

## RESPIRATION MITOCHONDRIALE

### 1. Principes de biochimie générale.

#### A. Bioénergétique et dynamique.

##### a) Intro:

Les mitochondries passent leur temps à fabriquer de l'énergie.

##### b) Rappels:

L'énergie chimique sert de combustible aux organismes vivants.

La bioénergétique est l'étude quantitative des transferts d'énergie chez les êtres vivants.

1e principe: Conservation de l'énergie → Enthalpie:

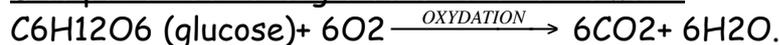
$\Delta H = \Delta E + P\Delta V$  donc dans un système à pression constante.

$\Delta H < 0$ : la réaction est exothermique (= libération de chaleur).

$\Delta H > 0$ : la réaction est endothermique.

2e principe: L'idée d'entropie, l'univers tend de plus en plus vers le désordre →

Dissipation de l'énergie dans l'environnement:



Rq: L'augmentation du nombre de molécules, suite à une réaction inclut une augmentation du désordre et donc de l'entropie. C'est pourquoi dans les réactions de synthèse, l'entropie diminue.

L'augmentation d'entropie peut provenir d'une augmentation de chaleur, d'une augmentation du nombre de molécules ou d'un passage de l'état solide à liquide ou liquide à gaz.

Les cellules ou organismes vivants en général, s'organisent en prélevant de l'énergie de l'extérieur = Energie libre. Au cours de leur vie, elles prélèvent une quantité de chaleur sous forme d'entropie et d'enthalpie.

Quand l'entropie est maximum, c'est que le système est mort, il est alors enfin en équilibre avec son environnement.

##### c) Energie libre ou de Gibbs:

Quantité d'énergie capable de fournir du travail dans un système à pression et volume constants.

Relie les deux principes:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S.$$

Quand l'entropie augmente ( $\Delta S > 0$ ), on dit que l'énergie sera dissipée = énergie perdue.

$\Delta G$  et  $\Delta H$  sont exprimés en J/mol ou cal/mol.

$\Delta H < 0$  signifie que la réaction est exothermique.

$\Delta G < 0$  c'est à dire  $\Delta H < 0$  et  $\Delta S > 0$  est une réaction exergonique.

$\Delta G > 0$  est une réaction endergonique.

La réaction est spontanée quand  $\Delta G < 0$ .

L'énergie libre qui ne considère que l'état initial et final de la réaction, ne doit pas être confondu avec l'énergie d'activation, énergie qu'il faut fournir pour franchir le seuil d'activation.

Schéma 1

d) Variation d'énergie libre standard et constante d'équilibre.



A l'équilibre, les concentrations de produits sur substrats donnent une constante:

$$\frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} = K_{\text{éq.}}$$

$\Delta G$  est la force motrice qui permet d'amener la réaction à l'équilibre.  $\Delta G$  devient  $\Delta G^\circ$  dans les conditions de standards c'est à dire à 298°K (= 25°C), une M pour chaque constituant et une atm.

$\Delta G^\circ$  quand le pH vaut 7 (et  $[e_{\text{eau}}] = 55M$ ).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{éq.}}$$

Avec R la constante des gaz parfaits et T la température en degrés Kelvin.

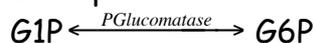
$$\Delta G = 0 \text{ si } K_{\text{éq.}} = 1.$$

$\Delta G < 0$  si  $K_{\text{éq.}} > 1$ , donc s'il y a plus de produits que de substrats. Réaction de gauche à droite.

$\Delta G > 0$  si  $K_{\text{éq.}} < 1$ . Réaction de droite à gauche.

$\Delta G^\circ$  est la différence d'énergie libre entre produits et réactifs.

Exemple:



Avec 20 mM G1P ou 20 mM G6P, nous avons 1 mM G1P et 19 mM G6P.

$$K_{\text{éq.}} = \frac{[G6P]}{[G1P]} = 19.$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{éq.}} = -8,3 \text{ (J/ mol)} * 298 \text{ (K)} * \log 19 = -7,3 \text{ KJ/ mol.}$$

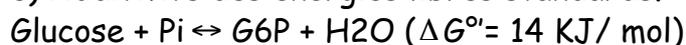
La variation d'énergie libre standard est  $< 0$  donc la réaction va de gauche à droite c'est à dire de G1P à G6P.

La variation d'énergie libre standard est une valeur théorique (si le rendement vaut 100%). Beaucoup de réactions ont  $\Delta G^\circ < 0$  mais elle ne s'effectue pas pour autant spontanément du fait de l'énergie d'activation spontanée.

