

## LA MITOCHONDRIE

Une mitochondrie est un organe qui fabrique l'énergie. Il existe donc un système de stockage en vue d'une distribution ultérieure. L'énergie est sous la forme d'ATP (adénosine triphosphate). Les plantes vertes sont les seules capables d'utiliser l'énergie solaire pour former des composés riches en énergie (= amidon). L'homme va oxyder ces composés réducteurs entraînant une libération d'une grande quantité d'énergie:



Ces deux réactions constituent la respiration cellulaire grâce à l'oxygène au sein des mitochondries.

Rq: Les cellules procaryotes sont dépourvues de mitochondries.

Le chondriome est l'ensemble des mitochondries d'une même cellule.

Les mitochondries renferment des molécules d'ADN (mise en évidence par la technique de coloration de Faulgen) codant pour leur propre génome et permettant ainsi leur reproduction. L'on suppose que les mitochondries sont des bactéries primitives qui auraient été phagocytées par une cellule animale ancestrale mais ayant survécues par symbiose.

C'est fin XIXe que l'on découvre les mitochondries, après avoir découvert en 1870 les phénomènes respiratoires au sein des cellules. C'est au XXe que l'on découvre que la mitochondrie est à l'origine de ces phénomènes respiratoires. Pendant la période de guerre, le développement de la centrifugation différentielle permet à Claude d'étudier une fraction de mitochondrie, et le développement de la microscopie électronique permet à Palade de définir l'ultra structure des mitochondries.

La réaction de Faulgen qui est une technique de coloration, rend visible l'ADN dans la mitochondrie.

En 1961, l'on découvre les particules élémentaires sur la membrane interne de la mitochondrie. Celle-ci sont à l'origine des phénomènes respiratoires.

En 1975, l'on représente les chaînes enzymatiques.

En 1997, l'on découvre la structure moléculaire et le fonctionnement des particules élémentaires dès lors appelées ATP synthase.

### 1. Structure, organisation des mitochondries.

#### A. Morphologie en microscopie optique.

(a): Sur cellules vivantes:

L'on se sert de la microscopie à contraste de phase, de la microcinématique et de l'immunofluorescence. Tout ceci permis de découvrir que les mitochondries se déplacent selon les courants cytoplasmiques. Mais elles peuvent aussi se

déplacer de façon indépendante et changer de taille (= organe plastique), ainsi que se diviser.

(b): Sur cellules mortes:

Hématoxyline ferrique (CRM dans mitochondrie provoque un dépôt de fer).

Diamètre allant de 0,5 à 1<sup>µ</sup>m mais pouvant aller jusqu'à 7<sup>µ</sup>m.

Forme de bâtonnet ou de grain, d'où leur nom puisque "mitos"= bâtonnet et "chondrie"= grain.

Nombre variable suivant la fonction du type cellulaire et son activité. Les cellules du foie, hépatique contiennent entre 1500 et 2000 mitochondries <<< Les cellules du myocarde en contiennent quant à elles des milliers (3 x + que dans hépatocyte donc 3x1700).

Répartition homogène dans toute la cellule comme pour les hépatocyte, ou hétérogène s'accumulant ainsi autour d'autres organites formant ainsi des couples fonctionnels. C'est le cas pour les cellules acineuses pancréatiques (suc gastrique):

Schéma 1

ou pour les cellules cardiaques:

Schéma 2

Les mitochondries sont coincées entre les faisceaux de myofibrilles et forment un couple fonctionnel avec le cytosquelette dans les fibres musculaires. Dans le cas des spermatozoïdes, les mitochondries sont enroulées en spirale autour du cytosquelette.

Dans les cellules intestinales, au pôle basal, les mitochondries sont situées entre les pieds cytoplasmiques.

