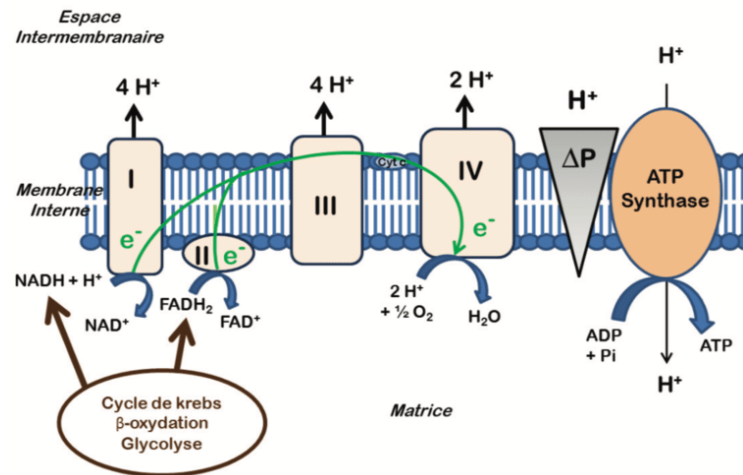
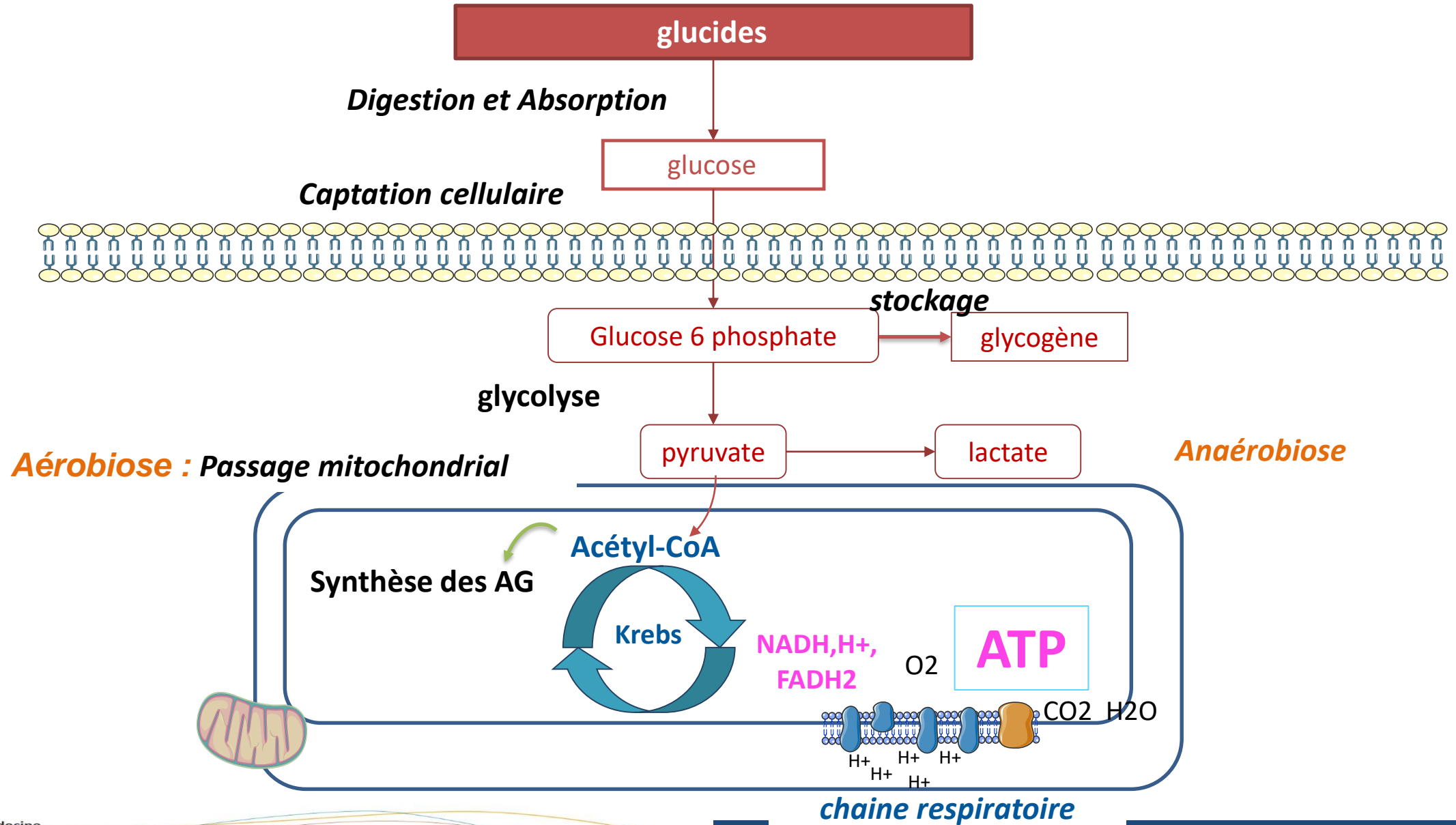


