

LA CHAÎNE RESPIRATOIRE ET LES OXYDATIONS PHOSPHORYLANTES

Introduction:

Au sein de la cellule, la dégradation des nutriments issus de la digestion (glucose, acides amines, acides gras...) se fait par des réactions d'oxydation qui sont en réalité des réactions de **déshydrogénation** conduisant à la formation de coenzymes réduits **NADH₂** et **FADH₂**.

En aérobiose, ces protons (H⁺) et ces électrons (e⁻) arrachés aux substrats sous forme d'équivalents réducteurs, lors du catabolisme, sont au final oxydés par l'**O₂** (accepteur final) pour former de l'eau.

Une série de composés intermédiaires est nécessaire pour transporter ces protons et électrons du substrat à l'O₂ : ces composés constituent une *chaîne d'oxydation*.

C'est dans la membrane *mitochondriale interne* et plus particulièrement au niveau des crêtes mitochondriales que cette voie métabolique particulière de transfert d'H⁺ et d'e⁻ intervient depuis le NADH₂ (quelquefois le FADH₂) jusqu'à l'O₂ : c'est la chaîne respiratoire mitochondriale

I. Rappel

A. Architecture Mitochondriale

Les mitochondries sont présentes dans toutes les cellules *eucaryotes* à l'exception des globules rouges, utilisant de l'oxygène dans le processus de la respiration, mais leur nombre par cellule est variable.

La mitochondrie est limitée par une enveloppe formée de deux membranes : membrane **externe** et membrane **interne**. Elles sont très différentes dans leur composition et leurs fonctions. La membrane interne délimite *l'espace matriciel*.

- **La membrane externe**: est perméable à toutes les molécules de 5 kDa ou moins grâce à la présence de porines. Elle contient aussi des translocases, transporteurs protéiques
- **La membrane interne**: se replie pour former de nombreuses crêtes, ce qui a pour conséquence d'augmenter sa surface totale. La composition lipidique de la membrane interne est particulière; elle contient une majorité de phosphatidylcholine et de cardiolipine. La chaîne respiratoire mitochondriale est associée aux crêtes de la membrane interne des *mitochondries*.
- **L'espace matriciel** : on trouve un mélange très concentré de nombreuses enzymes, dont celles qui sont nécessaires à l'oxydation du pyruvate et des acides gras (en acétyl-CoA) et au cycle de l'acide citrique. Il renferme également plusieurs copies identiques d'ADN (génom mitochondrial) et les protéines nécessaires à sa transcription puis à la traduction de l'ARNm en protéines.

B. Respiration Cellulaire :

Processus biochimique dont le but est la récupération d'énergie à partir de molécules organiques comme les lipides ou les glucides, pour assurer les synthèses nécessaires à la vie de la cellule.

3 étapes :

- ❖ production d'Acétyl coA (par le catabolisme des AA, des AG et des glucides)
- ❖ oxydation de l'Acétyl coA = cycle de Krebs (=> formation de GTP → ATP réduction de cofacteurs : NADH, H⁺ et FADH₂)
- ❖ **chaîne respiratoire** = oxydation des cofacteurs (=> libération d'électrons)+ **phosphorylation oxydative** => synthèse d'ATP

C. Les Réactions D'oxydo-Réduction

Oxydation = perte d'électrons

Réduction = gain d'électrons

Principe de cette réaction : le passage d'électrons.

