

# CHAINE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE

## LA PHOSPHORYLATION OXYDATIVE

A la sortie du cycle de Krebs on a donc du CO<sub>2</sub> et des éléments réduits NADH et FADH<sub>2</sub> qui sont réoxydés par la Chaîne Respiratoire Mitochondriale (CRM). A partir de ces éléments réduits et de la molécule d'oxygène (O<sub>2</sub>) on permet la formation de la molécule d'eau H<sub>2</sub>O, systématiquement associée à la réoxydation de tous ces substrats énergétiques.

La communication entre le cytosol et la mitochondrie se fait via :

- ses **transporteurs** dont ceux associés à l'import des éléments réduits du cytosol à la mitochondrie et ceux permettant le bon fonctionnement du cycle de l'urée en le couplant au cycle du citrate
- **2 symports** qui font entrée dans la matrice mitochondriale 2 molécules fortement impliquées dans le métabolisme oxydatif : pyruvate (*oxydation du glucose*) et Pi (phosphate inorganique, *substrat de l'ATP synthase*). Le pyruvate et le Pi en entrant dans la matrice mitochondriale permettent simultanément l'entrée de protons H<sup>+</sup> dans celle-ci
- **système de navettes** :
  - navette glycéro-phosphate qui permet l'échange des éléments réduits NADH du cytosol avec un FADH<sub>2</sub> porté par la glycérol-P DH mitochondriale (*enzyme de la mb int exprimant son site actif dans l'espace intermbR, faisant partie intégrante du complexe II de la CRM*)
  - navette malate-aspartate impliquée dans l'uréogénèse

Au bilan du cycle de Krebs, les éléments réduits sont 3 NADH et 1 FADH<sub>2</sub> + éléments réduits par la bêta-oxydation + éléments réduits du cytosol qui ont intégrés la mitochondrie par ces 2 systèmes de navettes

→ tous ces éléments réduits vont être réoxydés par la mitochondrie, à ceci est couplé le système essentiel de synthèse de l'ATP

## LA CHAINE RESPIRATOIRE MITOCHONDRIALE

**Le but de la CRM** est la réoxydation de ces 2 éléments réduits (FADH<sub>2</sub> + NADH), produits du catabolisme. La CRM utilise le pouvoir réducteur de ces 2 coenzymes pour créer une force électrochimique → réaliser la réaction de condensation d'un Pi sur un ADP pour former de l'ATP via l'ATP synthase → formation d'ATP

→ toutes ces étapes ont lieu dans la mitochondrie → dans toutes les cellules sauf le GR

## ⇒ **PROTEINES FER-SOUFRE**

Eléments nécessaires au fonctionnement de la CRM

Ce sont des **éléments prosthétiques** ≠ coenzyme car ce sont des entités qui peuvent être protéiques (*ndlr : la définition de prosthétique désigne des molécules non protéiques, c'est du détail, je ne pense pas que ça tombe*), associés **fortement ++** à l'apoenzyme.

Ces protéines Fe-S sont de petites protéines associées aux complexes I, II ou III de la CRM

!/\ L'hémoglobine et les cytochromes ne sont pas des protéines Fe-S, ce sont des **protéines hémiques**.

Les protéines Fe-S relativement nombreuses, se différencient par leur structure protéique : elles sont de taille différente, et possèdent un nombre d'atome de Fe différent. **Important à retenir** : les atomes de Fe sont « statifiés » par des atomes de Soufre ; **il y a autant d'atomes de Fe que de S inorganique**. Chaque atome de Fer est stabilisé par 2 atomes de soufre d'origine différente : un soufre inorganique et un soufre appartenant à une cystéine.

*NB : ici les atomes de Fe ne sont pas organisés selon une structure hémique*

Les électrons qui transitent par ces protéines Fe-S se lient uniquement avec les atomes de Fe (***jamais d'interaction avec les atomes de soufre***)

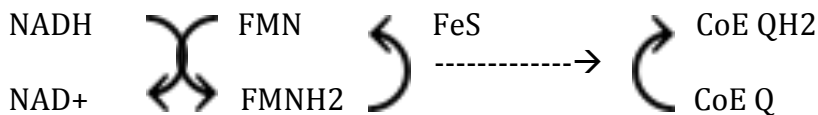
### ***Pour faire simple :***

Ce sont des protéines de taille différente, comportant un certain nombre d'atomes de Fe stabilisés par des atomes de soufre (inorganique ou associés à des cystéines). Seuls les atomes de Fe de ces protéines sont associés au transfert d'e-

Voici maintenant le descriptif des différents complexes de la CRM.

*NB : les complexes portent le nom de l'enzyme de la 1<sup>ère</sup> réaction*

## ⇒ **Complexe I : NADH ubiquinone réductase = NADH DH**



L'étape initiale de ce complexe est la réoxydation des NADH réduits

Structure protéique	15 à 25 chaînes
Couple red-ox	FMN / FeS
Donneur d'e- ( <i>élément réducteur</i> )	NADH + H+
Accepteur d'e-	CoE Q (ubiquinone)
Fonction	réductase

FMN : coenzyme catalytique

FMN réduit correspond à un FMN qui a fixé une molécule d'hydrogène (H<sub>2</sub>)

Etape réactionnelle de transfert d'e<sup>-</sup> / cascade transport d'e<sup>-</sup> et transport d'H<sup>+</sup> => translocation de H<sup>+</sup> permet la force électrochimique, suffisante à la synthèse d'ATP