Il existe aussi des couples fonctionnels avec la membrane plasmique comme chez les tubes contournés proximaux (TCP), situés au niveau du rein et récupérant l'urine primitive:

Schéma 3

B. Morphologie au microscope électronique.

Mitochondrie: ultra structure:

Schéma 4

(1): L'espace intermembranaire est comparable au cytosol, pas de différenciation particulière.

(2): D'une épaisseur de 60 Å, la membrane interne envoie des expansions qui forment des replis vers l'intérieur de la matrice sous la forme de lamelles ou de tubes.

(3): Ce dispositif de crêtes mitochondriales multiplie la surface interne par 3. Le nombre de crêtes dépend de l'action cellulaire et de la quantité d'ATP qui doit être produite. Elles sont parallèles (ex: hépatocyte) ou perpendiculaires (ex: cellule cardiaque) à l'axe de l'allongement:

Schéma 5

Les mitochondries à crêtes tubulaires sont présentes dans les cellules (cortex surrénalien ou gonades,...) qui sécrètent des hormones de nature stéroïde.

Schéma 6

C'est la présence des particules élémentaires sur la membrane interne qui détermine la formation de crêtes mitochondriales. En effet, s'il n'y a pas de particules élémentaires sur la membrane interne, il n'y a pas de crêtes mitochondriales.

(4): La matrice a un aspect finement granulaire dans lequel on va pouvoir observer des inclusions telles que:

-les granulations denses qui ne sont autres que des accumulations de cations ou de fer (300 à 500 Å).

-les filaments circulaires d'ADN (20 à 30 Å) présents en un certain nombre d'exemplaire constituant ainsi le génome mitochondrial. Avec une enzyme DNASE, on peut mettre en évidence l'ADN car celle ci disparaît. Le génome mitochondrial est souvent fixé sur la face interne des crêtes mitochondriales). Coloration négative avec l'acide phosphotungstique de l'ATP synthase qui est implanté dans la membrane interne.

-les granulations (150 à 250 Å) parfois fixées sur la membrane interne. Ce sont des granulations d'ARN (= mitoribosomes). Mises en évidence avec la RNASE.

C. Étude des membranes et techniques spéciales.

On a pu l'isoler et l'étudier par coloration négative à l'aide de phosphotungstique, colorant le fond de la plage observée en sombre et l'objet en négatif c'est à dire en clair.

Cette méthode aura valu un prix nobel en 1961.

Techniques d'ultracentrifugations différentielles: Passage de faible à forte osmolarité pour isoler successivement les constituants de la chambre externe puis une fraction de la membrane externe puis l'on sépare la membrane interne de la matrice.

Schéma 7

Les éléments chimiques constitutifs de la mitochondrie.

1. Composition de la fraction globale.

66% d'eau, 22% de protéines (de structure ou enzyme), 11% de lipides (phospholipides, cholestérol, acides gras), acides nucléiques (ADN, ARNm, t et r), nucléotides (ATP (NAD) et ADP (FAD)), cations ( $Fe^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ ), pigments respiratoire (cytochromes), porines ou aquaporines.

Schéma 8

1/ Membrane externe.

Protéines/ Lipides= 2.

2/ Espace intermembranaire.

H<sup>+</sup>, cytochrome c, procaspases (protéines deviennent colorées une fois dans le cytosol).

3/ Membrane interne.

Elle est multipliée par 3 grâce aux crêtes.

Protéines/ Lipides= 4.

Les perméases assurent les transferts actifs.

Complexes enzymatiques.

ATP synthase (= particules élémentaires).

Schéma 9

Le pied se compose de 10 à 14 unités protéiques (140 Å), et forme avec la tige (35 à 50 Å) la partie mobile qu'on appelle rotor. La tête formée de 3 unités (50 Å) et le stator lui aussi formé de 3 unités composent une partie immobile de 6 unités, fixé à la membrane.

Sur la face matricielle: cytochrome c tel que P450, qui au niveau du réticulum endoplasmique réalise l'hydrolyse du cholestérol en hormones stéroïdes.

Les protéines de couplage: UCP (H<sup>+</sup>).