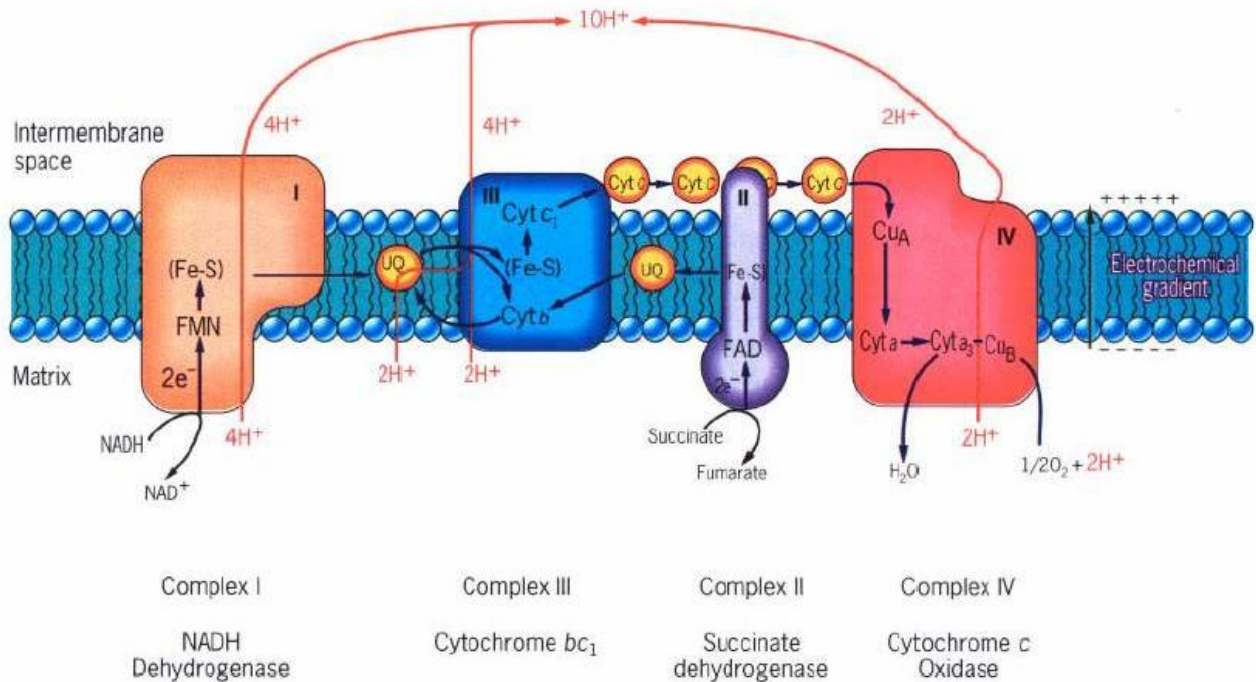
- Un **réducteur** est donneur d'électrons
- Un **oxydant** est accepteur d'électrons

ce transfert d'e⁻ est associé à un transfert d'énergie (libérée au cours de la réaction d'oxydo-réduction et qui servira indirectement à la synthèse d'ATP) = **variation d'énergie libre standard**

II. Les transporteurs des électrons de la chaîne respiratoire :

1) Définition:

Ensemble de protéines à activité enzymatique localisées au niveau de la membrane interne mitochondriale, assurant la collecte et le transport des équivalents réducteurs issus des différents métabolismes (glycolyse, beta oxydation, cycle de Krebs ,Acides aminés) et pris en charge par les coenzymes vers leur destination finale à savoir l'O₂ moléculaire.



2) Vue générale sur la Chaîne respiratoire

Très schématiquement, le transport des électrons implique :

- Arrachement des atomes d'hydrogènes des substrats oxydable (NADH, Succinate..)
- Les atomes d'hydrogènes pénètrent alors dans la chaîne de transport des électrons
- Un système constitué de plusieurs complexes membranaires dissocie l'hydrogène en proton (H⁺) et en électron.
- Ces électrons sont alors transférés via une série d'enzyme (cytochrome) jusqu'à l'oxygène moléculaire (O₂)
- Ils réagissent avec celui-ci et avec les protons, ce qui conduit à la formation d'eau (H₂O).

3) Composition de la chaîne respiratoire mitochondriale:

La chaîne respiratoire mitochondriale comprend:

- ❖ **4 complexes enzymatiques fixes (I, II, III; IV)** dont chacun est constitué de plusieurs sous unités protéiques. Le nombre de sous unités varie selon le complexe.
- ❖ **2 transporteurs mobiles:**
 - Le Coenzyme Q (ubiquinone)
 - Le Cytochrome C