LA CHAÎNE RESPIRATOIRE



Florence Roucher-Boulez

Rappels



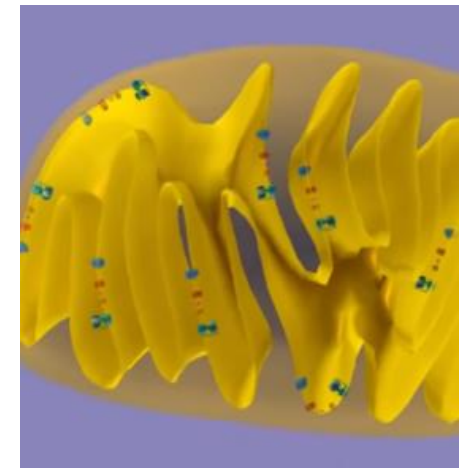
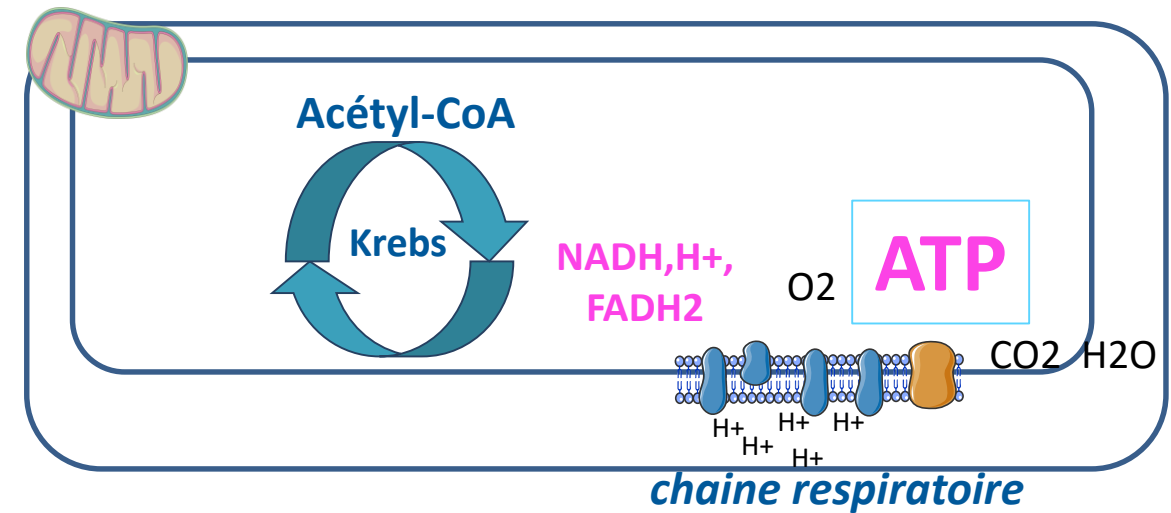
- La phosphorylation oxydative
- Régulation de la synthèse d'ATP

- **I- Généralités**
- II- La chaîne d'oxydo-reduction
- III- Les mécanismes de phosphorylation
- IV- Les transporteurs mitochondriaux
- V- Bilan énergétique
- VI- Les inhibiteurs

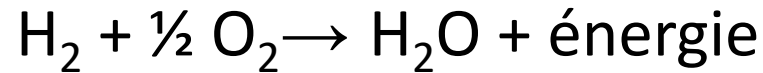
- Ensemble physique et fonctionnel de la **membrane interne mitochondriale**
- Nécessité vitale pour l'homme de **produire de l'ATP** (40kg/j chez l'homme au repos)
- En aérobie, grande majorité de l'ATP formée dans les mitochondries
- Catabolisme oxydatif (glucides, lipides, protéines) : faible production d'ATP mais production de co-enzymes réduits
 - **NADH,H⁺ et FADH₂** = molécules riches en énergie
 - possèdent chacune une paire d'électrons de haut potentiel de transfert énergétique
 - Ré-oxydation indispensable à l'entretien du catabolisme oxydatif