Cardiolipides (appartiennent aux phospholipides)= 4 molécules d'acides gras.

Jouent un rôle important dans les propriétés de la membrane (la rend imperméable aux ions).

Schéma 10

TOM= enzymes de translocation des protéines externes ≠ TIM.

4/ Matrice.

Les cellules hépatiques (= hépatocyte).

Contient des enzymes: 67% des protéines de la mitochondrie sont dans la matrice. Elles permettent la formation d'enzymes du cycle de Krebs (Acétyl CoA) et la phosphorylation des acides gras.

Ions (Ca<sup>2+</sup>, Fe<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>).

Nucléotides accepteurs, transporteurs d'hydrogène.

Acide nucléique (ADN, ARN).

3. Étude du génome.

Présent dans les mitochondries → peut se répliquer → division par bipartition des mitochondries.

Il peut y avoir transcription → ARN → ARNt, ARNribosomiaux, ARNmessenger.

ADN: Molécule circulaire bicaténaire de dimension allant de 5 à 25 μm et possédant des températures de dénaturation différentes.

Cet ADN incorpore la thymidine thricié quand répllication → H.

Répllication semi-conservatrice via DNAPolymérase (d'origine cytosolique).

Le séquençage comporte 16 569 soit environ 17 000 nucléotides avec 37 régions codantes (= gènes). La synthèse de 2 ARNr, 22 ARNt et 22 ARNm.

ATPsynthase.

Cet ADN circulaire mitochondrial va être transcrit en entier puis ce sont des enzymes qui vont cliver → ARNt... → Protéines.

ARN mitochondriaux ont la même organisation que les ribosomes cytosolique mais de plus petite taille. Constante de sédimentation (60S): une petite particule (25 à 33S) et une grande particule (35 à 45S) associée à des protéines ribosomiales provenant du cytosol (= codée par génome nucléaire).

→ Le code de l'ADN est sensiblement identique au code génétique universel mais certains codons seront différents:

Exemple: UGA au niveau du noyau est un codon stop mais dans la mitochondrie, il code pour le tryptophane.

Le phénomène d'amplification produit 7 exemplaires.

→ La synthèse des protéines mitochondriales se fait dans le réticulum.

L'initiation va se faire avec un ARN de transfert propre à la mitochondrie et aux bactéries.

13 protéines dont 3 feront partie de la cytochrome bc1, ATPsynthase au niveau de la membrane interne.

Coopération entre les deux génomes.

Protéines d'origine cytosolique. Elles ont quelques acides aminés (= séquence adresse) en plus au niveau du N terminal. C'est l'équivalent du peptide signal, qui permet l'entrée dans le réticulum granuleux. Certains cytochrome, pour posséder une séquence N terminal qui permettra la reconnaissance du réticulum + une séquence adresse pas en N terminal. La séquence N terminal est supprimée → va dans la mitochondrie.

Schéma 11

La séquence d'adressage traverse. Protéase au niveau de la membrane interne qui vont cliver cette séquence adresse, la détacher.

Ces protéines, ultérieurement, resteront seules ou s'associeront comme au niveau des CRM.

Cytochrome c, spécifique à la mitochondrie mais codée par le génome nucléaire et non pas mitochondrial.

→ hérédité cytoplasmique: cellule mère → cellules filles.

Rq: Transmission non mendélienne.

Reproduction sexuée chez l'homme, les mitochondries sont d'origine maternelle.

99% des mitochondries du spermatozoïde sont détruites à l'intérieur de l'ovocyte. Ceci est déjà préparé durant son transit dans les voies spermatiques.

L'existence de ce génome permet la réplification semi-conservative → division par bipartition de la mitochondrie → synthèse d'ARN mitochondrial qui va se répartir dans les futures cellules filles.

Bipartition:

## Schéma 12

Parenté des mitochondries avec certaines bactéries telles que kickettsie → typhus.