CoE Q : strictement hydrophobe donc mobile dans un environnement lipophile → on le retrouve dans la bicouche lipidique de la membrane interne de la mitochondrie

Son rôle : transfert des e<sup>-</sup> au sein de la membrane interne

Sa forme réduite fixe les éléments d'une molécule d' H<sub>2</sub>

### **Fonctionnement du complexe**

Point de départ = NADH / Point d'arrivée : ubiquinone / BUT : **réoxydation de NADH**

Cette réoxydation se fait par transfert d'e<sup>-</sup>

→ Implique d'abord le complexe catalytique **FMN** → récupère éléments réducteurs du NADH, on obtient FMN sous sa forme réduite : **FMNH<sub>2</sub>**

→ FMNH<sub>2</sub> réoxydé en transférant ses e<sup>-</sup> à une **protéine FeS** et ses H<sup>+</sup> sont transloqués dans la matrice mitochondriale → protéines FeS transfèrent les e<sup>-</sup> à une ubiquinone, partie intégrante du complexe I → protéines FeS réoxydées, ubiquinone sous forme réduite QH<sub>2</sub> = ubiquinol ; *ubiquinone récupère 2 e<sup>-</sup> par la protéine FeS et aussi 2H<sup>+</sup> de la matrice mitochondriale* → QH<sub>2</sub> se dissocie du C I et transfert les e<sup>-</sup> à une nouvelle protéine FeS du complexe III et permet la translocation des protons à l'extérieur de la mitochondrie : dans l'espace intermbR

L'ensemble de ce complexe : NADH, FMN, protéine FeS et ubiquinone ainsi que la protéine FeS du C III ont pour double objectif :

- **Transfert des e<sup>-</sup> selon un gradient de progression qui les amène proche de l'espace intermembranaire**
- **Translocation de H<sup>+</sup> de la matrice vers l'espace intermembranaire**

Cette succession de transporteur d'e<sup>-</sup>, transporteurs d'hydrogène permet la translocation des H<sup>+</sup> → crée la force électrochimique → production d'énergie suffisante pour la synthèse d'ATP

Au terme du complexe I : on a réduit une ubiquinone qui une fois sous forme ubiquinol n'a plus d'affinité pour le complexe I → se dissocie → se déplace librement dans la bicouche lipidique → on la retrouve au niveau du complexe 3

### **⇒ COMPLEXE II : Succinate Ubiquinone Réductase = Succinate DH**

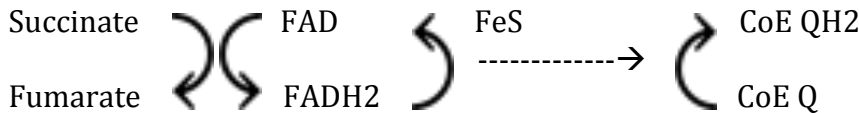
Il est composé de 3 enzymes :

- **Glycérol-P DH** qui exprime son site actif dans l'espace intermembranaire (*enzyme de la navette glycérol-P*)
- **Acyl-CoA DH**, enzyme de la bêta-oxydation
- **Succinyl-CoA DH**, enzyme du cycle de Krebs

**AUCUNE DE CES ENZYMES N'EST TRANSMEMBRANAIRE !**

→ Elles utilisent toutes le FAD comme coenzyme catalytique  
 Comme elles composent le complexe II de la CRM, systématiquement le FADH2 est réoxydé par **transfert direct** des éléments de la molécule d'hydrogène (H2) sur de l'ubiquinone, donnant de l'ubiquinol.

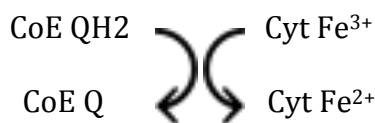
Ici, on n'a pas l'enchaînement transporteur d'e- / transporteur d'H+  
**→ PAS DE TRANSLOCATION DE PROTONS DE LA MATRICE VERS L'ESPACE INTERMEMBRANAIRE**



*Il a modifié par rapport au poly :*  
 Le donneur d'e- est le **FADH2** (au lieu du succinate) et l'accepteur de CoE Q

→ Complexe I et II aboutissent tous les deux à la réduction du CoE Q  
 Complexe I transmembranaire ≠ complexe II soluble dans la matrice  
 Le complexe I se différencie du complexe II par **la translocation de protons de la matrice vers l'espace intermembranaire**, qui n'a pas lieu dans le complexe II (*il n'y a pas l'alternance du transfert d'e- / transfert de H+*)  
 CoE Q se déplace au complexe III

**⇒ Complexe III : Ubiquinone - cytochrome c oxydoréductase**



Il possède lui aussi une structure multi-protéique ; c'est un complexe **transmembranaire**. Il se compose de :

- une protéine FeS
- centre cytochromes : **b** et **c1** (≠ cytochromes associés à une activité enzymatique mais impliqués dans des transferts d'e-)  
 = **coenzymes prosthétiques**
- cytochrome c associé au complexe III par des interactions non covalentes, sera en quelque sorte une coenzyme stœchiométrique (*sous forme oxydée : forte affinité pour le complexe III / forme réduite : très faible affinité pour le C III*)

### **Fonctionnement du complexe**

L'élément réducteur, donneur d'e- est l'ubiquinone réduite venant du complexe I et II. Les intermédiaires réactionnels qui permettent le transfert d'e- sont les cytochromes **b** et **c**. L'élément accepteur d'e- est le cyt c qui se dissocie du complexe III une fois réduit.

