

# ATP SYNTHASE

On se retrouve ici à la suite de la CRM, ne vous inquiétez pas ce cours n'est pas très long mais tombe régulièrement à l'examen donc +++

## Rappel :

Dans la CRM, le transfert d'e<sup>-</sup> à partir de coenzymes réduits se fait par étapes successives à travers 4 complexes. Ces complexes permettent le transfert d'e<sup>-</sup> vers des accepteurs (coenzyme Q, cytochrome C, oxygène). Les complexes 1, 3 et 4 génèrent assez d'énergie pour transférer des protons dans l'EIM

**L'accumulation de ces protons va générer un gradient de protons** ayant deux conséquences :

- Modification du pH (EIM + acide) : **gradient chimique** entre EIM et matrice
- Modification de potentiel électrique : **gradient électrique** entre EIM (accumulation de charges positives) et matrice

**Il y a création d'une force proton motrice exploitée par l'ATP synthase pour produire de l'ATP à partir de l'ADP et du Pi**

## 1. Le circuit de protons

Les protons se retrouvant dans l'EIM après les complexes 1, 3 et 4 génèrent **un gradient électro-chimique exploité par l'ATP synthase +++**

Comment ?

Les protons ne peuvent pas regagner la matrice par simple diffusion. Ils vont devoir passer à travers un complexe enzymatique : **l'ATP synthase**

### Couplage oxydation / phosphorylation

**Théorie de Mitchell - Théorie chimiosmotique (1961)**



- organisation vectorielle du transport d'électrons et de l'ATPase
- compartiments fermés

**L'événement primaire conservant l'énergie est le mouvement des protons à travers la membrane**

La théorie chimio-osmotique de Mitchell (le poto en haut à droite) permet d'expliquer comment l'énergie libre générée par le transport d'e<sup>-</sup> à travers la CRM est utilisée pour produire de l'ATP à partir d'ADP et de Phosphate inorganique

Le transport d'e<sup>-</sup> est couplé à la phosphorylation de l'ADP par le passage de protons à travers la MIM (**qui leur est imperméable**)

L'énergie générée par le gradient sert à coupler l'oxydation et la phosphorylation donc la synthèse d'ATP

## THÉORIE CHIMIOSMOTIQUE DE MITCHELL

L'oxydation des substrats hydrogénés ( $\text{NADH} + \text{H}^+$  et  $\text{FADH}_2$ ) par la chaîne mitochondriale génère des  $\text{H}^+$  transloqués dans l'espace intermembranaire

$\Delta E$  électro-chimique qui en résulte est utilisé pour faire fonctionner l'**ATP Synthase** responsable de la synthèse d'ATP



**L'hypothèse postule que :**

- La membrane mitochondriale interne est **imperméable aux  $\text{H}^+$**  sauf au niveau du complexe V (ATP synthase)
- Il existe, au niveau de la membrane interne **une alternance entre les transporteurs d'hydrogène et les transporteurs d'électrons**
- Quand un transporteur d' $\text{H}_2$  est oxydé par un transporteur d'électrons, les  **$\text{H}^+$  sont rejetés dans l'espace intermembranaire**
- Les  $\text{H}_2$  pris en charge par la chaîne respiratoire **proviennent de donneurs d'hydrogène** ( $\text{NADH} + \text{H}^+$  et  $\text{FADH}_2$ ) et de protons de la matrice

*La prof vous récapitule tout ça sur 2 diapos qu'elle LIT donc c'est +++ à ne surtout pas délaissier*

### Fonctionnement de la chaîne respiratoire génère :

- Un gradient de pH entre l'espace intermembranaire et la matrice mitochondriale avec un **pH supérieur (+ basique) dans la matrice**
  - Un gradient électrique de part et d'autre de la MIM → (accumulation charges  $\oplus$  dans l'espace intermembranaire) → gradient électrochimique qui dépend :
    - **de la différence de potentiel électrique**
    - **de la différence de pH**
- de part et d'autre de la membrane interne de la mitochondrie

L'énergie liée à ces gradients est suffisante pour permettre la synthèse d'ATP  
En effet

- Energie de transfert d'un proton :  $\sim 21,5 \text{ KJ}$
- Energie nécessaire pour synthétiser un ATP =  $46 \text{ KJ}$

