

Introduction au métabolisme

La cascade de signalisation est le mécanisme par lequel une cellule répond à un signal (chimique, électrique...). Elle aboutit 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 c-à-d d'un ensemble de processus cellulaires.
3. La réponse cellulaire.

État stationnaire les concentrations en composés restent stables. Elles sont maintenues par la cellule grâce à des échanges de matière et d'énergie.

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 chimique pourra être libérée pour servir à :

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

Les molécules de stockage de l'énergie

Les molécules riches en énergie sont :

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

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

La rupture d'une liaison phosphate-phosphate comme pour l'hydrolyse de l'ATP libère $G^{0'} = 30,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1} = 7.3 \text{ kcal} \cdot \text{mol}^{-1}$ en condition standard (1 atm et 25 °C) et $G^{0'} = -50 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ à 37 °C.

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

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

Rendement biomasse formée (g)/substrat consommé

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 c-à-d 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.

Compartmentation 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 dans la cellule.

On trouve des compartiments à la fois au niveau :

- Cellulaire (Cellulaire mitochondrie, cytosol, lysosome, REL, peroxyosome).
- 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) transfère 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 FADH₂.
- Ligation (ligase) liaison entre deux substrats. Ce type de réaction nécessite de l'ATP.

Rmq. Les réactions où l'état de transition est inférieur au niveau d'énergie 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 ₂
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 disponibles. Elle dépend de l'activité de dégradation et de synthèse pré ou post traductionnel.
- La catalyse enzymatique. Par exemple, l'ajout de groupement sur certaines protéines permet de modifier l'activité de l'enzyme comme pour les enzymes digestives adoptent leur conformation active à la suite d'une 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 sur le site actif (compétitif) ou non.

La catabolisme

Le catabolisme consiste en :

1. La dégradation de macromolécules en petites unités :
 - Les lipides en acide gras et glycérol par les lipases.
 - Les protéines en acide aminées par les protéases.
 - 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-coA. Par exemple :
 - 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.
 - Le pyruvate sera utilisé dans la fermentation alcoolique, la respiration aérobie et la production de lactate dans les cellules musculaires.

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

Rmq : seuls les nucléotides issus de la dégradation de ADN, ARN par les nucléases ne peuvent pas être utilisés pour fabriquer de l'énergie.

La respiration cellulaire

La respiration cellulaire consiste à extraire l'énergie du acétyl-CoA en utilisant du dioxygène pour recharger l'ADP en ATP. Elle a lieu dans les mitochondries et est composée de :

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

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

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

Rmq : la glycolyse est le mécanisme qui génère la majorité de l'acétyl-coA et donc de l'énergie dans les cellule aérobies. Une mole de glucose permet de produire en moyenne 32 moles ATP.

Production d'acétyl coA pour le cycle de l'acide citrique

Le cycle de l'acide citrique à comme substrat l'acétyl-coA. Il est produit à partir

- De l'oxydation du glucose.
- D'acide gras en morceaux de deux carbones (groupement acétyl) au cours de la bêta oxydation dans la mitochondrie produisant de l'acétyl-coA. Au cours des réactions il y a production de FADH₂.

Rmq : Une partie de l'acétyl-coA est modifiée pour produire certains acides aminés.

Rmq : une acide gras contient 2 fois plus d'énergie que le sucre. Il faut deux fois plus de temps pour faire disparaître la graisse que le sucre.

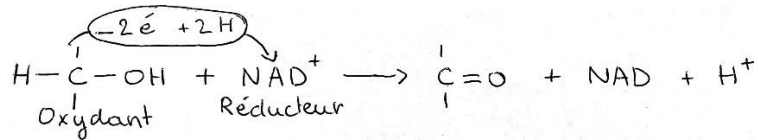
Le cycle de l'acide citrique

Le cycle de l'acide citrique transforme 3 NAD⁺ en 3 NADH et un FAD⁺ en FADH₂ qui serviront à la phosphorylation oxydative pour créer le gradient de H⁺ via la chaîne de transport. Il libère également deux CO₂.