La mitochondrie, au niveau du génome diffère de la bactérie. Donc, l'on suppose qu'un certain nombre de gènes des bactéries se soient confondus au génome nucléaire.

Mutation possible par délétion → dysfonctionnement parfois mortel de la mitochondrie si c'est au niveau du cerveau (neurone) ou myocarde.

Synthèse de protéines au niveau ribosomal (→ 5% protéines mitochondriales donc très largement tributaire du génome nucléaire).

Séquence signal ajoutée à l'extrémité N-term de la protéine pour être reconnue par la mitochondrie (membrane externe).

4. Principales fonctions de la mitochondrie (→ la respiration cellulaire).

Ensemble de réactions d'oxydoréduction en présence d'oxygène → Production d'énergie sous forme d'ATP qui lors de son hydrolyse libère une énergie assez importante de 10 Kcal.

## Schéma 13

Rq: Oxydation → libération d'énergie.

La mitochondrie doit contrôler sa libération, son utilisation progressive pour obtenir de l'ATP par extraction d'énergie dans un premier temps puis transfère sur les CRM de la membrane interne, où cette énergie va permettre la synthèse d'H<sub>2</sub>O. 3<sup>e</sup> étape, récupération au niveau de l'ATP synthase pour former de l'ATP. La mitochondrie va dissocier sous forme de protons et d'électrons certains éléments pour former de l'ATP.

Au sein de la mitochondrie, décarboxylation oxydative de l'ATP.

## Schéma 14

Rq: L'acétyl CoA est au carrefour des 3 voies métaboliques, c'est donc une molécule clé.

Lipides pénètrent dans la mitochondrie sous forme d'AG → décarboxylation oxydative → hélice de l'ynen.

Dans le cytosol, est sous forme de TG non soluble.

## Schéma 15

L'on voit souvent en ME que les mitochondries se collent à ces gouttes lipidiques pour tirer de l'énergie.

## Schéma 16

Découplage entre CRM et production d'ATP.

Les graisses brunes sont surtout présentes chez les animaux qui hibernent ou chez les nourrissons. Cette graisse brune joue un rôle important dans la thermorégulation.

Nicotine amide adénine dinucléotide (= NAD) et FAD sont des accepteurs d'H:

NAD → NADH + H<sup>+</sup>

FAD → FADH<sub>2</sub>

D'où NADH:  $\text{NAD}^+ + \text{H}^- : \text{H}^- \rightarrow \text{H}^+ + 2\text{e}^-$ .

Ces  $2\text{e}^-$  sont de haute énergie  $\xrightarrow{\text{transfert}}$  CRM.

1/ Extraction de l'énergie à partir des substrats, extraction de ces ions hydrures et  $\text{e}^-$  provenant du radical acétyl.

Gradient électro-chimique de protons:

-fait revenir vers matrice  $\text{H}^+$ .

-fait sortir dans espace intermembranaire  $\text{OH}^-$ .

ATP synthase (d'autant plus que la mitochondrie est active).

Flux de protons entre pied du rotor et tige d'amarrage du stator → énergie électrique → fait tourner rotor → énergie mécanique → énergie chimique.

Rendement = 40 à 60%.

Énergie chimique permet de refaire passer les  $\text{H}^+$  dans l'espace intermembranaire.

→ 100 ATP/s.

Phénomène respiratoire → électrons → H<sub>2</sub>O.

Couplé à la production d'ATP.

Rq: il existe des découplants.

2/ Transfert de cette énergie sur la membrane interne, au niveau des CRM:

Schéma 17

Les complexes sont associés à des cytochromes fer-souffre.

Chaque accepteur a plus d'affinité avec les électrons de plus en plus → sens unique.

Les  $\text{e}^-$  d'origine sont à haute énergie → CRM à chaque étape, il perd une petite quantité d'énergie → cyto oxydase → H<sub>2</sub>O.

