H⁺ est aussi une particule POSITIVE (cation), donc ...

- ✓ **L'accumulation de charges positives dans l'EIM → potentiel électrique avec l'EIM chargé positivement et la matrice chargée négativement = gradient électrique**

♦* **Il y a donc création d'un gradient électrochimique, qu'on utilisera pour la synthèse d'ATP ... mais avant de s'attaquer ça, on va rapidement parler des inhibiteurs de la CRM.**

III – Les inhibiteurs de la CRM :

Pour inhiber la CRM, on cherche à empêcher le transfert d’e- entre les différents complexes : *(je vous mets le tableau de la prof, flemme d’en faire un autre et celui-là est top)*

Complexes	Composants			Énergie	Inhibiteurs
	Complexes	Fe-S	Cytochromes		
C I	NADH déshydrogénase	oui	--	oui	roténone
C II	Succinate déshydrogénase	oui	--	non	--
C III	Ubiquinone cytochrome C réductase	oui	b ; c ₁	oui	Antimycine A
C IV	Cytochrome C oxydase	non	a ; a ₃	oui	CN ; CO

CN = Cyanure

CO = monoxyde de carbone

- ❖ La **roténone** → bloque le transfert d’électrons entre FeS et Coe Q → Complexe 1
- ❖ L’**antimycine A** → bloque le transfert d’e- entre FeS et cyt c1 → Complexe 3
- ❖ Le **CN et le CO** → bloquent le transfert d’e- entre le cyt a3 et les atomes de Cu²⁺ → Complexe 4

IV – La phosphorylation Oxydative :

🌀 La Théorie de Mitchell / Théorie Chimiosmotique 🌀

Hypothèse selon laquelle :

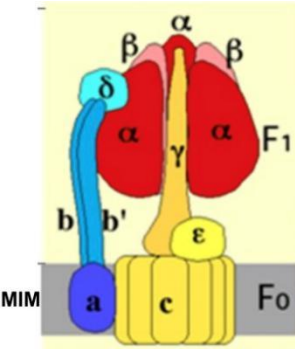
- ➔ La **MIM est imperméable aux H sauf au niveau du complexe 5 (=ATP Synthase)**
- ➔ Au niveau de la MIM, on a une alternance entre les transporteurs d’Hydrogène et les transporteurs d’e-
- ➔ Qui dit transfert d’électrons, dit transfert de protons dans l’EIM (sauf complexe 2++)

On a dit qu’avec la CRM, on obtenait un gradient électrochimique qui dépend de la différence de potentiel électrique et de potentiel chimique *(bon là on commence vraiment à se répéter dans c’est important à comprendre ça)* de part et d’autre de la MIM... DU COUP, **on va utiliser l’énergie générée par ces gradients pour faire fonctionner l’ATP Synthase** 🙃🙃 :

- ➔ L’énergie de transfert (de l’EIM vers la matrice) de 1 proton = 21,5 kJ
- ➔ L’énergie nécessaire pour synthétiser 1 ATP = 46kJ

●***La synthèse d’1 ATP nécessite que 3 H⁺ retournent vers la matrice à travers l’ATP Synthase = 3 H⁺ transférés pour 1 ATP ++**

L'ATP Synthase : (enfiiiiin)

	Structure	Rôles
F0	<ul style="list-style-type: none"> • Transmembranaire (intégré à la MIM) • Mobile • Appelé « rotor » 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Canal à protons : les protons H⁺ vont passer à travers lui de l'EIM à la matrice (sens inverse des complexes de la CRM).
F1	<ul style="list-style-type: none"> • Extramembranaire (baigne dans la matrice) • Fixe • Associé ou non à F0 • Composé de : <ul style="list-style-type: none"> → Sous-unités α et β associées sous forme de complexes dimériques α-β (quartier d'orange) : il y en a 3 ++ → Sous-unité gamma γ (tige centrale γ) = « stator » 	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Porte l'activité catalytique ➤ 2 situations possibles : <ul style="list-style-type: none"> - F1 est associé à F0 → production ATP - F1 est dissocié de F0 → hydrolyse de l'ATP (=dégradation = activité ATPasique)

Fonctionnement de L'ATP Synthase

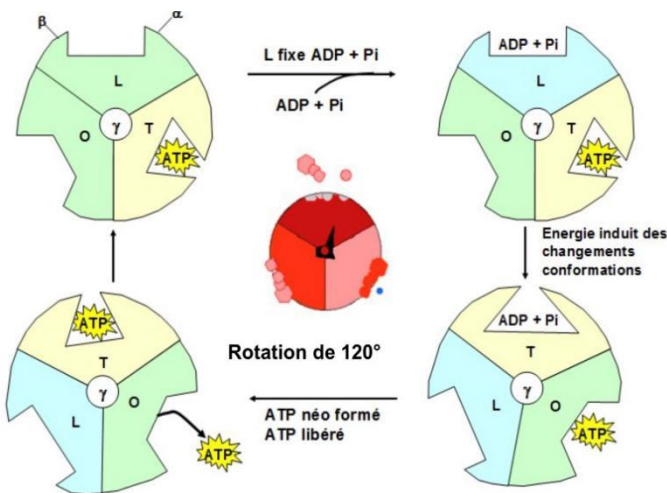
- 3 protons vont traverser **chacun leur tour** le canal F0.
- A chaque passage, **F0 tourne et fait tourner la tige γ de F1 de 120° à chaque fois** → **changement de conformation des 3 dimères α-β.**

Logique ! On a besoin de 3 H⁺ pour faire 1 ATP et on a 3 dimères. A chaque H⁺ qui rentre, on va tourner de 120°. Quand les 3 H⁺ seront rentrés, on aura fait un tour complet de 360°, l'ATP sera libérée, et on repart pour un tour ...