Le cycle se déroule en :

1. L'acétyl-coA est ajouté à une molécule d'oxaloacétate pour produire du citrate.
2. Les électrons sont apportés au NAD⁺ par la déshydrogénase. Ils forment du NADH.

3.



Rmq. : le NAD^+ est un dérivé de la vitamine B₃.

La réaction est catalysée par une enzyme appelée déshydrogénase.

Phosphorylation oxydative

La phosphorylation oxydative est l'étape qui produit 90% de l'ATP. Il est composé de deux étapes :

- La chaîne de transport d'électrons qui crée le gradient de H^+ .
- La chimiosmose qui phosphoryle l'ADP en ATP.

Libération de l'énergie lors qu'une réaction d'oxydoréduction

La respiration utilise des réactions d'oxydo-réduction c'est-à-dire de transfert d'électrons. Ce sont le NADH (et le FADH) qui apportent les électrons à la chaîne de transport. Les électrons sont attirés par des atomes de plus en plus électronégatifs.

Chaîne de transport

La chaîne de transport permet 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 ce qui a pour effet d'attirer les électrons au transporteur suivant. Son paroxysme est atteint en fin de chaîne avec le dioxygène. Il se combine avec quatre protons (H^+) et quatre électrons pour former deux molécules d'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.

Les chaînes de transport d'électrons sont enchâssées dans :

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

Elles sont constituées d'une succession de trois complexes multiprotéiques notés I, III, IV en passant par des accepteurs. Les électrons sont apportés par NADH au complexe I. Ils passent successivement entre les accepteurs :

1. La flavine mononucléotide (FMN).
2. Le second accepteur est Fe-S.
3. I et III (ou II et III pour le FADH). Les électrons sont apportés par les ubiquinones appelés également coenzyme Q. Elles sont mobiles dans la membrane.
4. III et IV protéines transférées par les cytochromes. Elles possèdent un atome de Fer.
5. À la fin les électrons se combinent avec le dioxygène O_2 (accepteur final) et deux H^+ pour former de $2\text{H}_2\text{O}$.

Rmq. : FADH peut remplacer NADH en donnant ses électrons au complexe II qui ne produit pas de gradient. Les électrons produiront 33% d'énergie en moins.

Rmq. : le cyanure est un inhibiteur des cytochromes.

Les complexes multiprotéiques sont associés à des groupements non protéiques appelés (prostétiques).

Phosphorylation oxydative

La phosphorylation oxydative utilise le gradient ionique créé par les charges qui attirent les protons.

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

Entre 26 et 28 molécules d'ATP au maximum en négligeant les pertes et l'utilisation faites du gradient H^+ dans d'autres processus.

Bilan

La glycolyse a un rendement de 34% comparativement au moteur de voiture qui est de 25%. En comptant la glycolyse, une molécule de glucose permet de produire 32 molécules d'ATP.

Rmq. : Une partie de l'énergie est dissipée sous forme de chaleur n'est pas totalement perdue puisqu'elle sert au maintien de notre température corporelle.

La respiration cellulaire anaérobie

En absence de dioxygène, l'accepteur final peut être substitué par l'ion sulfate SO_4^{2-} qui se combine pour former du H_2S (qui confère une odeur d'œuf pourri).

Métabolisme du glucose

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

- Oxydation par la voie des pentoses P.
- Oxydation par glycolyse.
- Mise en réserve sous forme de glycogène dans le foie et les muscles.
- Synthèse de polymères structuraux.

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

- À la glycolyse pour produire du pyruvate enzyme exokinase.
- 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.

Les sources de glucose

Le glucose-6-phosphate peut être fabriqué à partir de la dégradation de :

Du lait (disaccharide : Glucose + Galactose)	Galactose	Fructose
---	-----------	----------

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

Gluconéogenèse production de glucose à partir de précurseurs comme le glycérol, le lactate, les acides aminés.

Néoglucogénèse

La glycogénèse est une voie métabolique qui permet la production de glucose (produit) à partir de deux pyruvates pour maintenir la glycémie constante. Ils serviront notamment aux globules rouges qui ne peuvent produire leur énergie que par fermentation lactique.