**Il suffit que 3  $\text{H}^+$  retournent vers la matrice mitochondriale en traversant l'ATP Synthase pour permettre la synthèse d'un ATP**

MIM : membrane interne de la mitochondrie

## 2. Production d'ATP par l'ATP synthase (cette partie est vraiment +++)

Lorsqu'un  **$\text{NADH} + \text{H}^+$**  est réoxydé au niveau de la CRM : **transfert de  $10\text{H}^+$  dans l'EIM +++**

Lorsqu'un  **$\text{FADH}_2$**  est réoxydé au niveau de la CRM : **transfert de  $6\text{H}^+$  dans l'EIM +++**

Puisque le passage de  $3\text{H}^+$  de l'EIM vers la matrice permet la synthèse d'ATP :

- **1  $\text{NADH} + \text{H}^+$  réoxydé = 3 ATP synthétisés+++**
- **1  $\text{FADH}_2$  réoxydé = 2 ATP synthétisés**

L'ATP synthase est **l'enzyme responsable de la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de Pi** en exploitant le gradient électro-chimique

Le complexe de l'ATP synthase est constitué **de 2 domaines** :

- **Domaine FO** → **totalemment transmembranaire**
- **Domaine F1** → **totalemment extra-membranaire**, associé à FO et baigne dans la matrice mitochondriale

**FO est un canal à protons**, à travers duquel les protons reviennent de l'EIM dans la matrice mitochondriale

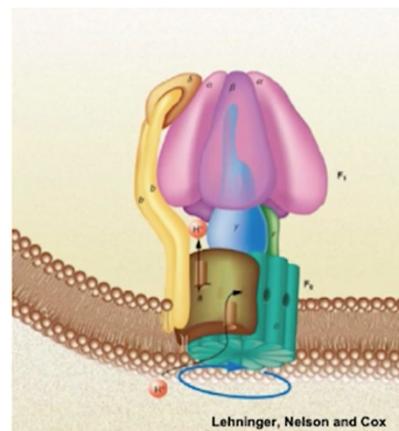
**F1 porte l'activité catalytique** qui permet :

- Si **F1** associé à FO : **synthèse de l'ATP**
- Si **F1** dissociée de FO (donc soluble dans la matrice) : **activité ATPasique** (hydrolyse de l'ATP donc l'inverse de la synthèse)

**Fo** → canal qui va aller pomper les protons de l'espace inter membranaire vers la matrice mitochondriale

Fo fonctionne en sens inverse des complexes de la chaîne respiratoire

**F1** → 2 types de protéines  $\alpha$  et  $\beta$  associées entre elles dans une structure en orange. Ces protéines vont travailler ensemble sous forme de complexe  $\alpha - \beta$



**Les protons en passant au travers de Fo vont fournir l'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP**

*Je préfère le préciser mais +++ encore le diapo*

Les protons, en passant de l'EIM à la matrice dans le canal, le font tourner. Cette rotation va faire tourner la tige centrale de F1, provoquant ainsi des changements de conformation des 3 sous-unités catalytiques formant F1

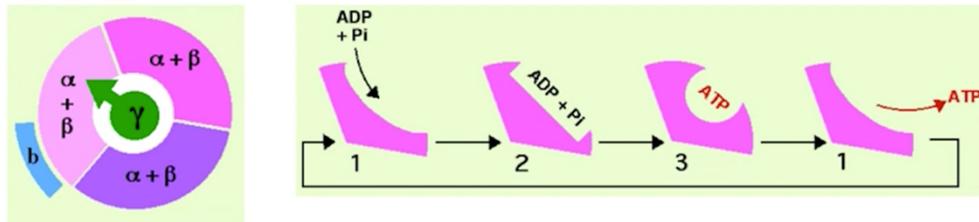
La sous-unité F1 de l'ATP Synthase, responsable de la synthèse et de la libération de l'ATP, est constituée de ss-unités alpha et beta qui s'organisent en quartiers d'orange, et d'une tige centrale gamma, qui va tourner à la suite de la rotation imposée par le passage des protons à travers Fo. Les mouvements de la tige centrale gamma entraînent **des changements de conformation successifs sur les ss-unités alpha et beta**

