

## Introduction au métabolisme

La cascade de signalisation est le mécanisme par lequel une cellule répond à un signal (chimique, électrique,...). Elle aboutie à la réalisation d'activités cellulaires, par exemple, la synthèse de protéines. Elle se compose de trois phases :

1. La réception du signal extra-cellulaire par un récepteur.
2. La réalisation de voies de transduction càd d'un ensemble de processus cellulaires.
3. Réponse cellulaire.

Pour fonctionner, les cellules ont besoin d'énergie qu'elles extraient soit de :

La dégradation de molécules (chimiotrophe)	La photosynthèse (phototrophe)
--	--------------------------------

L'énergie libérée est stockée dans un nombre réduit de molécules telle que l'ATP ou NADPH. L'énergie chimiques pourra être libérée pour servir à :

- Créer des liaisons et fabriquer des molécules plus complexe à partir de plus simples.
- Lutter contre l'entropie (par exemple, le maintien d'un gradient chimique).

Rmq : c'est le même type de réactions qu'utilise les moteurs à combustion.

### Les molécules de stockage de l'énergie

Les molécules riches en énergie sont :

l'ATP	Les nucléotides triphosphate	Les dérivés nicotinamides
-------	------------------------------	---------------------------

L'ATP est formé d'un adénine et d'un ribose (adénosine) et de plusieurs groupements phosphates.

La rupture d'une liaison phosphate-phosphate libère 7,3 kcal/mol.

## Introduction aux réactions métaboliques

Le métabolisme possède deux composantes, les activités :

Anaboliques (synthèse de molécules)	Cataboliques (dégradation de molécules)
-------------------------------------	---

L'activité anabolique consiste à additionner de petites molécules simples pour en former des plus complexes. Cette opération nécessite de l'énergie.

Rmq : Une réaction thermodynamiquement impossible càd endergonique peut se dérouler si elle est couplée avec une réaction exergonique.

**Voie métabolique** successions de réactions intermédiaires qui permettent d'obtenir un produit.

Rmq : certains intermédiaires servent dans plusieurs voies métaboliques.

## Compartimentation de l'organisme

L'apparition des compartiments a permis :

- De faciliter la rencontre entre les substrats.
- à des réactions antagonistes de pouvoir se dérouler au même moment.

On trouve des compartiments à la fois au niveau :

- Cellulaire (Cellulaire mitochondrie, cytosol, lysosome, REL, peroxysome).
- Tissulaire (par exemple, le foie produit du glucose).

Rmq : Il est possible de catégoriser les organes en fonction de leur rôle : utilisateur, de stockage ou synthétiseur.

## Réaction

Pour qu'une réaction chimique est lieu, il faut que les molécules atteignent un niveau d'énergie plus élevé que celui initial appelé état de transition. Les réactions principales sont :

- Hydrolyse (hydrolase).
- Addition/élimination.
- Isomérisation (isomérase) transfert d'un groupement au sein d'une molécule.
- Transfert de groupe (transférase). C'est le transfert d'un groupement entre deux molécules.
- Oxydo-réduction (oxydoréductase). Elle utilise deux sortes de co-enzymes NADH et FADH<sub>2</sub>.
- Ligation (ligase) liaison entre deux substrats. Ce type de réaction nécessite de l'ATP.

Rmq : Les réactions avec un état de transition inférieur au niveau d'énergie inférieur sont spontanées et par définition, elles ont déjà eu lieu.

Les réactions font intervenir des transporteurs.

Particules échangées	Transporteurs
Groupe acyle (ex : cétone)	Coenzyme A
Électrons	NADH FADH <sub>2</sub>
Énergie	ATP

### **Les enzymes**

Les enzymes sont des protéines qui jouent le rôle de catalyseur. Elles servent à faciliter la réaction c'est-à-dire à augmenter sa vitesse en :

- Diminuant la barrière énergétique de la réaction.
- Facilitant la rencontre et le positionnement des groupements réactionnels.