La glycogénèse est régulée par une hormone le glucagon.

Rmq. : Elle est particulièrement active en cas de jeûne.

Plusieurs précurseurs :

- certains acides aminés
- le lactate
- le glycérol (production de corps cétoniques qui confère à l'haleine une odeur rance).
- le pyruvate

Trois organes sont capables de réaliser la glycogénèse : foie (principalement), rein et intestin.

La glycogénèse est particulièrement importante pour certaines cellules comme celles présentes dans le cerveau qui ne sont pas capable de produire leur énergie à partir d'autres molécules que le glucose.

Glycolyse

La glycolyse est l'ensemble des réactions qui permet de transformer le glucose-6-phosphate en deux pyruvates : $C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2 C_3H_3O_3^-$

Le procédé génère 2 ATP net et un NADH. Le pyruvate peut alors être utilisé pour la respiration cellulaire dans les mitochondries.

Le NADH entre dans la mitochondrie :

- par un système de navette. Le NADH sert à transférer l'oxaloacétate en malate. Ce dernier rentre dans la mitochondrie puis retransformer en oxaloacétate pour régénérer de l' $NADH$.
- Transformer en $FADH_2$ par l'intermédiaire de la navette G3P/DHAP

Rmq : La glycolyse est le seul moyen des globules rouges pour produire de l'ATP car ils ne possèdent pas de mitochondries.

La réaction consiste à :

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

La glycolyse est régulée par trois enzymes de type irréversible :

- Hexokinase (l'hexokinase dans le foie et les reins).
- Phosphofructokinase
- Pyruvate kinase

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 (exemple, le lactose), formation du pyruvate.

Le glucose est scindé en deux puis oxydé. Le produit final est deux molécules de pyruvates.

Le processus produit net 2 ATP et 2 NADH avec leur 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.
3. Ajout d'un nouveau groupement phosphate coûte 1 ATP.

Le début de la glycolyse est le départ de voies de synthèse de nombreux composés comme les ribuloses pour la fabrication des nucléotides ou des triglycérides.

La fermentation

La fermentation est le prolongement de la glycolyse. Elle permet de produire deux molécules d'ATP. Le pyruvate est transformé pour devenir un accepteur d'électron en utilisant du NADH qui est ainsi transformé en NAD^+ qui peut à nouveau servir dans la glycolyse.

Il existe deux types de fermentation :

Alcoolique qui produit de l'éthanol. $C_3H_3O_3^- \rightarrow C_2H_4O + -CO_2 \rightarrow CH_3OH$	Lactique qui produit du lactate. $C_3H_3O_3^- \rightarrow C_3H_5O_3^-$
--	---

Dans la fermentation alcoolique, le pyruvate libère deux CO_2 avant d'être réduit contrairement à la fermentation lactique où il est directement réduit.

Effet de Crabtree La concentration de glucose régule les enzymes de la respiration. Lorsqu'elle est trop élevée, ces dernières sont inhibées. C'est notamment le cas pour les levures. Par exemple, dans la vinification un raisin bien mur et riche en sucre permettra la fermentation et production d'alcool.

Fermentation lactique

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 fût saturée en dioxygène.

Il existe trois types de fermentation lactique :

Fermentation	Déchets métaboliques	Espèces
Homolactique	H ⁺	streptocoques
Hétérolactique	CO ₂ et H ⁺	lactobacilles
Acéto-lactique	acide lactique et acétique	bifidobacterium

fromage

La fermentation

La fermentation acétique : alcool → vinaigre

Le métabolisme associé aux lipides

Le traitement

1. Au cours de la digestion, les triglycérides découpés en acides gras et le glycérol et les autres molécules liposolubles comme le cholestérol traversent la paroi des cellules intestinales, les entérocytes.
2. À l'intérieur de la cellule, les acides gras et le glycérol s'assemblent pour former des triglycérides.
3. Les lipides sont entourés par un complexe formé de lipides et de lipoprotéines appelé chylomicron pour permettre leur transport.
4. Les chylomicrons sont acheminés vers les tissus pour la production d'énergie et le stockage (adipocyte).
5. Les chylomicrons qui n'ont pas été utilisés sont traités par le foie.