$\Delta G^\circ$  tient compte de l'état initial et final, pas des intermédiaires.

$\Delta G^\circ$  donne des infos sur l'équilibre mais pas sur la vitesse. En revanche, les enzymes donnent des infos sur la vitesse mais pas l'équilibre.

e) Additivité des énergies libres standards.



D'où:



Comme  $\Delta G^\circ < 0$ , la réaction est exergonique. En effet, l'ATP fournit de l'énergie.

Les deux réactions se combinent, l'une apportant l'énergie à l'autre c'est à dire l'exergonique → endergonique.

f) ATP et liaisons riches en énergie.

Schéma 2

L'ATP est riche en charge électrostatiques "-" (x4). Après hydrolyse on constate une baisse de la répulsion électrostatique car le Pi ainsi libéré peut être stabilisé par mésomérie.

Rq: Le Pi est en stabilisation par résonance puisque la double liaison peut être attribuée à n'importe laquelle des autres liaisons.

L'ADP s'ionise (déprotonisation) et ne peut, par conséquent, que difficilement revenir en arrière. De plus, Pi est stable. → Forte libération d'énergie.

Définition d'une liaison riche en énergie: Liaison chimique dont l'hydrolyse au cours d'une réaction chimique s'accompagne d'une libération intense d'énergie interne donc  $\Delta G$  doit être  $< -25$  KJ/ mol.

Ici, les liaisons représentées par un tildé entre les Pi équivalent à -30 KJ/ mol. Les liaisons entre les P sont anhydrides: riche en énergie: -31KJ/mol.

ATP → ADP + Pi (-30 KJ/ mol).

ADP → AMP + Pi (-30 KJ/ mol).

ATP → AMP + Pi-Pi (pyrophosphate) puis Pi-Pi  $\xrightarrow{H_2O}$  2Pi (-30 KJ/ mol).

Une énergie riche en énergie diffère d'une énergie de liaison car l'énergie de liaison est l'énergie rattachée à la rupture d'une liaison alors qu'une énergie riche en énergie correspond à l'hydrolyse de la réaction.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + RT \ln \frac{[produit]}{[substrat]}$$

Donc si il y a 100x plus d'ADP que d'ATP, l'E libre passe à -60KJ/mol.

g) Autres molécules de liaisons riches en énergie.

Il y a quatre groupes:

1/ Le phospho-énol-pyruvate ( $\Delta G^\circ = -62$  KJ/ mol):

C'est un énoyl pyruvate. Sous 2 formes tautomères (céto/énoyl). Après hydrolyse → énoyl devient céto.

Schéma 3

2/ 1,3 bis phospho glycérate (-49 KJ/ mol):

Liaison anhydride entre carboxyle et P est riche en énergie. Stabilisation par résonance du produit ainsi que ioniser donc de nouveau une liaison riche en énergie.

Schéma 4

3/ Créatine phosphate fixée sur guanidine donne une forme de résonance entre N et C (-43 KJ/ mol).

La créatine phosphate est un phospho-guanidine. Son hydrolyse donne de la créatine stabilisée par résonance.

4/ Thio- esters (-31 KJ/ mol):

Ne libère pas de P par hydrolyse mais libère un produit avec groupement thiol. Cf ACoA (se termine par sulfhydrile).

Schéma 5

L'énergie des liaisons riche en énergie est due à la disparition de forces électrostatiques sur substrats.

h) La place de l'ATP dans les processus de transferts d'énergie.

PEP > 1,3bis phospho-glycérate > créatine phosphate > ATP > molécules sans liaison riche en énergie (G6P, ...).

-25 KJ/ mol < Liaisons riches en énergie < 0.

L'ATP est l'intermédiaire entre les liaisons très riches en énergie et pauvres en énergie. L'ATP est en quelque sorte la "monnaie d'échange".

L'ATP a un rôle très important dans l'organisme puisqu'elle est constamment nécessaire, les stocks ne dépassant pas 2s pour le cerveau et allant jusqu'à 2min pour d'autres cellules. L'ATP doit être hydrolysée et régénérée à chaque instant et ce, au rythme de 3 mol/ h soit 1,5 Kg chaque heure.

L'ATP est nécessaire pour l'énergie mécanique, osmotique, chimique, calorifique, électrique et lumineuse. De plus, l'ATP est un donneur de P et certaines enzymes (kinases) en ont besoin dans leur phosphorégulation ou déphosphorégulation.