L'ubiquinone réduite (QH<sub>2</sub>) arrive au contact du complexe III → transfert de ces 2 e- à la protéine FeS (*partie intégrante du complexe III*) + **les 2 H<sup>+</sup> sont transloqués dans l'espace intermembranaire** → protéine FeS transfère ses e- aux **cyt c1** → cyt c1 se réoxyde en transférant ses e- au cyt c → cyt c ayant fixé un e- se dissocie du complexe III et rejoint le complexe IV

**OR** l'ubiquinol apporte 2 e- ; la cascade des cyt c1 et cyt c ne permet le transport que d'un seul e- → **mise en place d'un cycle futile** au niveau de la protéine FeS, l'ubiquinone réduite et des cyt = **cyt b** qui permet de gérer le 2<sup>e</sup> e-

Le 1<sup>er</sup> e- va sur c1 et le 2<sup>e</sup> attend sur cyt b que c1 est transféré son e- au cyt c. Ce cycle futile induit une forme instable du CoE Q enrichie en e- (***c'est une forme physiologique***) → cette forme instable est à la base de production des espèces réactives de l'oxygène, base du stress oxydant, neutralisées par la glutathion peroxydase entre autres.

**La CRM est la productrice essentielle de ces espèces réactives de l'oxygène au niveau du complexe III.** A concentration physio, ces espèces réactives sont des messagers pour la cellule. L'important est que ces espèces réactives peuvent être neutraliser à tout moment par les mécanismes de défense contre le stress oxydant mis en place par la cellule, particulièrement par une bonne production de NADPH (*3% e- qui transitent par la CRM vont s'échapper lors de ce cycle futile pour former ces espèces réactives*)

(*Stress oxydant largement responsables des complications liées au diabète*)

Le cytochrome c réduit n'a plus d'affinité pour le complexe III, se dissocie pour rejoindre le complexe multi protéique IV, se trouvant dans l'environnement proche du complexe III et qui lui a une grande affinité pour le cytochrome c réduit

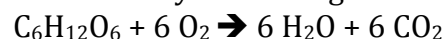
### **⇒ Complexe IV : cytochrome c oxydase**

Termine les étapes de la CRM

C'est un complexe encore non complètement décrit. Il est composé du cytochrome a et d'atomes de Cuivre Cu. Cet atome de Cu est un cation bivalent.

Le but du C IV est réduire l'oxygène moléculaire : les e- qui arrivent au complexe IV par le cytochrome c réduit vont réduire l'oxygène moléculaire pour produire de l'eau → On équilibre l'équation chimique de l'oxydation des substrats énergétiques

*Explication* : réaction d'oxydation du glucose



L'O<sub>2</sub> on le retrouve ici au niveau de ce complexe IV, le CO<sub>2</sub> est obtenu par la décarboxylation oxydative du pyruvate par PDH également au niveau du cycle de Krebs, et l'H<sub>2</sub>O est donc le produit de la réduction de l'oxygène moléculaire

→ **Production d'H<sub>2</sub>O au niveau du complexe IV**

La molécule d'oxygène fixe **4e-** or le cytochrome c n'en apporte qu'**un** → on nécessite un station de stockage d'e- ainsi, dès qu'on aura 4 e- on pourra réduire une molécule d'oxygène pour former H<sub>2</sub>O

→ Complexe IV doit gérer les e- mais aussi les stocker pour permettre la formation de la molécule d'H<sub>2</sub>O

Le stockage des e- se fait sur les atomes de Cu. Au cours de la réduction de la molécule d'oxygène, on a également **translocation de 4 H+ de la matrice mitochondriale à l'espace intermembranaire** (*le nb de H+ transloqués par le complexe IV n'est pas à retenir, il n'y a pas encore de consensus établi sur le nombre exact de H+ transloqués*)

→ Au terme du complexe IV, on a équilibré l'équation, mais il nous reste encore à gérer l'énergie → on se retrouve avec une mb int où tous les complexes ont fonctionnés avec création **d'un gradient de H+ fort à l'espace intermbR par rapport à la matrice mitochondriale**

On crée :

- un gradient chimique : [H+] intermbR > [H+] matrice
- un gradient électrique : accumulation de charge + dans l'espace intermembranaire (*chargé +*) aux dépends de la matrice (*chargée -*)

→ Ce **double gradient électrochimique** permet de générer une **force proton-motrice (ou électrochimique)**

La mobilisation de cette force est à 'origine de la libération de l'énergie nécessaire et suffisante à la synthèse d'ATP à partir de l'ADP

### **Les inhibiteurs de la CRM**

- la roténone : bloque le complexe I
- l'antimycine A : bloque le complexe III
- le cyanure et le CO: bloque le complexe IV, bloque la CRM conduit à la mort du sujet

Tout ce qui sera en amont de l'inhibiteur sera réduit, l'aval sera réoxydé

→ Antimycine A : CoE Q réduit, cyt b et protéines FeS du complexe III réduits, complexe I et II réduits. Par contre le complexe IV reste oxydé donc fonctionnel

Lorsqu'on bloque la CRM par un inhibiteur, on inhibe le gradient électrochimique et donc la synthèse d'ATP