- **Production ATP et H₂O à partir des H des molécules énergétiques et de l'O₂ de l'air**
 - NADH, H⁺ et FADH₂ → H⁺ et e⁻
 - O₂ apporté par respiration circulation sanguine et diffusion tissulaire
 - H₂O produite au terme d'une chaîne d'oxydoreduction

$$\text{O}_2 + 4\text{e}^- + 4\text{H}^+ \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$$
 - L'ATP synthétisé par phosphorylation de l'ADP en utilisant l'énergie produite lors de la chaîne d'oxydoreduction
- **Chaque mitochondrie contient des milliers d'exemplaires de la chaîne permettant le transport d'électrons (crêtes) -> 14 000 m²**



- L'oxygène moléculaire apporté est l'accepteur final des électrons de l'hydrogène provenant du catabolisme



$\Delta E^{\circ'} = +1,24 \text{ V}$ et $\Delta G^{\circ'} = - 239 \text{ kJ/mol}$: réaction explosive

- Dans les cellules : protection contre l'explosion grâce au **transport par étape des électrons** sur les complexes de la chaîne respiratoire
- Variation de potentiel et d'énergie par pallier depuis le cofacteur réduit jusqu'à l'oxygène

La chaîne d'oxydoréduction

I/ Généralités

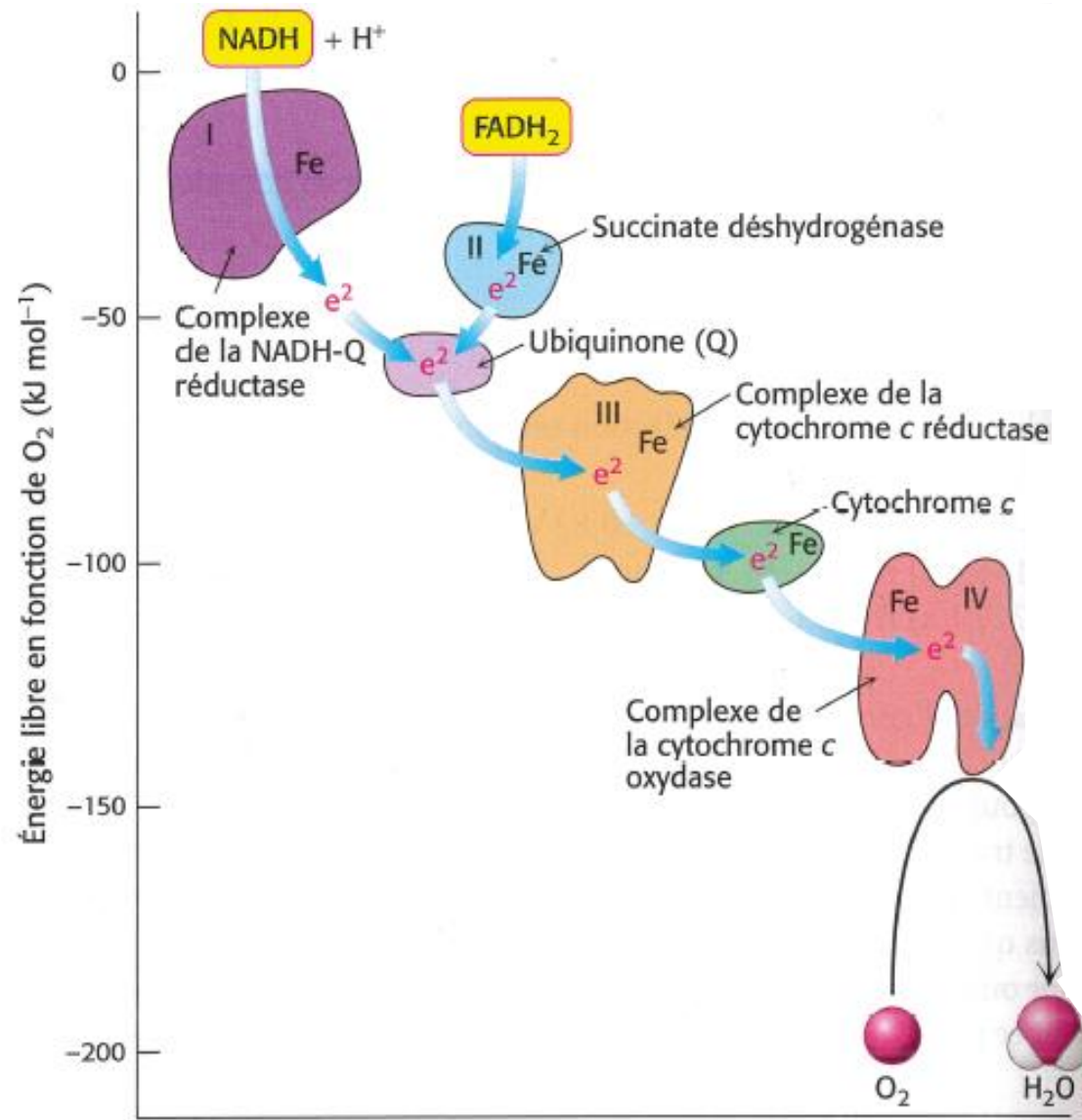
II/ La chaîne d'oxydoreduction

III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux

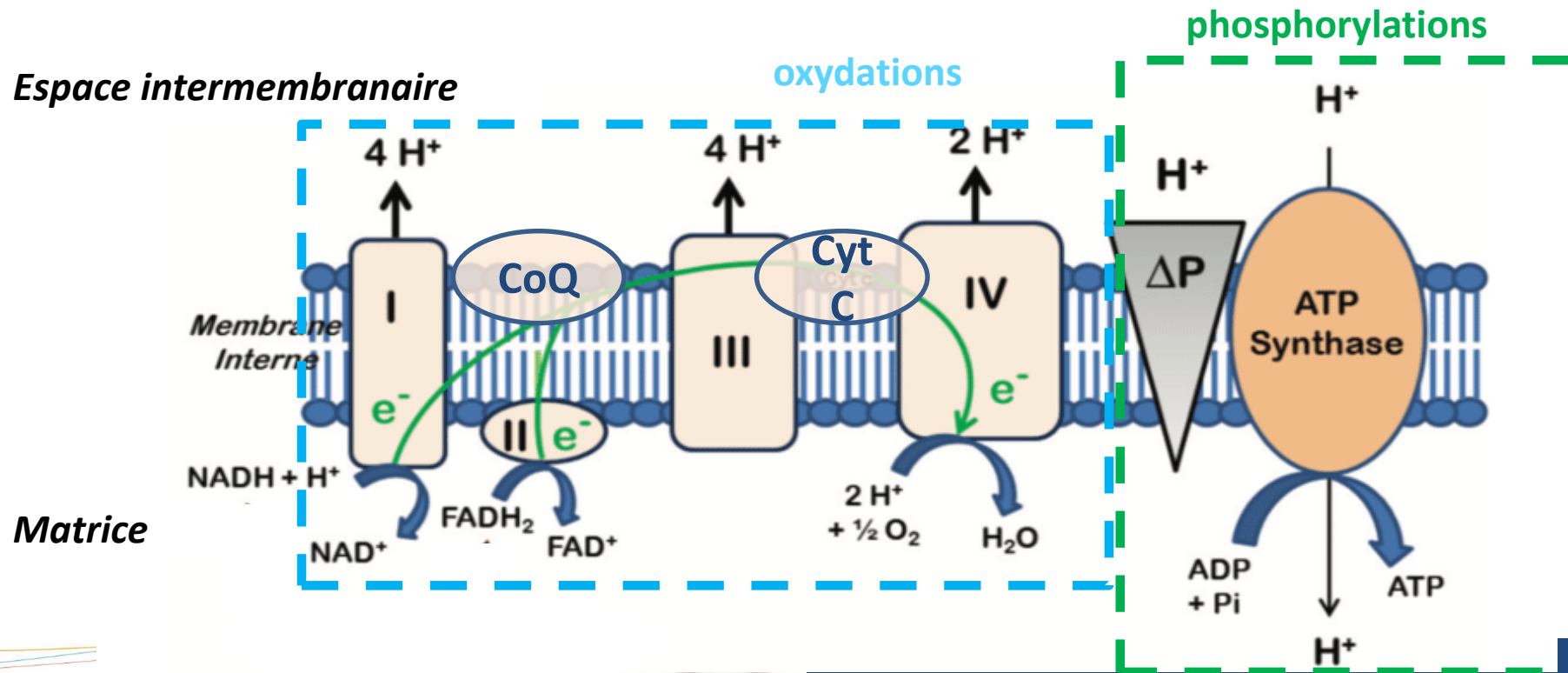