L'ATP sert aussi dans l'activation des acides gras et des acides aminés pour la synthèse protéique car l'ATP est un donneur d'AMP. L'ATP est un donneur de pyrophosphate qui va servir comme activateur de la thiamine par exemple. C'est aussi un donneur d'adénosine (Cf le système adénosyl méthionine) pour la synthèse du coenzyme B12.

B. Réactions biologiques d'oxydoréductions.

a) Rôle des transferts d'électrons dans le métabolisme.

Le circuit biologique fonctionne en quelque sorte comme une batterie puisque cette dernière se compose de deux sortes d'espèces chimiques et lorsque l'on branche les deux pôles, l'on constate le passage d'électrons d'un pôle à l'autre.

En effet, le circuit biologique, par analogie, est constitué de transporteurs d'électrons d'une espèce chimique nommée donneur d'électrons à une autre appelée accepteur d'électrons. Ce flux est responsable de tout le travail fourni par les êtres vivants.

Partant d'un substrat donné, il se produit une force proton motrice, force induite par le mouvement des protons.

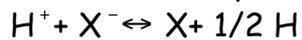
Les CRM ont pour moteur le flux d'électrons et pour but la synthèse d'ATP.

Chez les organismes autotrophes, le flux d'électrons est apporté par le flux solaire, alors que chez les organismes hétérotrophes, il est apporté par l'alimentation.

b) Les potentiels de réduction.

Par référence à une électrode standard dite à hydrogène ( $H^+ + e^- \rightarrow 1/2 H_2$ ;  $E = 0V$ ). On place toujours à gauche l'accepteur d'électrons, c'est donc une réduction.

On définit chaque réaction par un potentiel de réduction:



$X + e^- \rightarrow X^-$  ( $E$  est le potentiel de réduction et  $E^\circ$ , le potentiel de réduction standard; le pH = 7 et les composés sont à 1M sauf  $H^+$  dont la concentration est de  $10^{-7}$ ).

$NAD^+ + H^+ + 2e^- \rightarrow NADH$  ( $E^\circ = -0,32 V$ ). NADH est réducteur.

$1/2 O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$  ( $E^\circ = +0,8 V$ ). L'oxygène est oxydant

D'où:



Rq: +0,3 V car la réaction se déroule en sens contraire.

$E^\circ < 0 \rightarrow$  donne facilement ses électrons donc la réaction se déroule de droite à gauche.

$E^\circ > 0 \rightarrow$  accepte les électrons donc la réaction se déroule de gauche à droite.

$\Delta E = E_{ox} - E_{red}$ .

c) Relation entre  $E$  et  $\Delta G^\circ$ .

Relation effectuée par:

$$\Delta G^\circ = -nF\Delta E^\circ = -220 \text{ KJ/mol}$$

Avec  $n$  le nombre d'électrons transférés et  $F$  la constante de Faraday.

$\Delta E > 0$  induit que  $\Delta G < 0$  et par conséquent que la réaction est exergonique.

Lorsqu'un couple est plus réducteur ( $E$  bas), il va donner ses électrons à un couple plus oxydant ( $E$  haut).

La réaction va du  $E$  le plus faible au  $E$  le plus élevé.

Les enzymes mises en jeu: oxydases, déshydrogénases (2 types),  
déshydroperoxydases, oxygénases.

C. Cofacteurs et transport d'électrons.

Les cofacteurs sont solubles dans l'eau et libres:  $NAD^+$ ,  $NADP^+$ .

Les cofacteurs sont solubles dans l'eau et liés: FAD, FMN.

Les cofacteurs sont liposolubles: quinones, Fe-S et cytochrome (les deux derniers sont liés).

a) NADH et NADPH.

a/ Structure:

Nicotinamide d'adénine dinucléotide:

Le 1<sup>e</sup> nucléotide: Adénine + ribose + P.

Le 2<sup>e</sup> nucléotide: P + ribose + nicotinamide.

Schéma 6

La nicotinamide ou vitamine PP (= B3) est indispensable à l'homme et intéressant pour le transfert d'électrons.

Rq: Une vitamine est un coenzyme indispensable.

$2e^- + H^+ = \text{hydrure.}$

$NAD^+ + 2e^- + 2H^+ \rightarrow NADH + H^+.$

$[NADH] / [NAD] = 10^{-4} M.$

$[NADPH] / [NADP] = 10^{-5} M.$

Rq: Généralement,  $[NAD] \gg [NADH]$  et  $[NADPH] \gg [NADP]$ .

L'absorbance ou la densité optique (DO) pour le NAD est à 250nm et pour le NADH à 340nm.