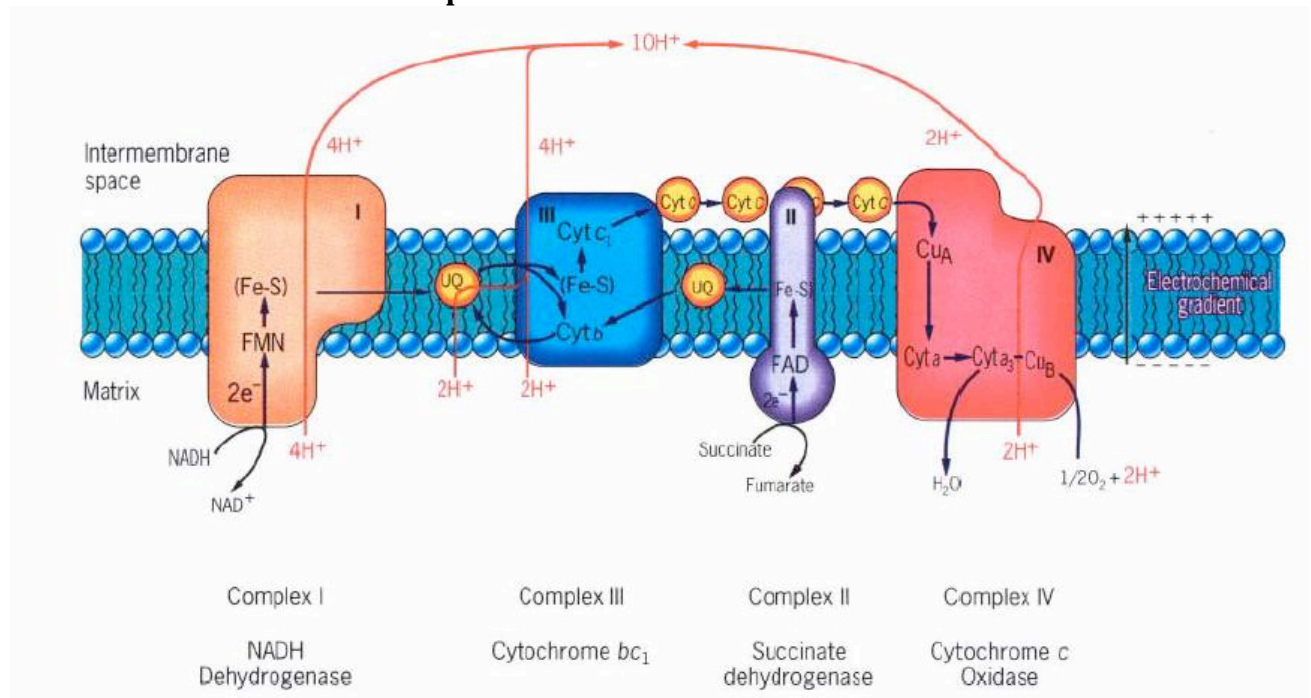
La translocation des H+ est possible grâce aux protéines des complexes qui sont transmembranaires et grâce à l'alternance des transfert e- et H+

→ **Les complexes I, III et IV permettent la translocation de protons = sites à haut potentiel énergétique**

Le complexe II ne répond pas aux conditions nécessaires à la translocation des H+ car il transfère directement les éléments réduits à l'ubiquinone via un complexe FeS ; on ne respecte pas l'alternance des transferts d'e- / transfert de protons, de plus ce complexe est soluble dans la matrice.

La force électrochimique créée va être utilisée par l'ATP synthase pour la synthèse d'ATP avec une diminution de pH dans l'espace intermembranaire due aux H+ et une augmentation de pH dans la matrice. La translocation est suffisamment forte entre la

matrice et l'espace membranaire lorsque la CRM fonctionne à haut débit, qu'elle permet la création d'une **différence de pH d'une unité** entre ces 2 milieux.



## ⇒ **ATP SYNTHASE**

C'est une enzyme constituée de 2 unités qui permet de neutraliser le gradient électrochimique dû à la translocation de H<sup>+</sup> de la matrice vers l'espace intermembranaire. En neutralisant ce gradient, cette enzyme permet de neutraliser la force :

- 1<sup>ère</sup> entité **F<sub>0</sub>** canal à protons, consacré à la diminution du gradient de H<sup>+</sup>
- 2<sup>e</sup> entité **F<sub>1</sub>** usine à synthèse d'ATP

Le transport des H<sup>+</sup> par F<sub>0</sub> se fait **uniquement dans le sens espace intermembranaire-matrice**. F<sub>0</sub> permet le retour des H<sup>+</sup> dans la matrice → on neutralise la force → on libère de l'énergie

Cette énergie est récupérée par F<sub>1</sub> pour permettre la fixation d'un Pi sur un ADP → génère de l'ATP

Cette équation relie la variation d'énergie libre à la différence de potentiel. Chaque translocation de H<sup>+</sup> est associée à une réaction redox à fort ΔG ce qui veut dire fort ΔE. Cette différence de potentiel est associée à cette variation d'énergie électrochimique et sera utilisée par l'ATP synthase pour permettre la synthèse d'ADP.