On distingue deux structures :

Tertiaire	Quaternaire (enzyme allostérique)
-----------	-----------------------------------

Rmq : les quaternaires réagissent plus vite à une faible augmentation de leur substrat. Elles disposent d'une plage de concentration où elles ont une activité maximale.

La régulation de l'activité métabolique peut se faire par :

- La régulation de la quantité d'enzymes disponible. Elle dépend de l'activité de dégradation et de synthèse pré ou post traductionnel.
- La catalyse enzymatique. Par exemple, sur certaines protéines, l'ajout de groupement permet de modifier l'activité de l'enzyme. Les enzymes digestives sont activées par la coupure d'une partie de la protéine.
- L'accessibilité du substrat. Par exemple, la quantité de glucose dans la cellule dépend du nombre de molécules phosphorylées.

Les sites de contrôle sont souvent des étapes irréversibles.

### **Régulation des enzymes**

Le rétrocontrôle enzymatique peut être :

Positif	Négatif (ou inhibiteur)
---------	-------------------------

L'inhibiteur peut être réversible ou irréversible. Dans le deuxième cas, le site de liaison est permanent.

### **La catabolisme**

Le catabolisme consiste en :

1. La dégradation de macromolécules en petites unités :
  - a. Les lipides en acide gras et glycérol par les lipases.
  - b. Les protéines en acides aminés par les protéases.
  - c. Les polysaccharides (polymère de sucres) en glucose et sucre simple par les glycosidases.
2. Une partie des plus petites unités sont transformées appelées métabolites comme le pyruvate ou l'acétyl co-A.
3. L'oxydation complète de l'acétyl CoA pour produire les molécules énergétiques notamment l'ATP. Cette étape est celle du cycle de l'acide citrique et de la phosphorylation oxydative.

La dégradation des protéines, elles sont dénaturées par la diminution du pH puis découpées en AA grâce aux peptidases.

Rmq : seul ADN, ARN dégradés par les nucléases en nucléotides ne sont pas utilisés pour fabriquer de l'énergie.

Le pyruvate sera utilisé dans une voie suivante :

- Fermentation alcoolique
- Respiration aérobie.
- La production de lactate dans les cellules musculaires.

---

## Métabolisme du glucose

Le sucre entre dans la fabrication de nombreux constituants comme les graisses, les aa, les nucléosides.

### Le métabolisme associé aux glucoses

Les glucides et les polymères de glucides sont généralement dégradés en glucose pour servir à :

- oxydation par la voie des pentoses P
- Oxydation par glycolyse
- Mise en réserve
- Synthèse de polymères structuraux

Le glucose circule dans les cellules par diffusion facilitée grâce à des transporteurs GLUT. Le glucose ne peut plus circuler par les transporteurs lorsqu'il est transformé en glucose-6-phosphate qui sert alors à :

- À la glycolyse pour produire du pyruvate enzyme hexokinase.
- soit être déphosphorylées par une glucose-6-phosphatase présente dans le foie et les reins pour redevenir du glucose. Relâché du glucose dans le sang contribue à la glycémie. La régulation de la glucose-6-phosphatase se fait par une hormone, le glucagon

**Glycogénolyse** sert à fabriquer du glucose-6-phosphate à partir du glycogène.

### Production de glucose-6-phosphate

Dégradation du lait (dissaccharide : Glucose + Galactose,) Galactose

Fructose

Glucose

### Glycolyse

La glycolyse est l'ensemble de réactions qui permettent de transformer le glucose-6-phosphate en pyruvate. Le procédé génère 2 ATP net.

#### La glycolyse du sucre en pyruvate

La glycolyse à produire deux molécules de pyruvates. La réaction consiste à :

1. La molécule de glucose est scindée en deux pyruvate dans le cytosol.
2. Transport du pyruvate dans les mitochondries.
3. Oxydation du pyruvate en acétyl-CoA
4. où la molécule qui n'est pas du pyruvate est oxydée pour devenir du pyruvate.