V/ Bilan énergétique

VI/ Les inhibiteurs

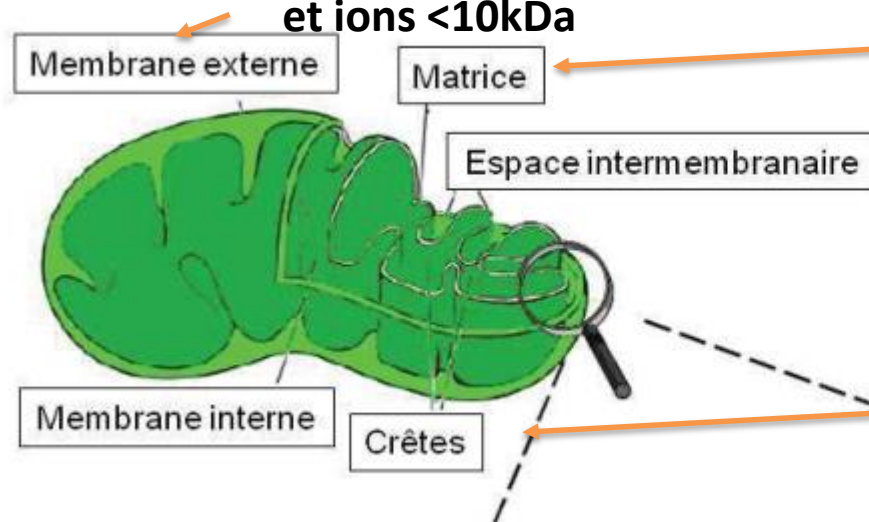


- Les éléments de la chaîne d'oxydoréduction

- La chaîne d'oxydoreduction transporte des équivalents réducteurs: H^+ et e^- vers l' O_2 .
- Séries de système d'oxydoréduction couplés à l'expulsion de protons (**I, III, IV**)
- Au sein de :
 - 4 éléments fixes: les **complexes respiratoires CI- \rightarrow CIV**
 - 2 éléments mobiles : **ubiquinone ou CoEnz Q et le cytochrome C**



Poreuses aux petites molécules
et ions <10kDa



cycle de Krebs ,
Oxydation des acides gras

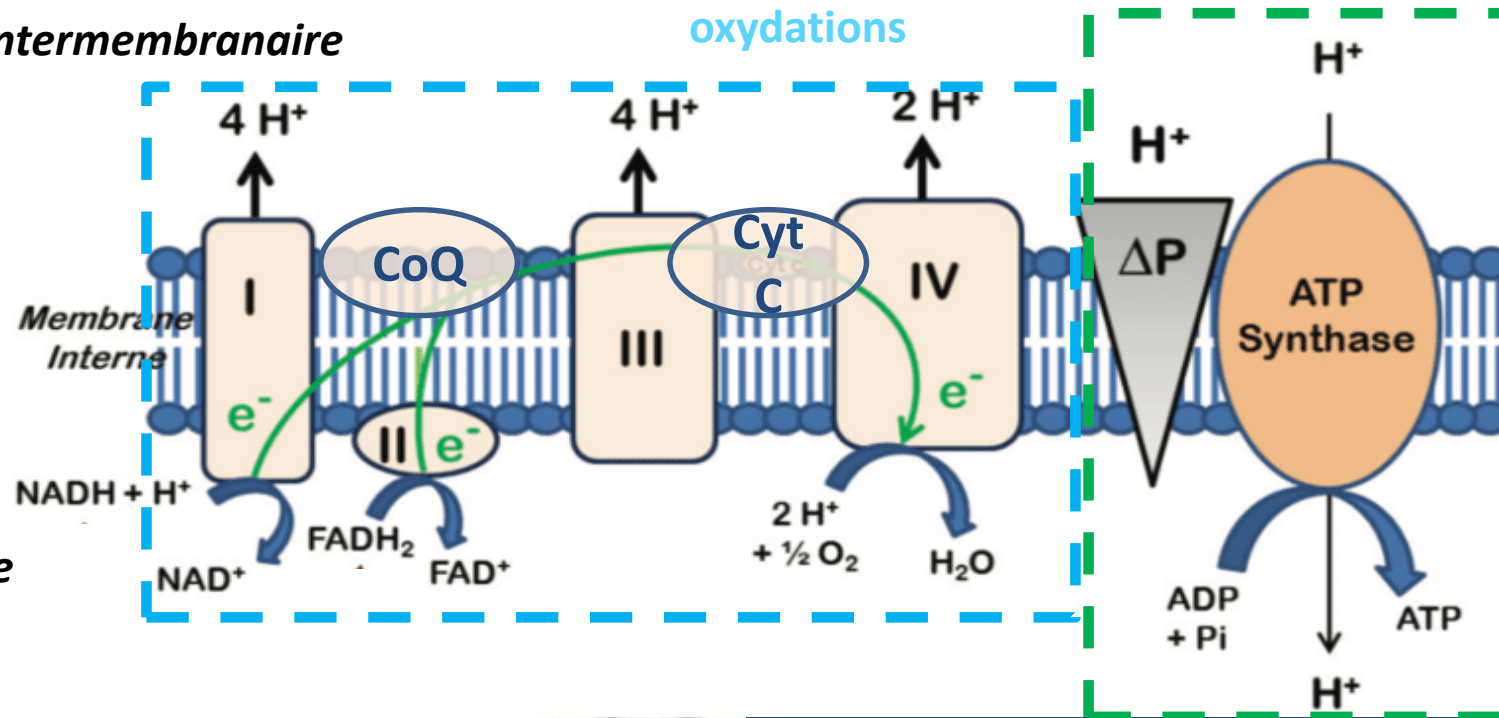
imperméable aux ions et
molécules.