## BIOENERGETIQUE

Diagramme d'énergie en fonction du transfert d'e- selon les couples redox des ≠ complexes

- complexe I : ddp redox = + 0,42V (= forte ddp) entre le NADH donneur d'e- et l'ubiquinone récepteur d'e-
- complexe II : pas de variation de potentiel redox forte
- complexe III : ddp redox = + 0,18 V entre l'ubiquinol et le cytochrome c
- complexe IV : ddp redox = + 0,52 V entre cytochrome a et Cu et fixation des e- sur l'oxygène moléculaire pour générer de l'eau

Ces ddp correspondent à une valeur de :

- $\Delta G = -80$  kJ pour le complexe I
- $\Delta G = -34$  kJ pour le complexe III
- $\Delta G = -102$  kJ pour le complexe IV

Il faut de l'ordre de 30 kJ pour permettre la synthèse d'un ATP. Ainsi à ces 3 stades, on a des sauts énergétiques suffisamment importants pour générer la synthèse d'un ATP.

En partant d'un NADH et en arrivant à une molécule d'O<sub>2</sub> réduite, on a terminé la CRM et on a généré **3 ATP**

→ La réoxydation d'un **NADH** a la potentialité de générer **3 ATP** (car passe par 3 complexes permettant la translocation de H<sup>+</sup>)

→ La réoxydation d'un **FADH<sub>2</sub>** permet les hauts sauts énergétiques des complexes III et IV donc la production de **2 ATP**

Le complexe II n'a pas un potentiel redox suffisamment important pour générer un  $\Delta G$  suffisant à la synthèse d'un ATP

Comment ce retour de H<sup>+</sup> dans la matrice peut permettre la récupération de cette énergie et produire de l'ATP à partir de l'ADP ?

Tout est basé sur 2 éléments : l'ATP synthase et les principes de Mitchell.

### L'ATP synthase

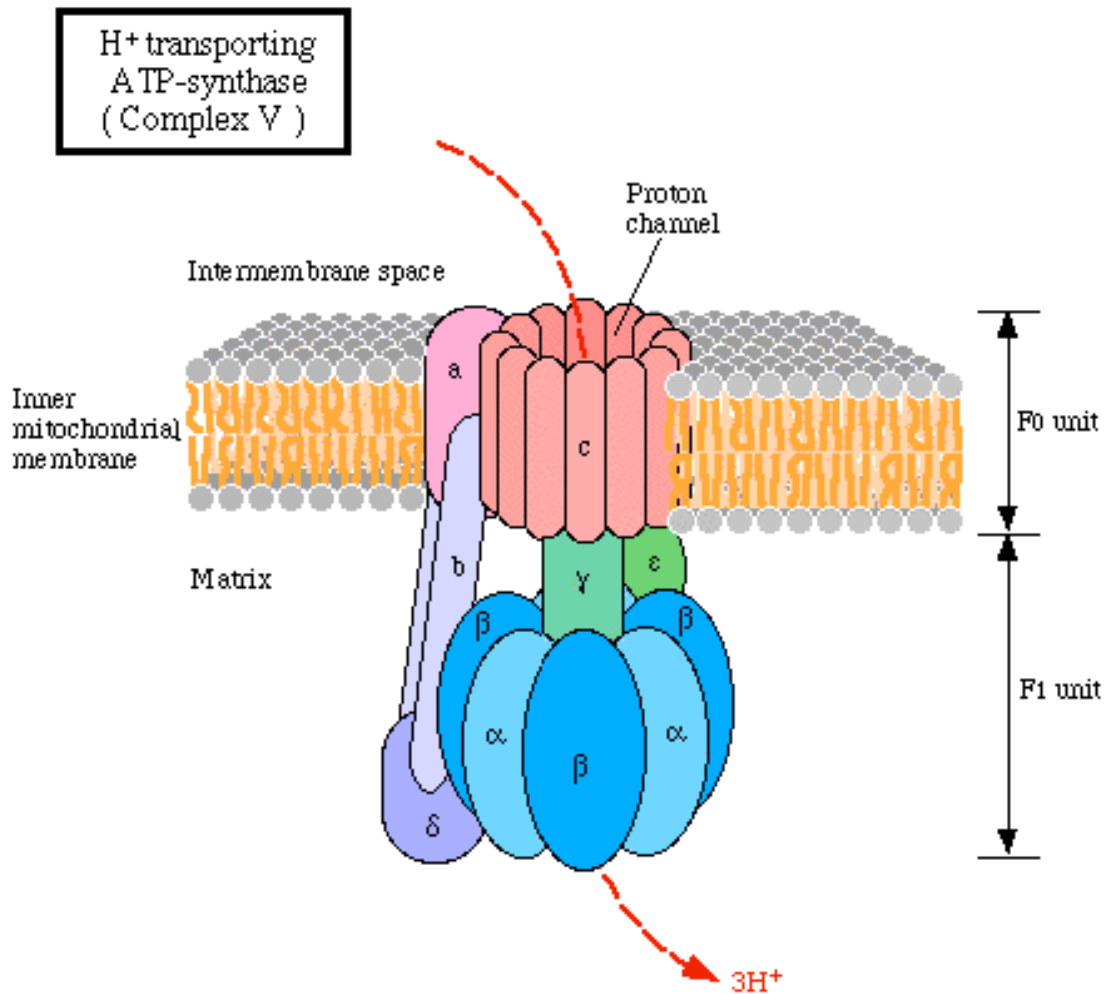
C'est une structure membranaire lorsque son activité consiste en la translocation de H<sup>+</sup>, sinon elle est dissociée de la membrane et soluble dans la matrice.