N°	Nom	Donneur d'électrons	Accepteur d'électrons	Groupements prosthétiques	Inhibiteurs	Protons transloqués
I	NADH réductase	NADH + H ⁺	FMN	FMN Fe-S	Roténone	4
II	Succinate déshydrogénase	Succinate	FAD	FAD, Fe-S Hème b	Malonate	0
III	Cyt c réductase	Ubiquinone	Cyt b	Fe-S Hèmes b et c	Antimycine	4
IV	Cyt c oxydase	Cyt c	O ₂	Hèmes à Cu	Cyanure, Monoxyde de carbone	2

a) **Complexe I : NADH déshydrogénase**

Le complexe I est constitué de 42-43 sous unités, assemble :

- Le coenzyme FMN
- Plusieurs protéines à centre Fer-soufre (6 centres)

Rôle: Il oxyde le NADH, H⁺ (enlève 2 électrons) en NAD⁺ réduisant ainsi l'ubiquinone (coenzyme Q) en coenzyme QH₂ et pompe des protons (4 H⁺) de la matrice vers l'espace intermembranaire.

Inhibiteurs du complexe I : **Roténone (insecticide)**

Barbituriques (amytal)

b) **Complexe II : Succinate-Ubiquinone-Oxydoréductase**

Assemble:

- La **succinate déshydrogénase**, à coenzyme FAD qui catalyse la 6^{ème} réaction du cycle de krebs
- Plusieurs protéines à centre Fer-soufre (4 centres)

Ce complexe établit un lien direct entre le cycle et la chaîne respiratoire

Rôle: Il oxyde le succinate en fumarate et réduit d'avantage le coenzyme Q en coenzyme QH₂

Inhibiteurs du complexe II : **Malonate**

TTFA (Thénoltrifluoroacétone)

c) **Complexe III : Coenzyme QH₂-cytochrome c oxydoréductase**

C'est un dimère (chaque monomère compte 11 sous-unités)

Assemble:

- 2 cytochromes b (b₅₆₂ et b₅₆₆)
- Une protéine à centre fer-soufre
- Et le cytochrome c₁

Rôle: Il transfère 2 électrons de QH₂ aux molécules de cytochrome c (localisé dans l'espace intermembranaire mitochondriale) entraînant ainsi la réoxydation de QH₂. Il transfère également 2 protons à travers la membrane.

Inhibiteurs du complexe III : **Antimycine A**

Myxothiazol

Dimercaprol (BAL)

d) **Complexe IV : Cytochrome c Oxydase**

Assemble:

- Cytochrome a
- Cytochrome a₃
- Et 2 ions cuivres

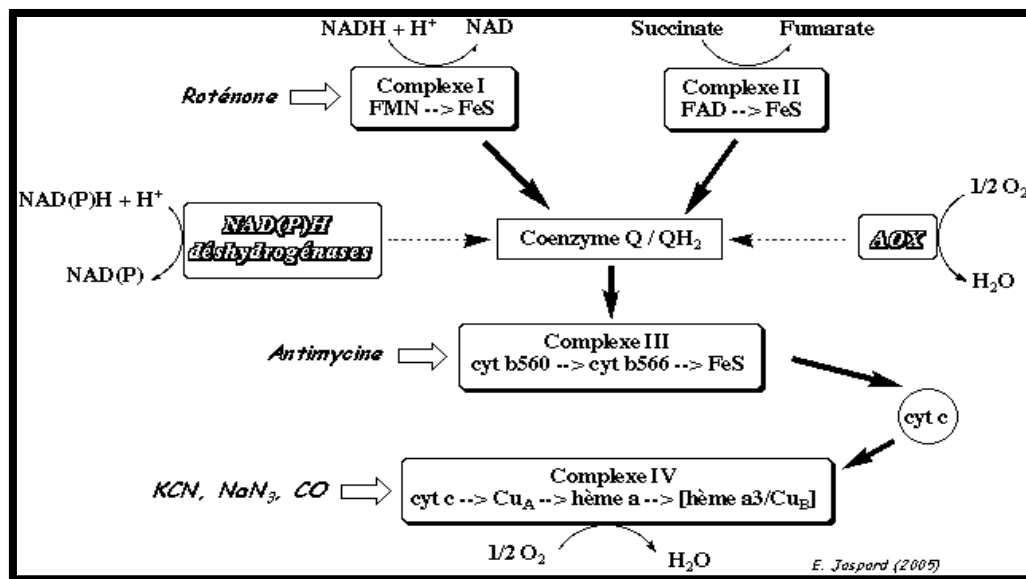
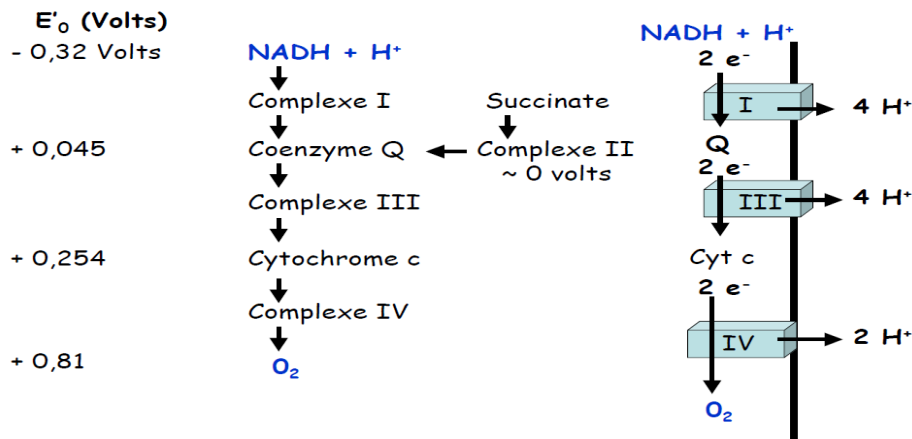
Rôle: Grâce à son site de liaison avec l'oxygène, il transfère des électrons de cytochrome c à l'oxygène moléculaire pour former l'eau. Il transfère également des protons à travers la membrane. On dit alors que le cytochrome c établit une navette des électrons du complexe III au complexe IV.