Rmq : le CO<sub>2</sub> que l'on libère est un déchet de la respiration cellulaire.

La glycolyse du sucre en pyruvate comporte trois étapes :

1. Activation du sucre
2. Clivage
3. Récupération et oxydation

Deux voies cataboliques permettent de réaliser la glycolyse en :

Absence d'oxygène, la fermentation	Présence d'oxygène, le cycle de Krebs et la phosphorylation oxydative
------------------------------------	---

Sucre de carburants (ex lactose), formation du pyruvate.

**Gluconéogénèse** production de glucose à partir de précurseur comme le glycérol, le lactate, les acides aminés.

Deux pyruvates permettent de produire une molécule de glucose. Produit dans des tissus spécialisés (foie et les reins).

Cycle de Krebs (ou cycle de l'acide citrique)

la dégradation des glucides, des lipides et des protéines, pour en récupérer l'énergie

NADH et l'ubiquinol

**Production d'ATP**

**La glycolyse est régulée par trois enzymes de type irréversible :**

Hexokinase (l'hexokinase dans le foie et les reins).

Phosphofructokinase

Pyruvate kinase

l'AMP

## **Mitochondrie**

La mitochondrie est composée de :

Une membrane externe est perméable protéines canaux = porine, transporteur laisse passer les protéines (TOM et TIM)

Une membrane interne comportant de nombreux replis appelés crêtes qui augmente sa surface. C'est le lieu de la chaîne respiratoire.

La Matrice mitochondriale qui contient notamment de l'ADN et des ribosomes servant à la synthèse de protéines spécifiques.

## La respiration cellulaire

La respiration cellulaire consiste à extraire l'énergie du glucose en utilisant du dioxygène pour recharger l'ADP en ATP. Elle se fait par trois voies :

Numéro	1	2	3
Étape	La glycolyse	Le cycle de l'acide citrique	la phosphorylation oxydative
Type de métabolique	Catabolique	Catabolique	Anabolique
Lieu de la réaction	Cytosol	Mitochondrie	Mitochondrie
Présence d'O <sub>2</sub>	Anaérobie	Anaérobie	Aérobie

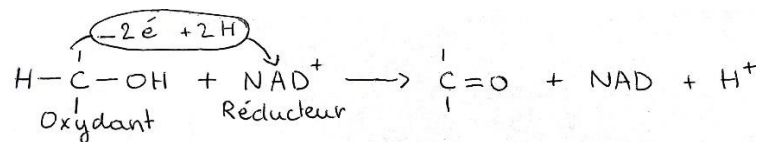
L'énergie stockée dans l'ATP pourra être libérée pour réaliser :

- Les mouvements des flagelles
- Le transport actif de solutés
- La polymérisation
- La contraction musculaire

La respiration utilise des réactions d'oxydo-réduction c'est-à-dire de transfert d'électrons.

Lorsqu'un électron est attiré par un atome électronégatif, il libère de l'énergie. La réaction est spontanée  $\Delta G < 0$  car l'état énergétique de la molécule diminue par rapport à celui initial.

Les enzymes se chargent d'abaisser la barrière énergétique.



Rmq : le NAD<sup>+</sup> est un dérivé de la vitamine B<sub>3</sub>.

La réaction est catalysée par une enzyme appelée déshydrogénase. L'énergie d'activation permet d'éviter que toutes les réactions se produisent simultanément.

La libération de l'énergie se fait progressivement au cours d'une chaîne de transport d'électrons en plusieurs étapes avec une faible perte d'énergie potentielle électronique.

### Chaîne de transport

La chaîne de transport avec comme substrat les produits des deux premiers stades.