Elle est constituée de 2 domaines :

- domaine F<sub>0</sub>, **toujours** associé à la mb int et constitue le **canal H<sup>+</sup> de type symport**. Il permet la translocation d'H<sup>+</sup> de l'espace intermbR vers la matrice mitochondriale. Lorsque le transfert de H<sup>+</sup> s'effectue,
- domaine F<sub>1</sub> est associé à F<sub>0</sub> et participe au transfert de H<sup>+</sup>. Les H<sup>+</sup> traverse F<sub>0</sub> et une partie de F<sub>1</sub> avant de retourner à la matrice. C'est au contact de F<sub>1</sub> que l'énergie du gradient électrochimique est libérée, F<sub>1</sub> **récupère alors cette énergie pour permettre la synthèse d'ATP**

Lorsque F<sub>1</sub> et F<sub>0</sub> sont associés, l'activité ATP synthase est effectuée

F<sub>1</sub> dissociée de F<sub>0</sub> se trouve soluble dans la mitochondrie et possède une activité ATPasique (*on en parlera pas car c'est hors du contexte du cours / il faut juste savoir qu'elle peut être dissociée de F<sub>0</sub> et exprime alors une activité inverse à l'ATP synthase*)



03110 5/26/99

### **Les principes de Mitchell** expliquent la phosphorylation oxydative

L'oxydation des substrats NADH et FADH<sub>2</sub> par la CRM doit obligatoirement générer une translocation de H<sup>+</sup> et créer un gradient de H<sup>+</sup> où les H<sup>+</sup> de l'espace intermembranaire sont plus concentrés que dans la matrice. Cette force électrochimique, conséquence du gradient de H<sup>+</sup>, doit être récupérée uniquement par l'ATP synthase afin de récupérer l'énergie nécessaire à la synthèse d'ATP.

Pour cela 4 règles doivent être respectées :

- la mb int de la mitochondrie est imperméable aux H<sup>+</sup> à l'exception du complexe ATP synthase (*ancien complexe V*)

*Discutable puisque l'on a vu qu'il existait 2 symports qui lors de leur fonctionnement vont participer au retour des H<sup>+</sup> dans la matrice mitochondriale : symport Pi et symport pyruvate. De plus il existe des protéines découplantes et des protéines UCP qui vont neutraliser le gradient électrochimique ainsi l'énergie sera dispersée sous forme de chaleur*

Malgré tout, lorsque l'on est en déficit énergétique et qu'on a besoin que la CRM fonctionne, les protéines UCP sont non fonctionnelles et les H<sup>+</sup> entrant dans la matrice via le symport représentent une portion insignifiante par rapport à la [H<sup>+</sup>] de l'espace intermembranaire

- Il est important qu'il y ait une alternance entre les transporteurs d'hydrogène et les transporteurs d'e<sup>-</sup> pour permettre la translocation des H<sup>+</sup> (complexes I, III et IV qui sont transmembranaires)
- Lorsqu'un transporteur d'hydrogène est réoxydé (comme l'ubiquinone) par un transporteur d'e<sup>-</sup>, il y a une translocation de H<sup>+</sup> de la matrice vers l'espace intermembranaire
- Les H<sup>+</sup> pris en charge par la CRM ont pour origine unique le NADH et FADH<sub>2</sub> et les H<sup>+</sup> de la matrice mitochondriale

→ En respectant ces 4 définitions on crée un gradient chimique de part et d'autre de la mb int mitochondriale.

Un H<sup>+</sup> qui retourne dans la matrice génère environ 21 kJ, ceci grâce aux 3 sauts du ΔE. Pour synthétiser un ATP il faut en moyenne 46 kJ. Dès que 3 H<sup>+</sup> transloqués retournent dans la matrice par l'ATP synthase, ils libèrent une énergie suffisante à la synthèse d'un ATP. L'énergie supplémentaire est diffusée sous forme de chaleur.

### **Fonctionnement de l'ATP synthase**

Le domaine F1 est essentiellement constitué de 2 protéines : α et β. Le fonctionnement dépend de l'organisation en 6 quartiers d'orange alternés du domaine F1 : α-β, α-β, α-β. L'association α-β définit un sous-domaine de F1 → au sein de F1 on a 3 sous-domaines qui vont chacun exprimer une conformation ≠ → à tout moment on a 3 conformations exprimées.

- Conformation L : peut s'associer aux substrats de la réaction qui sont ADP et Pi  
Dès qu'elle fixe les substrats elle devient

- Conformation T : la réaction de condensation du Pi sur l'ADP peut se faire  
Au moins 3 H<sup>+</sup> auront transloqués → réaction de condensation + **synthèse d'ATP**

- Dès que l'ATP est formé il n'a plus d'affinité pour la conformation T → libère l'ATP → conformation T bascule en conformation O

Il faut comprendre que les 3 sous domaines basculent de proche en proche : ainsi lorsque la conformation T libère son ATP et bascule en conformation O, la conformation O adjacente bascule en L, la conformation L bascule en T. ce basculement se fait dans le sens des aiguilles d'une montre avec une **rotation de 120°**.