Inhibiteurs du complexe IV : **Cyanure**

CO (Monoxyde de Carbone)

III. **L'enchaînement Des Complexes De La Chaîne Respiratoire:**

les e⁻ passent des constituants les plus **électronégatifs** (NADH, H⁺) aux plus **électropositifs** (O₂, qui est l'accepteur final des e⁻)



IV. La Synthèse d'ATP :

Trois hypothèses ont été formulées: dont *l'hypothèse chimio-osmotique de MITCHELL*: C'est le modèle admis par l'ensemble de la Communauté scientifique (Mitchell a obtenu le Prix Nobel en 1978 pour ces travaux).

A. La théorie chimio-osmotique

La théorie chimio osmotique de Mitchell propose *un couplage entre oxydation et phosphorylation* par un gradient de protons par la membrane interne mitochondriale

La *théorie chimio-osmotique* formulée par **Peter Mitchell** en 1961 postule que le gradient de concentration de protons crée à travers la membrane sert de réservoir d'énergie libre pour la synthèse d'ATP.

En d'autres termes, au fur et à mesure que les électrons traversent les quatre complexes de la chaîne de transport d'électrons, des protons passent de la matrice à l'espace intermembranaire et génèrent **un gradient de concentration de protons** qui constitue ce réservoir d'énergie libre.

En effet, quand ces protons repassent la membrane interne en traversant une protéine membranaire intrinsèque, **l'ATP synthase**, cette énergie libre est libérée et utilisée par l'enzyme pour synthétiser l'ATP.

En conséquence, la **matrice devient** :

- **plus alcaline** (différence de pH puisque $\text{pH} = -\log([\text{H}^+])$)
- **plus négative** (diminution de charges + puisque diminution du nombre de protons) que l'espace intermembranaire.