phosphorylations

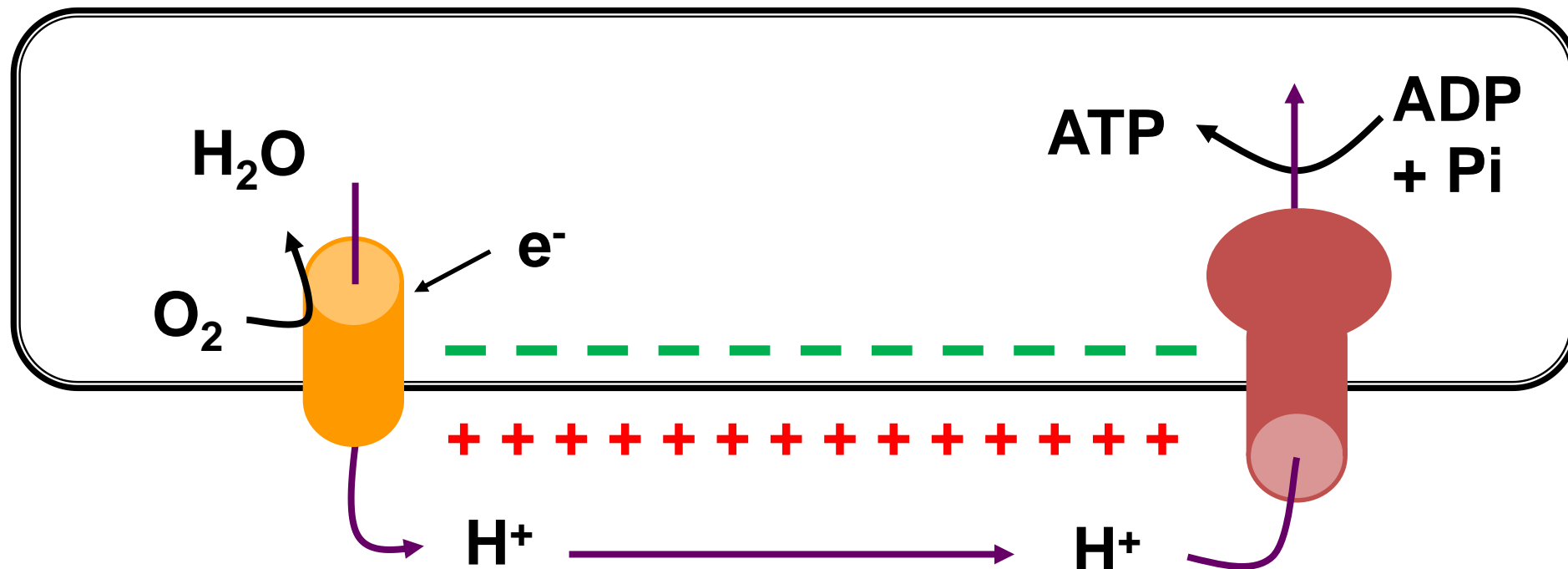
Espace intermembranaire

oxydations

Matrice



- Face matricielle : négative
- Face cytosolique: positive
- L'oxydation et la phosphorylation sont couplées par un gradient de protons établi à travers la membrane interne de la mitochondrie



- Potentiel redox et énergie libre

Couple redox : forme oxydée H^+ / forme réduite H_2

forme oxydée **accepte** e^-

forme réduite **donne** e^-

E'_0 = **Potentiel de réduction** (redox ou d'oxydoréduction)

Potentiel de réduction H^+ / H_2 est 0 V

Si $E'_0 < 0$, la forme réduite d'une substance a une affinité **plus faible** pour e^- qu' H_2

Si $E'_0 > 0$, la forme oxydée d'une substance a une affinité **plus forte** pour e^- qu' H_2

Un agent fortement **réducteur** (NADH) est prêt à **donner** des électrons et a un potentiel de réduction **négatif**