On fixe de l'ADP et le Pi, on forme un ATP, on libère l'ATP. Le gradient de H<sup>+</sup> qui passe dans F<sub>0</sub> permet de faire tourner le rotor F<sub>0</sub>, il fournit une énergie mécanique = fonctionnement de moteur rotatif

L'ADP vient se fixer en configuration L qui passe tout de suite en conformation T pour faire la réaction, on libère et on passe en conformation O et ainsi de suite de proche en proche : fixation des substrats (*configuration L*), réalise la réaction (*configuration T*), produit libéré (*configuration O*)

Voici une vidéo qui permet de bien comprendre le mécanisme de rotation, le passage des H<sup>+</sup> dans F<sub>0</sub> et l'alternance des conformations de F1 (enjoy ^^)

<http://www.youtube.com/watch?v=H7P4xOUPYVw>

La membrane interne des mitochondries est la membrane la plus spécialisée qui fonctionne dans des super structures où tous les intervenants sont associés. Ceci permet de définir des micro-domaines réactionnels

→ **ATP synthase est toujours très proche de la translocase ADP-ATP et du symport Pi** (import de Pi produit dans le cytosol suite à la réalisation d'un travail vers la matrice) Ce rapprochement dans l'espace de ces 2 entités transporteurs pallie au manque éventuel de substrats de l'ATP synthase → dès la présence du gradient électrochimique généré par H<sup>+</sup> et l'arrivée consécutive d'ADP et de Pi, l'ATP synthase fonctionnera.

**Cette organisation dans l'espace permet l'optimisation de la phosphorylation oxydative**

## REGULATION DE LA PHOSPHORYLATION OXYDATIVE

Il ne s'agit pas d'une régulation allostérique ni covalente. Trois entités sont impliquées :

- **Le rapport ADP/ATP** est le principal

Si ↗ : CRM est freinée, ATP synthase est ralentie par manque de gradient électrochimique, et la phosphorylation oxydative tourne au ralenti. De plus cette concentration importante d'ATP agit sur l'isocitrate DH → bloque du cycle de Krebs → Bloque la production de NADH

- **NADH**

Cycle de Krebs fonctionne à plein régime : on a une grosse production de NADH → translocation de H<sup>+</sup> importante au travers de la membrane int → ATP synthase fonctionne ++

Mais pour que l'ATP synthase fonctionne de façon forte, ses substrats sont nécessaires : ADP + Pi. Donc si la CRM fonctionne à haut régime en réponse au cycle de Krebs et que les substrats de l'ATP synthase ne sont pas en quantité suffisante (signifie qu'il y a une faible concentration en ADP et une concentration forte d'ATP), il va y avoir activation des protéines découplantes → neutralisent le gradient électrochimique généré. L'énergie libérée par les protéines découplantes est **obligatoirement** dispersée sous forme de chaleur.

- **O<sub>2</sub>**

Ce n'est pas un élément de régulation de la phosphorylation oxydative mais un élément de fonctionnement de la mitochondrie. L'**AÉROBIE** est nécessaire au fonctionnement de la mitochondrie

## Inhibiteurs du fonctionnement de l'ATP synthase

- Oligomycine : bloque le flux de protons allant de l'espace intermembranaire à la matrice mitochondriale en passant par F<sub>0</sub> en se fixant sur F<sub>0</sub> de l'ATP synthase. C'est un **inhibiteur de l'ATP synthase**
- Atractuloside : cet inhibiteur est totalement indépendant de la CRM et de l'ATP synthase : c'est un **inhibiteur de la translocase ADP/ATP** → empêche l'ATP d'intégrer la matrice → bloque la phosphorylation oxydative par un déficit en substrats ADP
- 2,4 dinitrophénol : il fait des « trous » dans la matrice mitochondriales. Il joue le rôle des protéines UCP en réalisant un découplage. La CRM continue de fonctionner mais l'ATP synthase est inhibée par déficit du gradient électrochimique. La CRM continue de fonctionner puisque rien ne vient perturber l'un des 4 complexes : on a un apport d'O<sub>2</sub> et d'éléments réduits → CRM transloque les H<sup>+</sup> dans l'espace intermembranaire. Mais le 2,4-dinitrophénol permet aux H<sup>+</sup> de retourner dans la matrice sans passer par l'ATP synthase. Le 2,4-dinitrophénol est un **agent découplant**

**On parle de découplage puisque la CRM continue de fonctionner normalement et l'ATP synthase se trouve inactivée grâce à ces découpleurs.**

## REPRISE DES BILANTS ENERGETIQUES

Ces bilans énergétiques sont donnés à titre indicatif pour rendre compte de l'intérêt d'un métabolisme aérobie par rapport à l'anaérobie. Il ne vous demandera pas de ressortir ces bilans, il trouve ça « *complètement débile* »

A peu près toutes les réactions tournent autour d'un rendement de 1/3. La bioénergétique et l'enzymologie vous permettent d'expliquer pourquoi des réactions impossible in vitro se réalisent tous les jours dans nos cellules.

On a compris aujourd'hui que la cellule a choisi d'utiliser des découplages réactionnels : elle a découpé une réaction globale en plein de petites réactions qu'on a appelé **voie métabolique**. A chacune de ces réactions sont associés un  $\Delta G$  et une énergie d'activation. Ce découplage rend possible la réaction globale au sein de la cellule : autant la réaction es découplée, autant le  $\Delta G$  et l'énergie d'activation sont découplés. Cependant en découplant les réactions on augmente la perte d'énergie sous forme de chaleur, puisque celle-ci est associée à chaque réaction. Plus on découple, plus on perd l'énergie potentielle de départ associée à la molécule réactionnel initiale

## I. GLYCOLYSE ANAEROBIE

Le bilan net est de 2 ATP. Le rendement de la réaction de transformation d'un glucose en 2 lactates est de 31%.