Les apolipoprotéine servent à stabiliser le complexe.

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

Stockage et libération des acides gras

Les acides gras sont stockés dans les cellule adipeuses :

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.

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 transformation en pyruvate à lieu dans la mitochondrie par une réaction de Beta-oxydation :

1. Les AG sont activés par l'ajout d'un Co pour former de l'acétyl-CoA. Dans le cytosol Le produit
2. La translocation de l'acyl-coA dans les mitochondries càd le passage de la membrane mitochondrienne. Elle a lieu grâce à une translocase. L'acétyl-coA est transporté par un carnitimn.
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 CoA.

Les méthodes d'études des protéines

Les méthodes d'études des protéines servent notamment à identifier les protéines.

Pour dénaturer (déplier) une protéine, deux types de substances :

- Des agents réducteurs qui suppriment les ponts disulfures
- Dénaturants chargés de supprimer les liaisons non covalentes (hydrogène ou Van der Vaal).

Vocabulaire

Ne pas utiliser le terme tache. On parlera de bande ou de spot.

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

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

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

Lyophiliser méthode qui consiste à retirer l'eau d'un produit en le congelant puis en faisant évaporer la glace par une baisse de la pression.

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

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

Chromatographie

Il existe quatre types de chromatographie permettant de filtrer par :

- d'exclusion qui sépare en fonction de la taille et de la forme appelé poids moléculaire en kDa.
- D'affinité qui filtre par affinité avec un ligand. Les composés se détachent progressivement (élus).
- D'échange d'ions. Des billes chargées retiennent les molécules d'intérêt et sont élués progressivement.
- Sur couche mince.

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

Chromatographie d'exclusion

Les molécules passent dans des billes percées. Plus la molécule est grosse plus elle sortira vite. On a une relation linéaire entre log de la taille en fonction du volume élué. K_a coefficient de partage

v_{mort} volume d'élution des plus grosses molécules, celles qui ne peuvent pas entrer dans les billes.

$$K_a = \frac{v_{\text{élué}} - v_{\text{mort}}}{v_{\text{total}} - v_{\text{mort}}}$$

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 protéines sont détachées progressivement par plusieurs lavages (le solvant est appelé analyte).

L'élution qui sépare toutes les molécules des billes permet de casser les interactions faibles càd de type :

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

Électrophorèse

Il existe plusieurs types d'électrophorèse :

- en gel de polyacrylamide contenant du dodécylsulfate de sodium (PAGE SDS) Taille
- Focalisation isoélectrique (IEF) sépare par la charge électrique.

L'électrophorèse 2D consiste à réaliser :

une séparation en fonction du point isoélectrique	une séparation par la taille.
---	-------------------------------

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.

Purification de protéines

La purification se fait

Activité spécifique activité totale de la protéine étudiée par rapport à la quantité de protéines présente.

Rendement activité de la protéine de l'étape par rapport à l'activité de départ.

Facteur de purification activité spécifique de l'étape par rapport à celle de départ.

Rappel et synthèse de thermodynamique et de chimie en solution :

Température en K = 273+T C°

Vrai pour toutes réactions !!!!

- A l'équilibre càd quand les concentrations n'évoluent plus $\Delta G^{0'} = -RT \cdot \ln(K_{eq})$
- $\Delta G^0 = \Delta G^{0'} + RT \cdot \ln(K)$

En plus pour les réactions d'oxydoréduction

- ΔE différence de potentiel entre le couple.
- $\Delta G = -n \cdot F \cdot \Delta E$ avec n le nbre d'électrons échangés.

Le transport entre deux compartiments

- $\mu_i = \mu_0 + R \cdot T \cdot \ln[S] + z \cdot F \cdot E$ (Equation de Nest) elle donne le potentiel.
- $\Delta G = R \cdot T \cdot \ln \frac{final}{initial} + z \cdot F \cdot E_{membranaire}$ avec E le potentiel entre les compartiments et z la charge de la particule échangée.

NB: les formules d'oxydoréduction et de Nerst se ressemblent car le premier est calculé grâce au deuxième.