Le NADP est identique mais avec un phosphate supplémentaire.

$[NAD] 10 \text{ fois } > [NADP].$

Il y a beaucoup plus de NADPH que de  $NAD^+$  et c'est l'inverse pour NAD.

$NAD^+ / NADH = \text{élevé, et } NAD^+ / NADPH = \text{faible.}$

NAD  $\rightarrow$  catabolisme.

$NAD^+$  prédomine sous forme réduite  $\rightarrow$  synthèse des macromolécules.

Les réactions se font dans des compartiments cellulaires différents.

NAD et NADP ne traversent pas la membrane des organites  $\rightarrow$  pas d'échanges dans les différents compartiments  $\rightarrow$  système de transport des électrons via la membrane.

Les coenzymes NAD et NADP (oxydoréductases) sont répertoriés dans des réactions avec pas moins de 200 enzymes. En d'autres termes, plus de 200 enzymes utilisent NAD ou NADP comme réducteur. D'un point de vue cinétique, généralement de type *bibi ordonné*.

NADP diffère du NAD par sa Pi supplémentaire au niveau du ribose.

NAD est un coenzyme libre c'est à dire qu'il vient au contact du site actif juste quand nécessaire et selon une cinétique *bibi ordonnée*. Ainsi, l'enzyme n'aura d'affinité avec le substrat que lorsqu'elle sera déjà liée.

Schéma 7

Cette différence d'absorbance est la base de nombreux dosages car elle permet de suivre facilement la réaction.

b) Coenzymes flaviniques.

FMN: Flavine mono nucléotide

FAD: Flavine adénine dinucléotide

Ils sont de structures proches, ils sont tous deux dérivés de la riboflavine (= vit B2):

Schéma 8

Rq: Le ribitol est un ribose à structure ouverte et, sans entrer dans les détails, pourvu d'une légère modification.

La partie active est le noyau flavine:

Schéma 9

Ces coenzymes flaviniques qui sont fortement liés aux enzymes constituent les groupements prosthétiques.

FMN: noyau flavine (= cycle isoaloxazine) avec un ose, le ribitol.

FAD: FMN + P + ribose + noyau pyrimidine accolé à cycle à 3 sommets.

L'isoaloxazine peut capter  $2H^+$  et  $2e^-$ .

Prise en charge au niveau de chacun des 2N d'un  $H^+$  et disparition d'une double liaison du fait des électrons.

Généralement sous forme de flavoprotéine (forme liée).

Capte de façon temporaire les électrons.

Le potentiel de réduction (E) de ces coenzymes est très variable d'une enzyme à l'autre.

Il y a 6 coenzymes flaviniques (FAD ou FMN).

E le plus élevé: dihydrolipoate DH (E = -290mV).

E le plus bas: succinate DH (E = -10mV).

d/ Un autre coenzyme: Ubiquinone (50) (Coenzyme Q10), dont le noyau quinone est le radical actif:

Schéma 10

Rq: On l'appelle coenzyme Q10 car n= 10 ce qui fait un total de 50 carbones d'où le nom d'ubiquinone 50.

Non soluble dans l'eau mais se diffuse dans les membranes.

Cf RMit 2.

L'ubiquinone contient une chaîne polyisoprénique.

Liposoluble et non soluble dans l'eau.

Se rencontre plutôt dans les membranes lipidiques telle que la membrane interne de la mitochondrie: coenzyme libre.

Prend en charge  $2H^+$  et  $2e^-$ .

Si ne prend en charge qu' $1H^+$  et  $1e^-$  → semiquinone.

e/ Cytochrome c (coloré en rouge brun).

Ne prend en charge que des électrons.

C'est une protéine qui contient un groupement prosthétique, un groupement héminique donc dérivé de l'hème (groupement prosthétique de l'hémoglobine).

Cf RMit 12.

4 Noyaux pyrroles (structure tétrapyrrolique) dont les N sont reliés à un  $Fe^{3+}$  (oxydé) ou  $Fe^{2+}$  (réduit).

Coenzyme liée.

Les organes comme le coeur ou le foie, ceux qui contiennent beaucoup de mitochondries donc beaucoup de cytochrome c présentent une teinte rouge brun.

E variable suivant les aa liés au groupement prosthétique:

La succinate DH contient du cytochrome B558 (car DO = 558nm):

E = -120mV.

Cytochrome oxydase contient cytochrome A3 associé à du cuivre:

E = +300mV.

Ce sont les 2 extrêmes, tous les autres cytochromes se répartissent entre ces valeurs.

f/ Protéine fer - soufre.