Le passage de 3 protons est nécessaire à la synthèse d'une molécule d'ATP

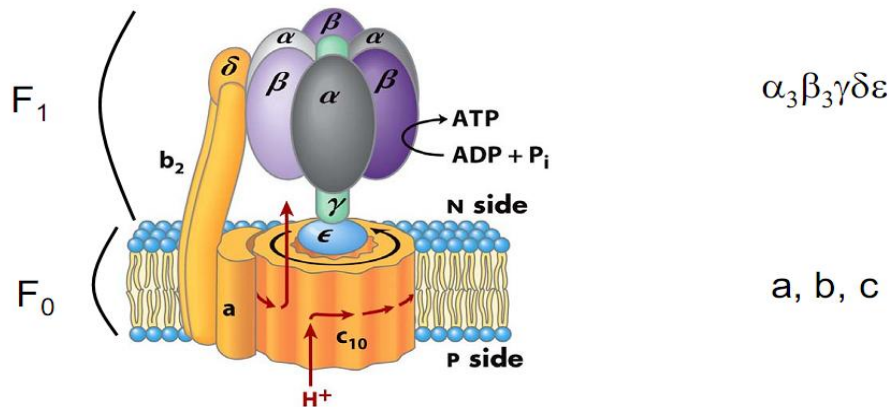
B. Le mécanisme de l'ATP-synthase

La première partie recevant les protons de l'espace intermembranaire est la *partie F₀, intermembranaire*.

Cette partie est constituée de 3 protéines : **a, b, c**.

a est porteuse de *b* (sortant dans la matrice) et est suivie de *c*, oligomère dont les 12 sous-unités disposées en canal forment le canal transmembranaire.

La seconde partie, mitochondriale, est **F₁**, tête enzymatique. Elle est liée en deux endroits à F₀. Elle est constituée de : **δ** (liée à *b*), **γ** (lié à *c*) à laquelle est accolée **ε**, **α** et **β** formant un cercle (3 sous-unités de chaque, en alternance). C'est la protéine β qui est responsable de la phosphorylation d'ADP en ATP.



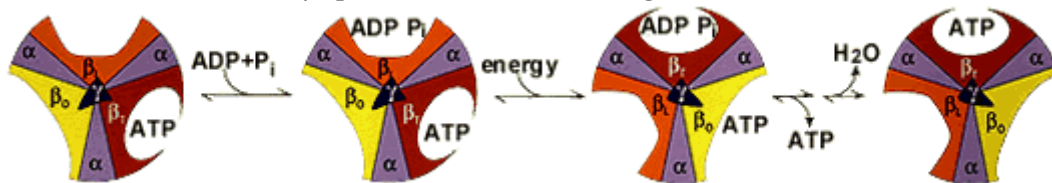
En fait l'ATP-synthase comporte un **mouvement rotatif intra-moléculaire** amenant à une étude fonctionnelle.

- **Le rotor** est constitué des enzymes *c*, *γ* et *ε*. Ce nom est justifié du fait que c'est l'énergie du flux de protons traversant le canal qui met la protéine *c* en mouvement.
- **Le stator** est constitué des protéines *a*, *b*, *δ*, *α*, *β*.

La rotation du rotor entraîne un cycle de transconformations des sous-unités *α* et *β*.

β étant ainsi activée, les phosphorylations sont effectuées et l'ATP est libéré dans la matrice mitochondriale. L'énergie du flux de protons est transférée au rotor puis convertie en énergie chimique par la phosphorylation de l'ADP.

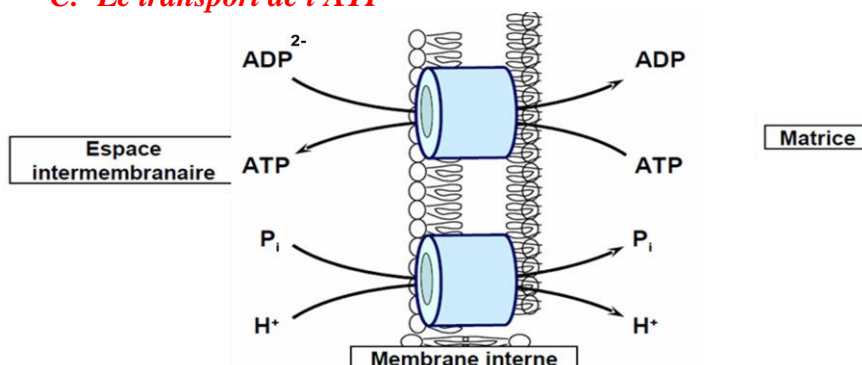
dans le schéma suivant, les états conformationnels adoptés par les sous-unités *β* sont appelés : *β_o* pour "ouvert" ("open"), *β_L* pour "relâché" ("loose") et *β_T* pour "à haute affinité" ("tight")