2 inconvénients : peu d'énergie libérée (*que 2 ATP nets*) + production de lactate qui acidifie le milieu de la cellule (toxique pour le fonctionnement cellulaire)

## II. GLYCOLYSE AEROBIE

- La 1<sup>ère</sup> partie de la glycolyse permet la production de 2 ATP
- Pyruvate DH on génère un NADH
- Cycle de Krebs : gain de 11 ATP par les éléments réduits +1 ATP équivalent GTP

Le bilan énergétique de la glycolyse aérobie est significatif : 40 ATP

Si on part d'une molécule de glucose : 40 ATP - 1 ATP de la transformation du glucose en G6P - 1 ATP de transformation du F6P en F1,6diP

→ **gain net de 38 ATP à partir d'une molécule de glucose**

→ Bon rendement énergétique de 40%, un peu meilleur mais pas tant que ça ; on a quand même 38 ATP

Pour un sportif tel que le cycliste qui réalise un travail intense et continu → favorise une activité mitochondriale élevée. On comprend donc le dopage à l'EPO (érythropoïétine) qui augmente le transport de l'O<sub>2</sub> en augmentant le nombre de globules rouges et donc on augmente l'hémoglobine. Ainsi ils maintiennent pendant plus longtemps un effort AEROBIE → génère 38 ATP au lieu de 2 ATP produits en glycolyse anaérobie (*avec son risque de crampes si le milieu est trop acidifié par le lactate*)

## III. CATABOLISME DES ACIDES GRAS : la BETA-OXYDATION

On part d'un AG classique : le palmitate (16C)

La dégradation d'un palmitate génère **129 ATP**. Une molécule de palmitate est plus énergétique qu'une molécule de glucose (129 ATP ⇔ 38 ATP). Mais si on rapporte le nombre d'ATP générés par atomes de carbone, on obtient le même rendement → le rendement du catabolisme des AG est similaire à celui du glucose si on rapporte au nombre de carbone de la molécule.

**NB : Il faut différencier le nombre de liaisons phospho-anhydres générées et le nombre de molécule d'ATP formées.**

→ **Exemple de QCM** sur les bilans énergétiques dans le catabolisme d'un AG : il donnera la formule de l'AG (nomenclature) : quel est le nombre de liaison phosphoanhydre produites = nb d'ATP formé - 2  
Si le nb d'ATP = nb ATP formé - 1

Pour le palmitate : Bilan net en ATP = 129 - 1

Bilan net en liaison phosphoanhydres = 129 - 2

**(ÇA RISQUE DE TOMBER + + + + +)**

Il n'y a pas de préférence métabolique, c'est à dire un substrat plus énergétique qu'un autre. **Ce qui conditionne le choix du substrat est l'environnement** : dépendant de l'environnement de la dernière prise alimentaire.

En phase post-absorptive, on évolue favorablement vers un substrats AG car :

- Lipolyse active par déficit d'insuline → AG disponible
- Glucose non disponible car on tend vers l'hypoglycémie

En phase post-prandiale, on est en hyperglycémie post-prandiale donc la sécrétion d'insuline :

- bloque la lipase hormono-sensible → pas de lipolyse
- favorise l'expression de GLUT4 à la membrane des cellules insulino-dépendantes

Le déficit de la lipolyse + excédant de glucose + cellules insulino-dépendantes ont leur nombre de transporteurs de glucose  $\times 100$  → glucose est le substrat énergétique favorisé

Pour la cellule cardiaque, les substrats possibles sont les AG, le glucose et le lactate. Lorsqu'on fait le rapport quantité d'énergie produite / atome de carbone et quand on regarde la quantité d'O<sub>2</sub> consommé / molécule dégradée, on s'aperçoit que tout est inversé. Le plus intéressant pour la cellule est de rester le plus longtemps dans une configuration d'apport en O<sub>2</sub> normal. Quand le travail s'étend sur la durée, on commence à s'essouffler, on arrive plus à apporter suffisamment d'O<sub>2</sub>. Donc l'O<sub>2</sub> est également une donnée importante de l'environnement concernant le choix du substrat énergétique. Le palmitate pour être oxydé nécessite la consommation de 23 molécules d'oxygène → pas le bon substrat. Une molécule de glucose pour être oxydé utilise 18 molécules d'oxygène. Ainsi quand on pratique un travail dur où les cellules musculaires produisent de l'acide lactique déversé dans la circulation générale, le cardiomyocyte qui lui est doté des outils enzymatiques métaboliser le lactate, va préférer le lactate comme substrat énergétique plutôt que le glucose ou les AG. Ici le **lactate représente** le meilleur rapport ATP produits / atome de Carbone et surtout **le meilleur rapport ATP produits / molécule d'O<sub>2</sub> consommés**.

Par contre les AG sont le substrat énergétique parfait en phase de récupération afin de reformer les réserves de la cellule jusqu'à ce qu'elle revienne à son état basal. L'AG permet une production d'énergie directe sans phase de transformation cytosolique comme la glycolyse.

**Les rendements énergétique sont pratiquement les mêmes mais le choix énergétique dépend de l'environnement par rapport à la dernière prise alimentaire et à la concentration d'O<sub>2</sub>**