Schéma 11 ou RMit 13.

Il y a plusieurs moyens pour transférer les électrons: transfert hydrure (1 proton, 2 électrons), transfert direct (prise en charge de l'électron par le fer comme dans cytochrome):



2. La chaîne respiratoire mitochondriale.

A. Description.

a) Localisation: La chaîne respiratoire mitochondriale se déroule dans la mitochondrie.

Cf RMit 1.

Une mitochondrie est un système de deux membranes séparées d'un espace membranaire et englobant la matrice. C'est un organite présent chez tous les eucaryotes. On suppose d'ailleurs l'origine des mitochondries par la colonisation de la part d'une bactérie d'une cellule eucaryote conférant à celle ci un caractère aérobie.

La voie métabolique de la mitochondrie (= oxydation phosphorylante) → oxydation de ces coenzymes par l'oxygène. Couplé à une phosphorylation → ATP à partir d'ADP.

Réaction de catabolisme ( comme le catabolisme des nutriments= oxydation) ou d'anabolisme (= réduction).

Schéma 12

Complexes enzymatique réalisent cette phosphorylation.

La CRM est la voie métabolique dans la mitochondrie qui permet l'oxydation des coenzymes transporteurs d'H par l'oxygène de la respiration. Aboutit à la phosphorylation de l'ADP en ATP.

Réaction de catabolismes → ATP + coenzymes transporteurs d'H + ACoA.

Les coenzymes transporteurs d'H vont entrer dans la mitochondrie pour réduire l'O en H<sub>2</sub>O → E → phosphoryle l'ADP en ATP.

l'ACoA sert à d'autres catabolismes.

Il y a 3 complexes enzymatiques reliés par 2 transporteurs mobiles d'électrons.

c) Complexe 1: NADH, CoE Q oxydoréductase.

Dans la membrane interne mais dépasse largement sur les deux faces (matricielle et intermembranaire). Elle contient FMN et 6P Fe-S.

Cf RMit 3.

Il capte NADH, les transfère à un coenzyme prosthétique: le FMN.

Ce dernier les transmet à une protéine de groupement prosthétique Fe-S. Les H<sup>+</sup> sont cédés dans le milieu et captés ensuite pour réduire le coenzyme Q.

$\Delta G^\circ = -73\text{KJ/mol}$ .

Réaction très énergétique, couplée au transport de protons.

d) Complexe 2: Succinate déshydrogénase (= CoE Q oxydoréductase).

C'est un enzyme du cycle de Krebs et c'est pourquoi il est nommé déshydrogénase. Son deuxième nom vient du fait qu'il transfère les protons et électrons à l'Ubiquinone.

Cf RMit 6.

Profite d'une réaction du cycle de Krebs (le complexe II est en saillie dans la matrice mitochondriale):

Le succinate est déshydrogéné en fumarate (c'est une oxydation):

Schéma 13

A l'inverse du premier complexe, celui-ci ne traverse pas la membrane, il ne déborde que sur la face matricielle.

Il existe d'autres flavo protéines telles que la glycéro-phospho-déshydrogénase et l'acétyl CoA.

e<sup>-</sup> et H<sup>+</sup> récupérés pour réduire le coenzyme Q ( $\Delta G^\circ = -6\text{KJ/mol}$ ).

Faible énergie libérée pour cette réaction.

Le 2e complexe ne peut prélever de protons (ne dépasse pas dans l'espace transmembranaire).

Rq: il y a 4 sources de H<sup>+</sup> et e<sup>-</sup> pour réduire l'ubiquinone.

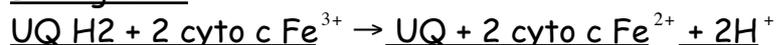
e) Complexe 3: CoE QH<sub>2</sub> cytochrome c oxydoréductase.

Enzyme de même forme que le premier complexe. Elle transfère les CoE Q réduits.

Cf RMit 4.

Il contient des cytochromes b, c1,...

Bilan global:



Coenzyme = cytochrome ou protéine Fe-S qui vont capter les électrons provenant du coenzyme Q → réduction du cytochrome c (après la réduction du cytochrome b, protéine Fe-S et du cytochrome c1).

L'ubiquinone et le cytochrome c sont mobiles.

$\Delta G^\circ = -39\text{KJ/mol}$ .

Suffisante pour capter des  $\text{H}^+$  de la matrice vers l'espace intermembranaire.

f) Complexe 4: Cytochrome c oxydase:

Le cytochrome c cède ses électrons au complexe IV pour aller ensuite les céder

à l'O. Récupération d'un  $\text{H}^+$  pour faire  $\text{H}_2\text{O}$ .