Un agent fortement **oxydant** (O_2) est prêt à **accepter** des électrons et a un potentiel de réduction **positif**

| Forme oxydée | Forme réduite | n | E°' (V) |
|--------------------------------------|--------------------------------|---|---------|
| Succinate + CO ₂ | a-cétoglutarate | 2 | - 0,67 |
| Ferrédoxine(ox) | Ferrédoxine(rd) | 1 | - 0,43 |
| NAD ⁺ , NADP ⁺ | NADH, NADPH (+H ⁺) | 2 | - 0,32 |
| Lipoate (ox) | Lipoate (rd) | 2 | - 0,29 |
| Glutathion (ox) | Glutathion (rd) | 2 | - 0,23 |
| Pyruvate | Lactate | 2 | - 0,19 |
| H ⁺ | ½ H ₂ | 1 | 0 |
| Fumarate | Succinate | 2 | 0,03 |
| Cytochrome b (+3) | Cytochrome b (+2) | 1 | 0,07 |
| Déhydroascorbate | Ascorbate | 2 | 0,08 |
| Ubiquinone (ox) | Ubiquinone (rd) | 2 | 0,10 |
| Cytochrome c (+3) | Cytochrome c (+2) | 1 | 0,22 |
| Fe (+3) | Fe (+2) | 1 | 0,77 |
| ½ O ₂ + 2H ⁺ | H ₂ O | 2 | 0,82 |

- **Potentiel redox et énergie libre**

Couple redox : forme oxydée H^+ / forme réduite H_2



Une différence de potentiel de 1,14 volt entre NADH et O_2 assure le transport des électrons à travers la chaîne

L'énergie libre de cette oxydation $\Delta G'^0 = -52,6 \text{ kcal/mol}$

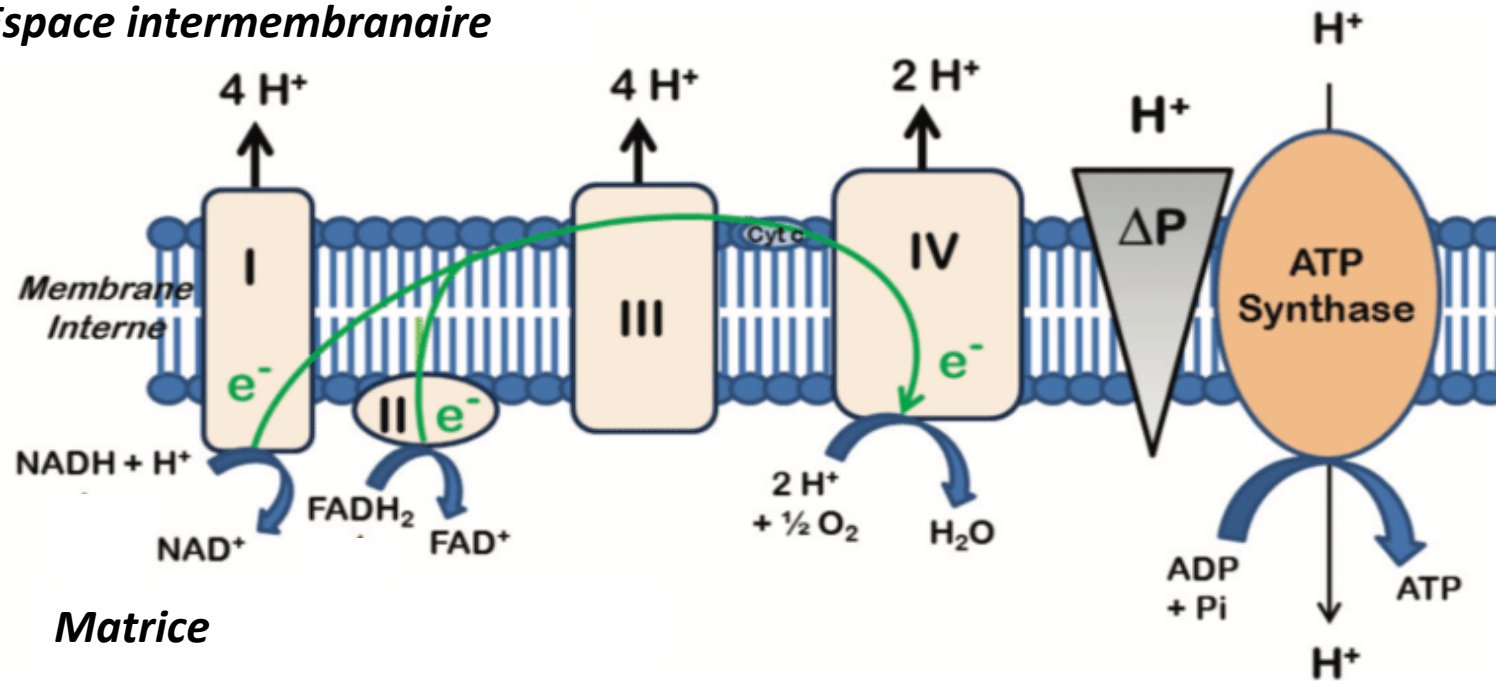
Mesure : **Potentiel de transfert de groupe phosphate $\Delta G^{\circ'}$**