[https://www.youtube.com/watch?v=b\\_cp8MsnZFA](https://www.youtube.com/watch?v=b_cp8MsnZFA)

Petit lien si vous voulez voir à quoi ça ressemble l'ATP synthase qui tourne pour mieux visualiser (mettez-vous à 01 :25 pour voir l'ATP synthase)

Différentes conformations des sous-unités alpha beta :

## Fonctionnement de l'ATP Synthase



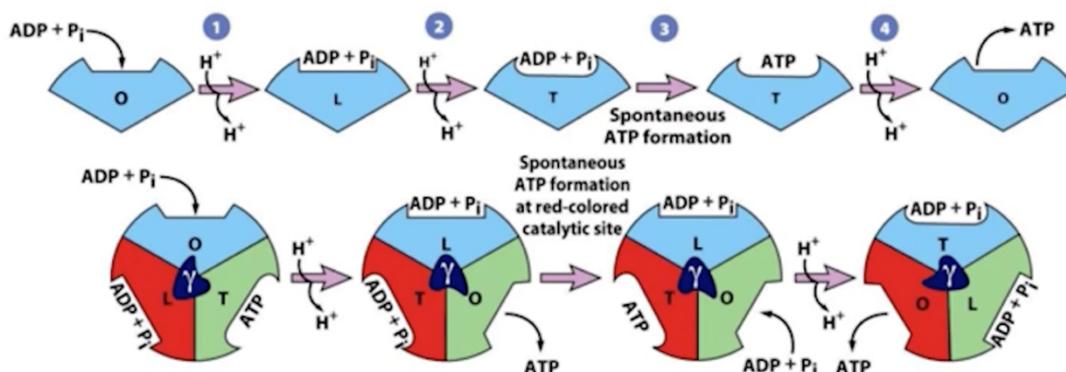
1. Conformation « O »: Ouvert (open)
2. Conformation « L »: Relâché (loose); fixe ADP et Pi
3. Conformation « T »: Haute affinité (tight) pour l'ATP

Ces conformations **vont se succéder** en fonction de la phase de production de l'ATP

Dans la **conformation O**, l'ADP et le phosphate qui rentrent dans la mitochondrie **vont se fixer** au niveau de la sous-unité alpha-bêta -> cela entraîne un **changement de conformation en L**

Il y a ensuite **synthèse d'ATP** et ainsi **modification de conformation en T** ayant une **haute affinité pour l'ATP**

In fine, **l'ATP est relâchée** et la ss-unité **retrouve** sa **conformation O** pour **redémarrer un nouveau cycle**

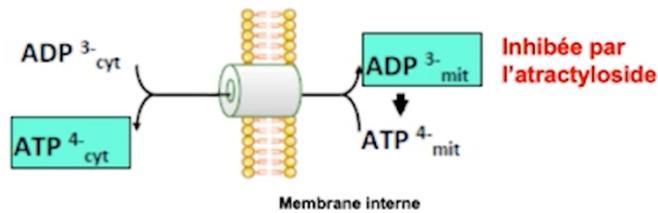


On voit ici que la tige GAMMA (au centre) entraîne cette rotation et donc un changement successif de conformation pour que les trois sous unités alpha beta fonctionnent ensemble +++

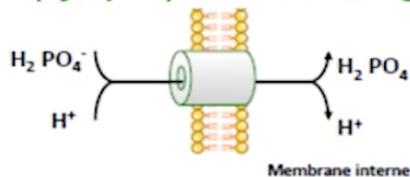
### 3. Transport de l'ADP et du Pi

**L'ADP ne diffuse pas à travers la MIM.** Il a donc besoin d'un système de transport actif pour être amené du cytosol vers la matrice mitochondriale +++