$\Delta G^\circ = -106\text{KJ/mol}$ .

Pompe les protons.

Enzyme qui traverse la membrane comme les complexes 1 et 3.

Il contient des cytochromes a, a3,...

$1/2 \text{O}_2 + 2 \text{cyto c Fe}^{2+} + 2\text{H}^+ \rightarrow 2 \text{cyto c Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{O}$ .

$\text{O}_2 + e^- \rightarrow \text{O}_2^{\circ-}$  (anion superoxyde, c'est un radical libre oxygéné)  $\xrightarrow{+e^-} \text{O}_2^{2-}$   
(peroxyde).

Ceci est très ennuyeux pour la cellule du fait de la réactivité  $\text{O}_2^{\circ-}$  ou d' $\text{O}_2^{2-}$  avec n'importe quelle protéine environnante dans le but de la dégrader.

Cf RMit 5.

Cf RMit 11.

Rq: UQ sert d'intermédiaire. Il en est de même pour la cytochrome c.

$\Rightarrow$  Réduire de l'oxygène.

Chacun des complexes transmembranaires 1, 2, 3 ou 4 servent de transporteurs de protons entre matrice et espace intermembranaire. A chaque réduction, 3 protons passent. En effet, 3 protons sont nécessaire à la synthèse d'un ATP. Complexe 1: passage de 4 protons; complexe 3: passage de 2 protons; complexe 4: passage de 4 protons; soit un total de 10 protons par couple d'électrons parcourant la chaîne.

L'espace intermembranaire se trouve alors chargé en protons. Et puisque la membrane interne est imperméable à toutes les molécules polaires exceptées celles avec complexes spécifiques, les protons vont s'accumuler dans l'espace intermembranaire.

Ceci crée une différence de potentiel entre l'espace intermembranaire et la matrice. Donc il se crée un gradient électrique, de protons et de pH, et c'est ce gradient qui va faire fonctionner le 4e enzyme.

Le 4e enzyme sert de voie de retour aux protons via un petit canal. Le passage de ces protons va engendré une création d'énergie qui servira à la phosphorylation d'ADP en ATP.

$3\text{H}^+$  pompés par réaction et par complexe.

L'ADP est transformé en ATP grâce à la force proton-motrice aussi appelée force chimio-osmotique dans le modèle de Mitchell.

g) ATPase mitochondriale.

Constituée de deux parties: une partie transmembranaire FO et une tête, sphérique F1.

Schéma 14

Il récupère l'énergie afin de coupler le passage de protons à une phosphorylation.

h) ATP/ ADPtranslocase.

La membrane externe permet le passage des molécules de poids < à 5000.

Cet enzyme permet l'échange entre une molécule d'ATP et une d'ADP:

Schéma 15

Les flux d'ATP et d'ADP sont couplés. Il n'y a entrée d'ADP que si de l'ATP sort.

B. Bilans et schémas généraux de la chaîne respiratoire mitochondriale (=CRM).

a)

Cf Schéma 11.

Oxydation du NAD réduit pour permettre le transfert des protons.

Cf Schéma 9.

Quelque soit le complexe, ça va toujours se transférer à une protéine fer, soufre. Donc ce qui est transféré n'est autre que des électrons. Les protons quant à eux sont soit utilisés pour la pompe à protons soit remis dans la matrice. UQ intermédiaire entre les complexes 1, 2 et 3.

Le gradient de protons engendre une différence de potentiel électrique. Et ce plus le gradient de pH entraîne l'activité du complexe FO/ F1 et de l'ATPsynthase; Selon le modèle Mitchell en 1961, qui d'ailleurs lui valut un prix Nobel en 1978.

Systèmes de transport:

-adénine nucléotide translocase.

-phosphate translocase.

Fait entrer phosphates et protons (donc cotransporteurs).

b) Régulation par l'ADP.

$[ATP] \gg [ADP]$  dans la cellule ou le cytoplasme ou la mitochondrie.

Quand la cellule doit fournir un grand effort, il s'en suit une baisse de près de 50% mais pas plus de  $[ATP]$ . Mais, étant donné les proportions énormes d'ATP

dans la cellule, la diminution passe inaperçue. En revanche, l'augmentation  $[ADP]$  qui se trouve être multipliée par 10 ou 100, se détecte très facilement.