Pour permettre la libération progressive de l'énergie, les électrons sont transférés par une succession de transporteurs dont le niveau d'électronégativité augmente au fur et à mesure de ce qui a pour effet d'attirer les électrons au transporteur suivant. L'affinité électronique des transporteurs augmente au fur et à mesure de son paroxysme avec le dioxygène. À la fin le proton (H<sup>+</sup>), les électrons et O<sub>2</sub> se combinent pour former de l'eau. L'énergie libérée sert notamment à produire de l'ATP par un mode de synthèse appelé phosphorylation oxydative. Au total, l'énergie libérée durant le transport est de -222 kJ/mol.

Rmq : la réaction utilise le même principe que la réaction se produisant sous la forme d'une explosion comme pour les fusées où le combustible utilisé est H<sub>2</sub> et O<sub>2</sub> produit forme de l'H<sub>2</sub>O.

Les protéines membranaires qui forment la chaîne de transport sont insérées pour les :

Eucaryotes dans la membrane des mitochondries.	Procaryotes dans la membrane plasmique.
--	---

## La respiration cellulaire

Une molécule de glucose permet de produire 32 molécules d'ATP.

**Chimiosmose** processus d'utilisation du gradient électronique pour effectuer un travail.

C'est la chimiosmose qui permet la synthèse de l'ATP.

Une déshydrogénase apporte deux hydrogènes avec leur électron au  $\text{NAD}^+$ . Elle le réduit en NADH et libère un proton dans le milieu. Le NADH apporte les électrons au début de la chaîne de transport.

### **Respiration cellulaire**

La respiration cellulaire est composée de :

1. Du cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs).
2. La phosphorylation oxydative

Rmq. : la glycolyse est le mécanisme qui génère la majorité de l'énergie dont la cellule aérobie tire leur énergie.

Début du cycle de l'acide citrique

Le cycle de l'acide débute par le transfert d'électron à  $\text{NAD}^+$  grâce à déshydrogénases

À la fin, le proton se combine à  $\text{O}_2$  pour former de l'eau ?

L'énergie libérée par les électrons dans les chaînes est utilisée pour produire de l'ATP à divers stades :

- Glycolyse
- Cycle de l'acide citrique (les deux phosphorylation au niveau du substrat) enzyme qui catalyse

Une mole de glucose permet de produire en moyenne 32 mole ATP.

La phosphorylation oxydative (transport d'électron et chimiosmose) la ou 90% de l'ATP est produit.

Le glucose est scindé en deux puis oxydé. A la fin de la réaction, deux molécules de pyruvates.

Le processus produit net 2 ATP et 2 NADH avec leur  $\text{H}^+$ . Il nécessite un investissement deux molécules d'ATP pour être initié. Les étapes

1. Ajout d'un groupement phosphate plus réactif et empêche la sortie du glucose coûte 1 ATP.
2. Transfert d'un groupement au sein de la molécule pour produire un fructose.  
Ajout d'un nouveau groupement phosphate coûte 1 ATP.

Protéine transformée en acide organique (le groupement azote est perdu).

Lipides en glycérol et acide gras.

Glycogène emmagasiner dans le foie (cellule hépatique) et dans les muscles

L'acide gras en morceaux de deux carbones (groupement acétyle) au cours de la bêta oxydation dans la mitochondrie produisant de l'acétyl coA. Au cours des réactions il y a production de  $\text{FADH}_2$

2 fois plus d'énergie que le sucre. Il faut deux fois plus de temps pour faire disparaître la graisse que le sucre.

Modifier pour produire des acides aminés à partir du acétyl-coA

Du glucose à partir du pyruvate.

Dihydroxyacétone un intermédiaire de la glycolyse peut être convertie en matière grasse

Des mécanismes de rétro inhibition permettent le contrôle de différents cycles. Adaptable aux besoins cellulaires

### **Chaine de transport**

Les chaines de transport d'électrons sont enchassées dans la membrane mitochondrienne.