Complexe 1: Poids moléculaire 800 000, c'est le plus gros complexe. Il est constitué d'une quarantaine de chaînes polypeptidiques de centre fer-souffre.

Complexe 2: b.C1 est formé de deux chaînes polypeptidiques associées au cytochrome.

Entre ces deux complexes se trouve l'UQ, liposoluble.

Cytochrome c, petite protéine (hématoprotéine) car contient du fer sur la face externe de la membrane interne. Il transférera les électrons au cytochrome oxydase (13 chaînes polypeptidiques (300 000 sous réserves)).

Les phénomènes respiratoires s'arrêtent au niveau de C=O.

Le transporteur NADH.

1) Extraction d'énergie → synthèse d'eau.

2) Transfert vers les CRM → gradient de pH + de différence de potentiel = gradient électrochimique de protons.

3) Synthèse d'ATP au niveau de l'ATP synthase. Couplage des phénomènes respiratoires et synthèse d'ATP.

Trois sous unités participent à la synthèse d'ATP.

L'énergie provient du gradient électrochimique de protons → flux de protons → rotation du rotor qui stimule trois activités enzymatiques du stator qui vont catalyser la synthèse d'ATP à partir d'ADP + Pi.

Ceci dépend de la concentration en ions H<sup>+</sup> et d'ADP.

Peut se faire en sens inverse (matrice → espace intermembranaire).

Rq: La rotéone bloque l'activité du complexe 1.

1 glucose → 38 ATP.

1 Glu → 2 pyruvate → 2 x (3 NADH + 1 citrate + 1 GTP).

3 NADH → 9 ATP.

1 citrate → 2 ATP.

1 GTP → 1 ATP.

Le tout fois 2 ce qui donne 38 ATP.

36 ATP formés dans la mitochondrie et 2 ATP dans le hyaloplasme.

2. Autres fonctions de la mitochondrie.

Corticosurrénales et gonades → stéroïdes.

Grâce au cholestérol et sur la membrane interne de la mitochondrie, de la P450.

Schéma 18

Participation à la synthèse de phospholipides exportés vers les membranes en collaboration avec le REL et le cholestérol (→ ACoA).

Pour certains acides aminés, le squelette carboné peut provenir du cycle de Krebs.

Si REL → Ca, alors la concentration en Ca dans la mitochondrie augmente à son tour.

Apoptose.

Synthèse d'acides gras à partir de l'hélice de Lynen.

Intervention dans la synthèse de l'hémoglobine.

En bref:

-participation à la synthèse d'hormones stéroïdes.

Présentes dans les gonades et les surrénales.

cP450 → hydroxylation du cholestérol → stéroïdes.

Dans mitochondrie → prenionase → dans hyaloplasme: progestérone ou cortisone (sécrétée par surrénale) → oestrogène ou aldostérone.

-phospholipides.

Synthèse en association avec le REL.

-synthèse de certains aa.

Squelette carboné peut provenir de métabolismes intermédiaires du cycle de Krebs.

-ions calcium.

Libéré dans cytosol en particulier dans les cellules musculaires.

Interrelations très étroites entre  $Ca^{2+}$  de mitochondrie et REL.

$Ca^{2+}$  dans mitochondrie stimule le cycle de Krebs.

Joue un rôle dans l'apoptose:

Libération massive de  $Ca^{2+}$  et procaspases.

$Ca^{2+}$  + cytochrome c → transforme procaspase en caspases → apoptose.

Mitochondrie fournit  $NAD^+$ .

À partir de l'hélice de Lynen.

Mutations:

-atteignent très souvent les cellules nerveuses ou du myocarde.

-la fréquence de mutations peut augmenter.

3. Origine des mitochondries.

Les mitochondries peuvent se diviser.

Anomalies: dans la consommation d'oxygène (trop importante), ou lorsque la mitochondrie ne parvient à se diviser.

Ces anomalies sont dues aux mutations du génome mitochondrial ou nucléaire.

Notons que la mutation s'accélère avec l'âge.