L'augmentation d'ADP au sein du cytoplasme filtre dans la mitochondrie grâce à l'activation des protéines de transport, où  $[ADP]$  y est plus faible. Dès l'entrée d'ADP, l'ATPase se met au travail pour phosphoryler l'ADP en ATP. La baisse du gradient de protons qui s'en suit dans l'espace intermembranaire stimule le pompage de protons qui va lui même stimuler l'oxydation du NAD réduit et par

conséquent,  $[NAD_{\text{réduit}}]$  diminue. Il y a alors stimulation de la glycolyse et du cycle de Krebs. C'est le mécanisme de contrôle respiratoire, appelée ainsi car lorsque la CRM fonctionne, il y a consommation d' $O_2$  pour former du  $H_2O$ , voilà aussi pourquoi l'on dit parfois que la mitochondrie respire.

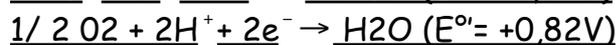
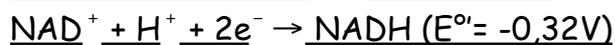
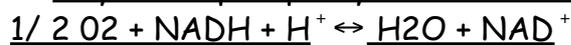
En bref:

ADP entre dans la mitochondrie → augmentation de l'activité ATP-synthase → baisse du gradient de protons → activation du pompage des protons (complexes 1, 3 et 4) donc augmentation de la consommation d' $O_2$ .

C'est le contrôle respiratoire de la mitochondrie.

c) Bilan des différentes voies.

a/ Oxydation phosphorylante du NAD réduit ( $-73 - 39 - 106 = -218 \text{ KJ/mol}$ ).



$$\Delta E^{\circ} = E_{\text{oxydation}} - E_{\text{réduction}} = 0,82 - (-0,32) = 1,14V \text{ soit } -218 \text{ KJ/ mol.}$$

L'oxydation du NAD réduit c'est à dire NADH, produit une quantité importante d'énergie dont une partie est utilisée pour phosphoryler l'ADP en ATP.



Création de trois liaisons riche en énergie car complexe 1, 3 et 4 pompent chacun 3  $H^+$  et chaque passage de 3  $H^+$  permet la phosphorylation d'un ADP en ATP.

Pour fabriquer l'ATP, il faut 31 KJ/ mol donc puisque 3ATP sont formées nous avons:

$$\Delta G^{\circ} = -218 - (-3 \times 31) = -125 \text{ KJ/ mol.}$$

Ce qui reste de l'énergie de l'oxydation phosphorylante est dissipée en chaleur.

b/ Oxydation phosphorylante du succinate (ou du FAD réduit).

Cette fois ci,  $\Delta E^{\circ} = -151 \text{ KJ/ mol}$  et seulement deux molécules d'ATP sont formées (2 liaisons riche en énergie):

$$\Delta G^{\circ} = -151 - (-2 \times 31) = -89 \text{ KJ/ mol.}$$

L'oxydation du succinate ne passe par le complexe 1, elle ne passe donc que par deux complexes. Par conséquent, il fait rentrer moins de protons dans l'espace matriciel donc son oxydation produit moins d'énergie.

C. Inhibiteurs et découplants de la CRM.

a) Inhibiteurs.

Généralement pharmacologiques, ces inhibiteurs sont souvent nombreux, en voici quelques uns pour chaque étape:

Inhibiteur du complexe 1: Roténone (poison biologique).

Inhibiteur du complexe 2: Malonate (il entre en compétition avec le succinate).

Inhibiteur du complexe 3: Antimycine.

Inhibiteur du complexe 4: CO et CN<sup>-</sup> (cyanure).

b) Les découplants de la CRM.

Définition: Ce sont des corps chimiques qui empêchent le transfert de l'énergie entre la chaîne de production des électrons et des ATP.

Les plus fréquents fonctionnent en rendant perméable aux protons la membrane ce qui affecte le gradient de protons puisque les deux cotés de la membrane se retrouve avec le même gradient et de ce fait, il n'y a plus de moteur.

L'arsenic est un analogue structural qui va se substituer au phosphore dans le phosphate. L'arsenic fonctionne en formant l'arsenyl- ADP après phosphorylation, composé très instable qui s'hydrolyse faisant de ce fait fonctionner de l'ATP synthase pour rien.

Les hormones thyroïdiennes favorisent l'oxydation de l'ATP pour fournir de la chaleur. Elles régulent une grande partie de la thermogénèse en stimulant des protéines appelées thermogénines. Elles vont prendre leur place dans la membrane interne et la rendent perméable permettant ainsi aux protons de circuler de nouveau de la membrane interne à la matrice. C'est un mécanisme qu'on retrouve dans la graisse brune.

c) Navettes: transport de NADH.

