

## 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.

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 maintenir 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 libère 7,3 kcal/mol. Hydrolyse de l'ATP en condition standard (1atm et 25 °C)  $G^{\circ} = 30,5 \text{ kJ.mol}^{-1}$

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

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

## 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.

## 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 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) 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 où l'état de transition est inférieur au niveau d'énergie sont spontanée 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, l'ajout de groupement sur certaines protéines 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 :
  - Les lipides en acide gras et glycérol par les lipases.
  - Les protéines en acides aminés 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.

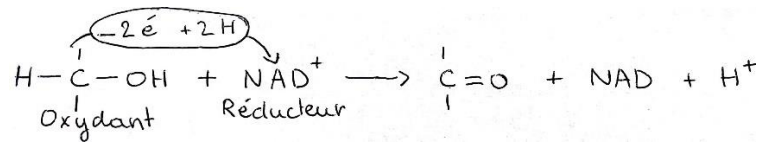
Rmq : seuls les nucléotides issus de la dégradation de ADN, ARN par les nucléases ne peuvent pas être utilisés pour fabriquer de l'énergie.

### 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.

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  $\text{NAD}^+$  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 ce qui a pour effet d'attirer les électrons au transporteur suivant. L'affinité électronique des transporteurs augmente au fur et à mesure son paroxysme avec le dioxygène. À la fin le proton ( $\text{H}^+$ ), les électrons et  $\text{O}_2$  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 -222kJ/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  $\text{H}_2$  et  $\text{O}_2$  produit forme de l' $\text{H}_2\text{O}$ .

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

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 libérée 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 cellules 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 a comme substrat l'acétyl-coA. Il est produit à partir

- Pour le glucose l'oxydation
- L'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 FADH<sub>2</sub>

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

Rmq. : un 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<sup>+</sup> en 3 NADH et un FAD<sup>+</sup> en FADH<sub>2</sub> qui serviront à la phosphorylation oxydative pour créer le gradient de H<sup>+</sup> via la chaîne de transport. Il libère également deux CO<sub>2</sub>.

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<sup>+</sup> par la déshydrogénase
3. ....

### **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<sup>+</sup>.
- La chimiosmose qui phosphoryle l'ADP en ATP.

#### **La chaîne de transport**

Les chaînes de transport d'électrons sont enchâssées dans la membrane mitochondriale. 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 à des accepteurs situés entre :

1. Le premier accepteur est flavine mononucléotide (FMN)
2. Le second accepteur est Fe-S.
3. I et III (ou II et III pour le FADH) pour les ubiquinones (appelé aussi coenzyme Q). Elles sont mobiles dans la membrane pour pouvoir apporter l'électron au complexe III.
4. III et IV protéines pour les cytochromes. Elles possèdent un atome de Fer.
5. À la fin les électrons se combinent avec le dioxygène O<sub>2</sub> (accepteur final) et deux H<sup>+</sup> pour former de 2H<sub>2</sub>O.

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

Les complexes multiprotéiques sont associés à des groupements non protéiques appelé (prosthétique).

### **Phosphorylation oxydative**

La phosphorylation oxydative utilise le gradient ionique créer 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 protomotrice.

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.

---

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

Il existe deux types de fermentation :

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

La fermentation alcoolique libère deux  $CO_2$ .

Pyruvate se fait réduire directement

### **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.

---

### **Métabolisme du glucose**

Le sucre entre dans la fabrication de nombreuses 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 sous forme de glycogène dans le foie et les muscles.
- Synthèse de polymère 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

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

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

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

## Glycolyse

La glycolyse est l'ensemble des réactions qui permet de transformer le glucose-6-phosphate en en deux pyruvates. Le procédé génère 2 ATP net. Le pyruvate peut alors être utilisé pour la respiration cellulaire dans les mitochondries.

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.

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

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.

## Néoglucogénèse

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

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.

### ----- **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 tryglycérides.
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<sup>+</sup>
  - d. La coupure (thiololyse) par CoA.

### ----- **Les méthodes d'études des protéines**

identification de protéines spécifiques

#### **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 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 qui remplace 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 isoélectrique (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.

---

## La 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 augmentent 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.

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

Équation de Nerst nbre d'électrons échangés pour compter utiliser le nombre de protons échangés  $H^+$ .

Système de navette apporte le NADH du cytosol vers les mitochondries.

Le NADH sert à transférer l'oxaloacétate en malate. Ce dernier rentre dans la mitochondrie. Malate en oxaloacétate pour régénérer de l' $NADH$

Navette G3P/DHAP transfert du



Navette G3P\DHAP transfère du NADH sous forme de FADH<sub>2</sub> en dissipant un gradient chimique.