Par exemple, les cellules cardiaques en contiennent en moyenne 20 000.

La chaine de transport est constituée de quatre complexes multiprotéiques associés à des groupements non protéiques appelé (prosthétique). Ils sont essentiels au fonctionnement des enzymes.

Les électrons passent successivement à des accepteurs :

1. Le premier accepteur est flavine mononucléotide (FMN)
2. Le second accepteur est Fe-S
3. Plusieurs ubiquinone (appelé aussi coenzyme Q) qui est mobile.
4. Des protéines appelées cytochromes qui possède un atome de Fer.
5. À la fin avec l'oxygène du  $O_2$ . Les électrons se combinent et deux hydrogènes pour former de l'eau.

Rmq. : FADH peut remplacer NADH en donnant ses électrons mais cela à un niveau inférieur de la chaine. Les électrons produiront alors moins d'énergie (33%).

### **ATP synthase**

Gradient ionique cad les charges qui attirent les protons.

Le gradient est généré par les protéines situées dans la chaine de transport qui font passer les protons dans le lumen intermembranaire. L'ATP est générée par la force protonmotrice.

Entre 26 et 28 molécules d'ATP au maximum en négligeant les pertes et l'utilisation faites du gradient  $H^+$  dans d'autres processus. La glycolyse a un rendement de 34% comparativement au moteur de voiture qui est de 25%.

Rmq. : Une partie de l'énergie dissipée sous forme de chaleur sert au maintien de notre température corporelle.

### **Produire de l'énergie en absence de dioxygène**

La respiration fait intervenir une chaine de transport d'électron. Un autre accepteur l'ion sulfate  $SO_4^{2-}$  déchet est  $H_2S$  (qui confère une odeur d'œuf pourri).

En absence d'oxygène, le dernier accepteur ne peut plus être le dioxygène, une autre molécule doit servir de dernier accepteur.

Deux types

La respiration cellulaire anaérobie	La fermentation
-------------------------------------	-----------------

Le dioxyde de carbone est converti en méthane

### **Fermentation**

La fermentation est le prolongement de la glycolyse. Elle permet de produire deux molécules d'ATP pour permettre la régénération de  $NAD^+$ .

Le pyruvate est transformé pour devenir un accepteur d'électron et régénérer le  $NAD^+$ .

Deux type de fermentation

Alcoolique qui produit 2 éthanol.	lactique qui produit 2 lactate.
-----------------------------------	---------------------------------

La fermentation alcoolique libère deux  $CO_2$ .

Pyruvate se fait réduire directement

Les cellules musculaires produisent de l'ATP en utilisant la fermentation lactique lorsque l'oxygène vient à manquer. C'est notamment le cas lorsque l'on débute une activité physique.

Le lactate est ensuite transporté au foie pour être converti en pyruvate.

Il semblerait que la glycolyse est une origine ancienne. Elle serait apparue avant que l'atmosphère soit devenu saturer de dioxygène.

## Le métabolisme associé aux lipides

1. Au cours de la digestion, les lipides intègrent les cellules de la paroi intestinale, les entérocytes.
2. Les acides gras et le glycérol s'assemblent pour former des tryclicérides.
3. Ils sont entourés par un complexe formé de lipides et de protéines appelé chylomicron pour permettre leur transport.
4. Il passent par la voie lymphatique où ils mûrissent pour devenir des lipoprotéines de haute densité (HDL). La partie protéique est remplacée par une nouvelle : l'apolipoprotéines.

### 5. Le HDL est d

Transport lipoprotéines

**Chylomicrons (CM)** structure de protéines et de lipides formant une vésicule et entourant les triglycérides.

Very Low density Lipoproteins (VLDL)

Apolipoprotéine stabilisé l'ensemble

1. Au niveau des tissus adipeux, il y a des lipases sur la membrane plasmique du côté du lumen des veines. Elles hydrolysent les lipides qui vont dans les adipocytes.