Le mécanisme décrit ci-dessus est le suivant :

- une molécule d'ATP **déjà synthétisée** est fixée à *β_T*
- *β_L* fixe une molécule d'ADP et de *P_i*
- le couplage entre la sous-unité *γ* et la sous-unité *c* de F₀ permet à **l'énergie apportée par la dissipation du gradient de concentration de protons de faire tourner la sous-unités *γ***
- la sous-unité *γ* ayant tourné, ***β_T* change de conformation en *β_o* et l'ATP déjà synthétisé est relargué**
- dans le même temps, *β_L* change de conformation en *β_T* et *β_o* change de conformation en *β_L*
- le *P_i* réagit avec l'ADP pour **former l'ATP au niveau de la sous-unité passée dans la conformation *β_T***
- le système est de nouveau dans la configuration générale de départ.

C. Le transport de l'ATP



L'ATP mitochondrial tout juste produit va passer dans le cytosol par un transporteur mitochondrial, en échange d'ADP., c'est *l'ATP/ADP-translocase*. Afin d'équilibrer les charges, *existe en parallèle une phosphatase-translocase faisant entrer un proton et un ion phosphate*.

D. Régulation de la chaîne respiratoire

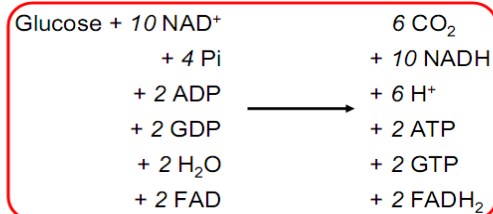
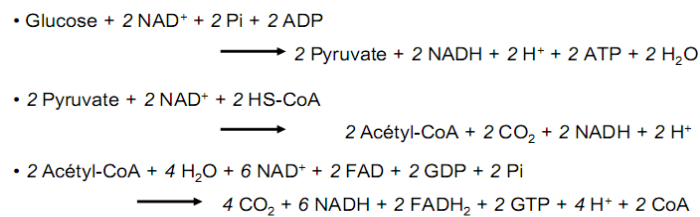
Comme vu précédemment, le déroulement de la chaîne respiratoire nécessite une *quantité suffisamment importante d'oxygène, NADH, H⁺, ADP*.

Plus les rapports NAD⁺/NADH, H⁺ et ATP/ADP, Pi sont faibles, plus la chaîne respiratoire est stimulée.

Les hormones thyroïdiennes exercent un *effet découplant*. La perméabilité aux H⁺ de la membrane est modifiée et l'ATP-synthase est alors court-circuitée. Il n'y a donc plus de lien entre chaîne d'oxydoréduction et phosphorylation, la thermogenèse s'effectue et explique l'augmentation du métabolisme de base.

E. Bilan en ATP

6. Bilan total glycolyse + cycle de Krebs



Or

Chaque NADH → 3 ATP

Chaque FADH₂ → 2 ATP

Glucose → (10NADH X 3) + (2FADH X 2) + 2ATP + 2GTP = **38 ATP**

ΔG° = -688 kcal / mole pour le glucose

Synthèse d'ATP = 38 × -7,3 = -277,4 kcal / mole

L'efficacité est de 100 × 277,4 / 688 = 40,3 %

60 % de l'énergie se retrouvent sous forme de *chaleur*

❖ *L'oxydation d'une molécule de palmitate* à 16 carbones est beaucoup plus rentable puisqu'on obtient 131 ATP :

— 96 ATP par l'oxydation de 8 actéyl-CoA,

— 35 ATP en 7 tours d'hélice de Lynen.

— Il faut néanmoins retirer 1 ATP pour l'activation du palmitate.

❖ *L'oxydation de corps cétoniques* (4C) donne 24 ATP pour l'acétoacétate oxydée, 27 ATP pour le 3-OH-butyrate.

❖ *L'oxydation de la glutamine* (5C) donne 24 ATP et celle de l'*éthanol* (2C) produit 28 ATP.

F. Inhibiteurs de la phosphorylation oxydative :

- *Oligomycine*
- *ionophores* (valinomycine / négricine)
- *Agents découplants* (2,4 Dinitrophénol / Thermogénine)