**ATP translocase (antiport): échange d'un ADP avec un ATP**



**Pi: phosphate translocase (symport): utilisation du gradient de protons**

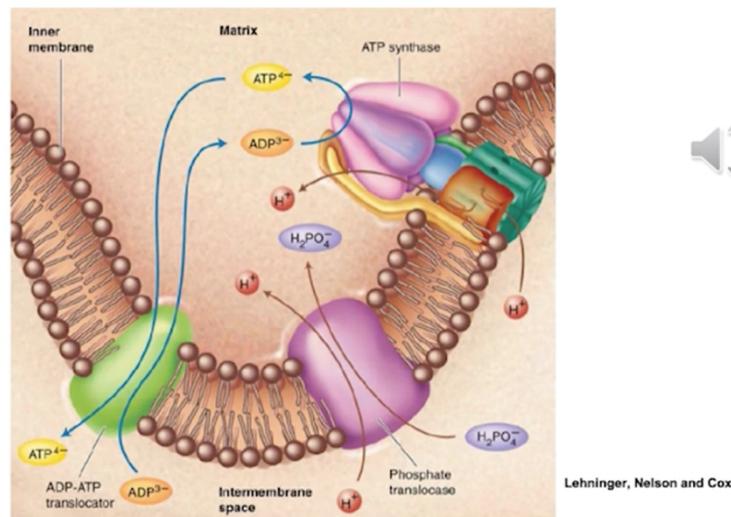


**ATP Translocase (antiport)** : échange un ADP (vers la matrice) avec un ATP (vers le cytosol). L'ATP pourra ainsi être utilisé par la cellule. Ce transporteur est **inhibé par l'atractyloside**

**Phosphate Translocase (symport)** : transporte vers la matrice un phosphate et un proton

Schéma récap des transporteurs :

### Transport de l'ATP : l'ADP / ATP translocase



*Ici, les différents transporteurs sont à proximité les uns des autres dans la MIM. Ainsi les différents éléments nécessaires à la synthèse d'ATP par l'ATP synthase lui sont disponibles*

## 4. Régulation de la Phosphorylation Oxydative

Synthèse ATP → système à « flux tendu » / synthèse ATP en fonction des besoins de la cellule

Pour fonctionner besoin

- De l'apport en NADH
- De l'apport en oxygène
- De l'apport en ADP et Pi

### Au repos:

Le rapport  $\frac{[ATP]}{[ADP][Pi]}$  est élevé

Forte [ATP]  
faible [ADP] et [Pi]

→ la phosphorylation oxydative tourne au ralenti

### Lors d'un effort :

Le rapport  $\frac{[ATP]}{[ADP][Pi]}$  diminue

[ATP] chute à cause de  
la consommation

→ la vitesse de la phosphorylation oxydative s'accélère

## Inhibiteurs des transporteurs d'électrons

Lorsque la chaîne mitochondriale est bloquée par action d'un inhibiteur, les transporteurs situés en amont du point de blocage sont tous sous forme réduite, ceux situés en aval du point de blocage sont sous forme oxydée

ROTONONE	Bloque le transfert d'électrons entre FeS et CoE Q
ANTIMYCINE A	Bloque le transfert d'électrons entre Cyt b et Cyt c
CYANURE et CO	Inhibent la cytochrome oxydase (complexe IV)

### Inhibiteurs ATP synthase et ATP translocase

OLIGOMYCINE	Bloque le flux des protons au niveau de la sous unité Fo
ATRACTYLOSIDE	En se fixant sur le transporteur, coté face externe, inhibe la liaison de l'ADP

### Découpleurs

2,4 dinitrophénol	Transporte les H <sup>+</sup> du milieu où le pH est le plus bas vers le milieu où le pH est le plus élevé : Il crée un « trou » par où les H <sup>+</sup> retournent dans la matrice
-------------------	---

## 5. Relation entre respiration, synthèse d'ATP et thermogénèse :

On a vu que la force proton motrice créée par le gradient électro-chimique lors de la CRM est **exploité par l'ATP synthase pour synthétiser l'ATP**

Il y a des situations où les protons peuvent revenir dans la matrice **SANS** qu'il y ait génération d'ATP, **mais génération de chaleur**, pour le maintien de la thermogénèse

Dans la MIM, il existe une multitude de transporteurs, assurant l'entrée et la sortie de substrats essentiels au métabolisme énergétique et oxydatif de la mitochondrie.