Il y a 3 types de conformation des sites catalytiques :

- ❖ **L = Relâchée (Loose)**, → fixation de l'ADP et du Pi.
- ❖ **T = Tendue** → l'ATP se forme et on a une forte affinité pour l'ATP, donc ATP retenu.
- ❖ **O = Ouvert** → l'ATP est relâché.

☛ **Quand une de ces 3 parties change de conformation la partie suivante change aussi → au fur et à mesure les 3 parties assument les 3 conformations différents !**



Transporteurs impliqués dans la synthèse d'ATP

- ❖ L'ATP translocase : antiport qui fait sortir un ATP et rentrer un ADP.
- ❖ La Phosphate translocase : symport qui fait rentrer un Pi dans la mitochondrie en même temps qu'un H⁺.

V – La Régulation de la Phosphorylation Oxydative :

La régulation se fait à deux niveaux.

A) Régulation en fonction du niveau énergétique de la cellule :

→ Au repos → besoin énergétique faible car forte [ATP] → la PO tourne au ralenti.

→ Lors d'un effort → besoin énergétique élevé → [ATP] chute car ↗ de son utilisation par le corps → la PO s'accélère.

B) Régulation par les inhibiteurs et les découpleurs :

On a déjà décrit les inhibiteurs (roténone, antimycine A, CN et CO), et les découpleurs sont :

→ **L'oligomycine** : bloque le flux de protons au niveau de F₀ en bloquant sa jonction avec F₁ (en gros, les protons peuvent toujours passer à travers le canal F₀, mais la synthèse d'ATP est bloquée car plus de lien entre F₀ et F₁).

→ **2,4 dinitrophénol** : crée un trou dans la MIM par où les H⁺ retournent dans la matrice sans passer par l'ATP synthase donc ... pas de synthèse d'ATP.

→ **L'actractyloside** : se fixe sur la face externe de l'ATP translocase donc empêche la fixation de l'ADP → l'ADP ne peut pas rentrer dans la mitochondrie (2 conséquences : 1) l'ATP déjà formé ne pas sortir car antiport bloqué 2) pas de synthèse de nouvel ATP car pas d'ADP).

Inhibiteurs ≠ Découpleurs :

- ❖ **Inhibiteurs** → bloquent le transport d'e⁻ donc **empêchent la CRM de bien fonctionner**
- ❖ **Découpleurs** → permet le passage des H⁺ vers la matrice par un autre moyen que l'ATP synthase ... donc pas de génération d'énergie → génération de chaleur ... MAIS la **CRM fonctionne** normalement !

VI – Autres fonctions de la mitochondrie :

La mitochondrie a d'autres rôles que la production d'ATP (CK, CRM et PO) :

- ✓ Production d'espèces réactives de l'oxygène (si accumulation → stress oxydatif)
- ✓ Contrôle de la concentration de calcium
- ✓ Synthèse d'hormones stéroïdiennes dans les glandes surrénales
- ✓ **Thermogénèse** dans le Tissu Adipeux (TA) grâce aux **protéines de découplages** :

→ La **thermogénèse adaptative** (=sans frisson) permet la **production de chaleur** et régule le **maintien de la température corporelle**. Elle se déroule surtout dans le TA brun chez le mammifère.

→ **Les protéines de découplage (=UCPs)** sont responsables du découplage physiologique de la CRM et de l'ATP synthase ; elles permettent la dissipation de l'énergie sous forme de chaleur. Il en existe différents types en fonction des tissus → la plus importante = UCP1 pour la thermogénèse ++. Très présentes dans le TA Brun, chez l'homme et chez le rongeur.

Petit Point sur le TA brun : *(un peu d'histo pour terminer en beauté)*

→ Organe thermogénique surtout actifs chez :

- Les nouveaux nés (abondant à la naissance mais diminue avec l'âge)
- Les animaux hibernant lors du réveil
- Les rongeurs non hibernant exposés au froid

→ Chez l'adulte on ne le trouve qu'au niveau :

- Inter-scapulaire
- Cervical
- Thoracique
- Péri-aortique
- Péri-rénal

→ Riche en mitochondrie (couleur brune) donc capacité oxydative élevée + thermogénèse sans frisson.

→ Très vascularisé, représente entre 0,5 et 5% du poids du corps → sa masse ↗ dans les conditions de froid extrême.

→ Dans les adipocytes bruns activés → dissociation quasi complète de la CRM et de l'ATP synthase → énorme production de chaleur

🌟* **La respiration cellulaire n'est pas parfaitement couplée à la phosphorylation de l'ADP, donc toute respiration**

Voilàaaaa la fiche est terminée, bravo à vous d'être arrivés jusqu'au bout ! En soit, le cours n'est pas très compliqué, mais il est assez long donc assez impressionnant ... C'était le dernier cours du métabolisme mitochondrial ! Vous l'avez sûrement remarqué, il est TRES détaillé, comme le cours sur le CK et la PDH : j'essaie de vous faire des supports le plus complet possible pour que vous puissiez bosser dessus cette année, mais comme je l'ai déjà dit, je ne rentre pas dans certains détails abordés dans les ronéos ... même si je m'en inspire totalement !

Toujours pareil : si vous avez des remarques à me faire parvenir, n'hésitez pas et surtout si vous avez des questions : Go fofo !

Des bisous les P1 <3