Le NADH entre dans la mitochondrie pour transmettre son énergie à la CRM.

Pour ce, le NADH use de navettes:

-malate aspartate.

-glycéro phosphate.

A/ La navette malate aspartate.

1/ Malate déshydrogénase.

Schéma 16

Diacides: 2 → Oxalate, 3 → Maléate, 4 → Succinate, 5 → Glutamate.

Le 1e enzyme intervenant est la malate DH. Cette dernière permet le passage d'oxaloacétate (OA; c'est une cétone) en malate (alcool) en oxydant le NADH, H<sup>+</sup>. Ceci se passe dans l'espace intermembranaire de la mitochondrie. Ensuite, il faut faire rentrer le malate dans la mitochondrie grâce à un transporteur. Une fois dans la mitochondrie, le malate est déshydrogéné en OA, en réduisant NAD<sup>+</sup>. Cet OA subit l'action de l'aspartate amino-transférase (= ASAT) pour se transformer en aspartate en perdant un NH<sub>2</sub>, aussitôt récupéré par le glutamate pour ce transformer en  $\alpha$  céto glutarate et sortir dans l'espace intermembranaire grâce au 1e transporteur. Quant à notre aspartate, il est toujours dans la matrice et s'évacue dans l'espace intermembranaire grâce à un 2e transporteur. Une fois sorti, il subit une désamination oxydative par l'ASAT pour se transformer en OA. Ceci libère un NH<sub>2</sub> qui, pris en charge par la vit B6

se combine à l'  $\alpha$  céto glutarate de tout à l'heure pour donner du glutamate, qui en passant par le 2e transporteur retourne dans la matrice.

Lorsqu'il y a du NAD réduit dans le cytoplasme:

Schéma 17

NAD réduit dans cytoplasme  $\rightarrow$  NAD réduit dans mitochondrie sans perte d'énergie mais de ce fait réversible. Ne fonctionne que quand  $\frac{[NAD_{\text{réduit}}]}{[NAD_{\text{oxydé}}]}$  c'est à dire  $\frac{[NADH]}{[NAD^+]}$  cytoplasme  $>$   $\frac{[NADH]}{[NAD^+]}$  mitochondrie.

B/ Navette de glycéro phosphate.

Schéma 18

Le 1e enzyme intervenant est la glycéro phosphate DH qui va réduire le phosphate 2 dihydroxyacétone (= phospho dihydroxyacétone + PDHA) en glycéro phosphate (= glycérol 3 phosphate) avec oxydation du NADH,  $H^+$  en  $NAD^+$ .  
La glycéro phosphate DH fonctionne avec FAD.

$NADH_{\text{cyto}} + H^+ + FAD_{\text{mito}} \leftrightarrow NAD^+_{\text{cyto}} + \text{réduction du } FAD^+$

Rq: si la réduction du PDHA en glycérol3P se sert du NADH,  $H^+$ . L'oxydation du glycérol3P en PDHA se sert de FAD. Ce dernier se change en  $FADH_2$  qui se retransforme en FAD en faisant passer l'ubiquinone à l'ubiquinone réduite.

Cette navette transforme le NADH,  $H^+$  en  $FADH_2$ .

Fait entrer des électrons dans la CRM avec perte d'énergie. Deux liaisons riche en énergie formée au lieu de 3 donc rendement plus faible, mais fonctionne quelque soit  $\frac{[NADH]}{[NAD^+]}$  cyto et mito.

Rq: C'est la navette utilisée par les oiseaux comme le colibri (nécessaire pour effectuer un travail mécanique à très forte fréquence).

Le transport du NADH dans la mitochondrie:

Schéma 19

La réaction est exergonique: Glycérol phosphate  $\rightarrow$  DiOH phosphate.

Ce système de transport va être à sens unique.

$\frac{[NADH]}{[NAD^+]}$   $>$  0 et la navette fonctionne.

Le point commun entre ces groupements prosthétiques est que ce sont des groupements non protéiques. Rappelons que l'on parle de groupement prosthétique si le cofacteur ou le coenzyme se lie de façon covalente. Le groupement prosthétique n'est pas forcément sur un enzyme, pour faire son rôle de transport. Ils sont liés de façon covalente à leur protéine.

En ce qui concerne cofacteurs et coenzymes:

Les cofacteurs contiennent les enzymes. Si le cofacteur est une molécule complexe, on le nommera coenzyme et s'il s'agit d'un métal, on ne le nommera pas coenzyme. Si coenzyme et cofacteur sont liés entre eux, l'on parle de holoenzyme.