Il existe deux types de lipoprotéines :

du foie vers les adipocytes et LDL

Produit par l'intestin

Transport TG

Issue

BMC

Lipotéine lipase induit mise en réserve d'acides gras.

La libération des lipides survient en réponse à certaines hormones, par exemple, l'adrénaline qui transportée dans le sang par une protéine, l'albumine. Voie de transduction adrénaline

## Production d'énergie à partir d'acides gras

La production d'énergie à partir des acides gras (AG)

Acide gras production d'énergie réaction de Beta-oxydation

Lieu mitochondrie

1. Les AG sont activés par l'ajout d'un Co AG + co-A Le produit formé s'appelle l'acétyl-coA.
2. La translocation de l'acyl-coA dans les mitochondries c'est le passage de la membrane mitochondriale. Elle a lieu La carnitine transporte l'acétyl par une translocase réalise l'échange entre le cytosol et la mitochondrie.
3. La Beta oxydation de l'acyl-coA en acétyl coA. Elle a lieu par quatre réactions successives :
  - a. La perte de deux carbones et l'oxydation FAD
  - b. Hydratation
  - c. L'oxydation  $NAD^+$
  - d. La coupure (thiolyse) par Co-A.

Corps cétonique

Produit par le foie glucose Néoglucogénèse

La néoglucogénèse permet la production d'oxaloacetate

Formation des corps cétoniques

C'est la production d'acétone qui confère à l'haleine une odeur rance lors d'un jeûne.



75% des besoins du cerveau.

Le foie dépourvue d'actyl Co A intermédiaire centrate

Cycle de Krebs produit oxalocétate à partir d'acétyl coA

Acétyl co A synhtèse AG, AA, purine, pyrimidine.

Page 30

Phosphorilation oxydative produit ATP par le transfert d'électrons (FADH<sub>2</sub>, NADH à O<sub>2</sub>)

## Les méthodes d'études des protéines

identification de protéines spécifiques

Vocabulaire

Ne pas utiliser le terme tache. On parlera de

Bande ou spot.

**Dialyse** technique consistant à diminuer la concentration de molécule en créant un gradient chimique.

**Chromatographie** ensemble de méthodes qui permettent la séparation de composants chimiques

**Focalisation isoléctrique (IEF)** méthode qui permet de séparer les composés chimiques en fonction de leur point isoélectrique.

Westernblot (ou transfert de protéines) est une méthode combinatoire qui se réalise en différentes étapes :

1. Électrophorèse sur gel
2. Transfert sur membrane
3. Coloration des protéines

## Chromatographie

Il existe quatre types de chromatographie permettant de filtrer par :

- D'exclusion (poids moléculaire kDa)
- D'affinité ().
- D'échange d'ions.
- Sur couche mince.

Rmq. : il existe une chromatographie similaire l'échange d'ions qui utilisent des anticorps à la place des ions.

### Chromatographie d'échanges d'ions

Les protéines sont mises dans une colonne échangeuse avec des billes avec une charge opposée à la protéine d'intérêt. Les deux

Plusieurs lavages L'ajout de l'analyte

Élution qui sépare toutes les molécules des billes.

Élution permet de casser les interactions faibles càd de type

Hydrogènes	Van Deer Val
------------	--------------

## Électrophorèse

Électrophorèse en gel de polyacrylamide contenant du dodécysulfate de sodium (PAGE SDS) Taille

L'électrophorèse 2D consiste à réaliser une séparation en fonction du point isoélectrique puis une séparation par la taille.

Point isoélectrique

### **Focalisation isoléctrique (IEF)**

## Méthode révélation

Pour révéler la présence de protéines, il est possible d'utiliser la coloration par :

Bleu de Coomassie (non spécifique )	Antigène (spécifique)
-------------------------------------	-----------------------

Épitope région de fixation de l'anticorps.