Parmi ces transporteurs, **les protéines découplantes (Uncoupling Proteins UCPs)** ont des fonctions assez singulières

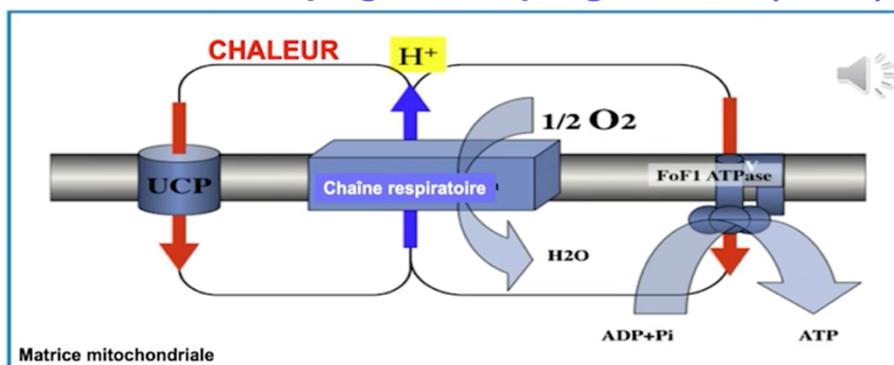
Les UCPs notamment **UCP1**, en facilitant le retour de protons dans la matrice, **découple le fonctionnement de la CRM de la synthèse d'ATP +++**

L'énergie issue de l'oxydation des substrats n'est plus convertie sous forme d'ATP mais **sous forme de chaleur +++**

Dans la mitochondrie des adipocytes bruns (vous reverrez ça bien au S2 en histologie), la respiration est très rapide et non limitée par l'ADP ou sa phosphorylation

Un transporteur spécifique des protons, **UCP1, shunte l'ATP Synthase**. UCP1 abaisse donc le potentiel membranaire et le gradient électrochimique des protons, active fortement la respiration, dont l'énergie libérée est **dissipée sous forme de chaleur +++**

### Protéines de découplage Uncoupling Proteins (UCPs)

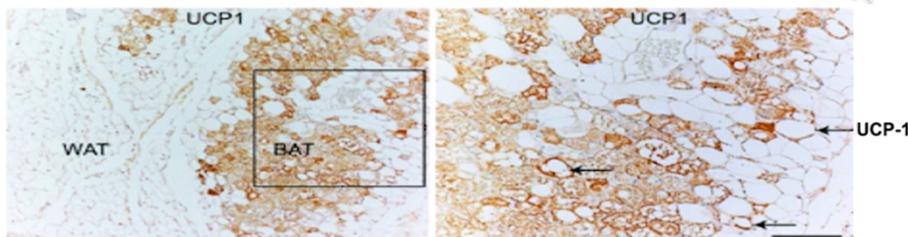


- Production de chaleur résultante d'un découplage physiologique entre le flux de retour des H<sup>+</sup> dans la matrice et la synthèse d'ATP
- Sous l'action de protéines de transport des H<sup>+</sup> non couplées à l'ATP synthase
- Dissipation de l'énergie du gradient de H<sup>+</sup> sous forme de chaleur

Le tissu adipeux brun est un tissu impliqué dans la thermogénèse de l'organisme. Il est très riche en mitochondries, elles-mêmes très riches en UCP1

### Détection de l'expression d'UCP1 dans le tissu adipeux par immuno-histochimie

Le tissu adipeux brun est riche en mitochondries, elles mêmes riches en UCP-1



De C. Zingaretti, *Faseb Journal* 2009

WAT : white adipose tissue – tissu adipeux blanc  
BAT : brown adipose tissue – **tissu adipeux brun**

*Cette partie est +++ la prof aime bien en parler dans ses QCM*

Conclusion :

Le complexe de l'**ATP Synthase** est constitué de **2 domaines** :

- Le **domaine F0** : totalement transmembranaire, canal à protons qui permet le retour des protons de l'EIM vers la matrice. Inhibé par l'oligomycine
- Le **domaine F1** : totalement extra-membranaire, baignant dans la matrice, associé à F0, il porte l'activité catalytique et permet la synthèse de l'ATP

**La synthèse de l'ATP est un système à flux tendu : il se fait en fonction des besoins de la cellule +++**

*Pas le temps de faire de dédi j'en ferais une proche fois (une petite dédi a la buv quand même vu que je suis en train de terminer la fiche dessus et à la maquette que j'ai pu construire petit à petit pendant la P1)*