- I- Généralités
- **II- La chaîne d'oxydo-reduction**
- III- Les mécanismes de phosphorylation
- IV- Les transporteurs mitochondriaux
- V- Bilan énergétique
- VI- Les inhibiteurs

- Les éléments fixes

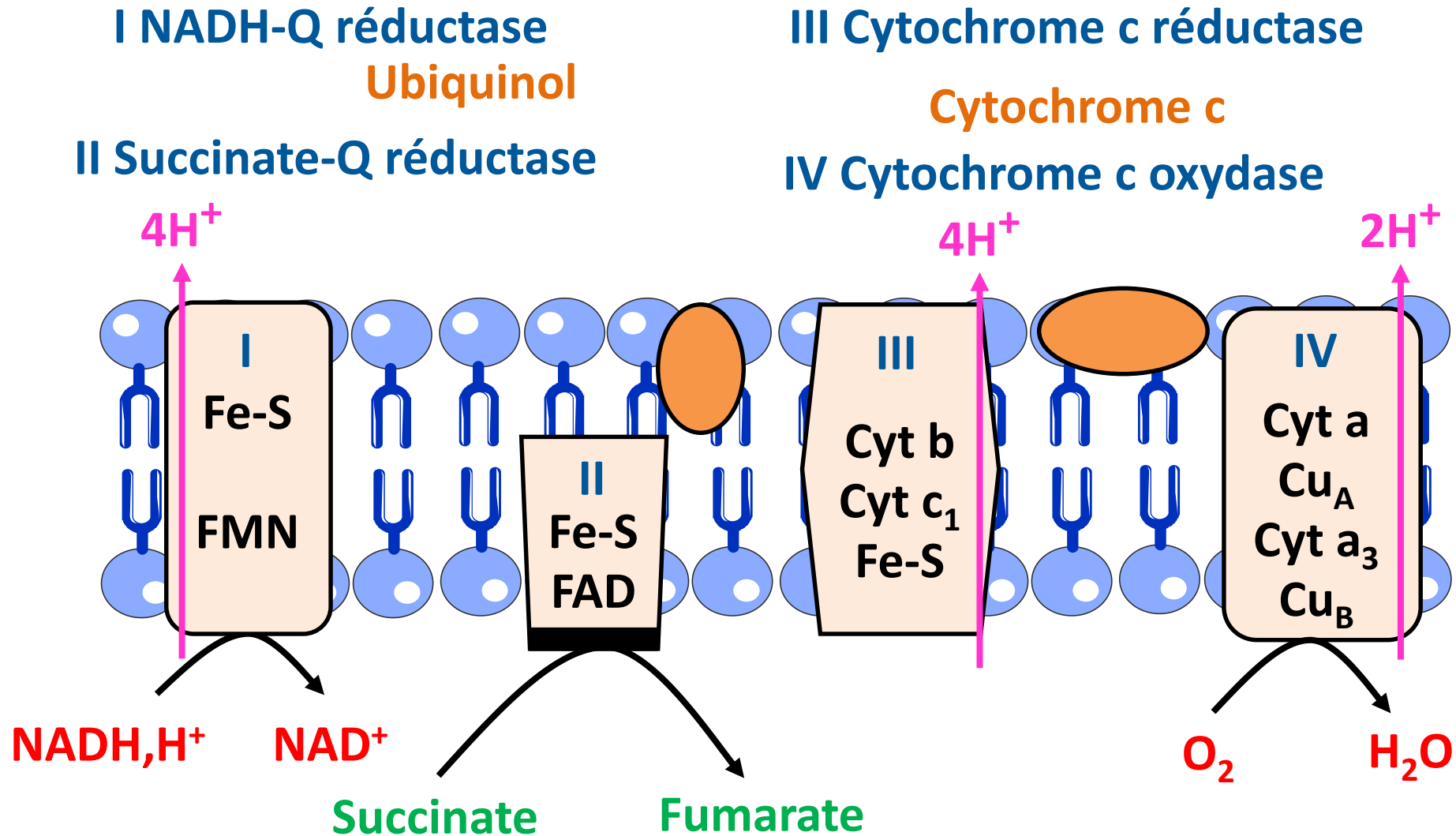
- Les électrons sont transférés des complexes I et II au complexe III par le coenzyme Q et du complexe III au complexe IV par le cytochrome c

Espace intermembranaire



Matrice

Le passage des e^- via les complexes est couplé à l'expulsion de protons



- Les éléments fixes

I NADH-Q réductase

**Masse
(kDA)**

850

**Sous-
unités**

25

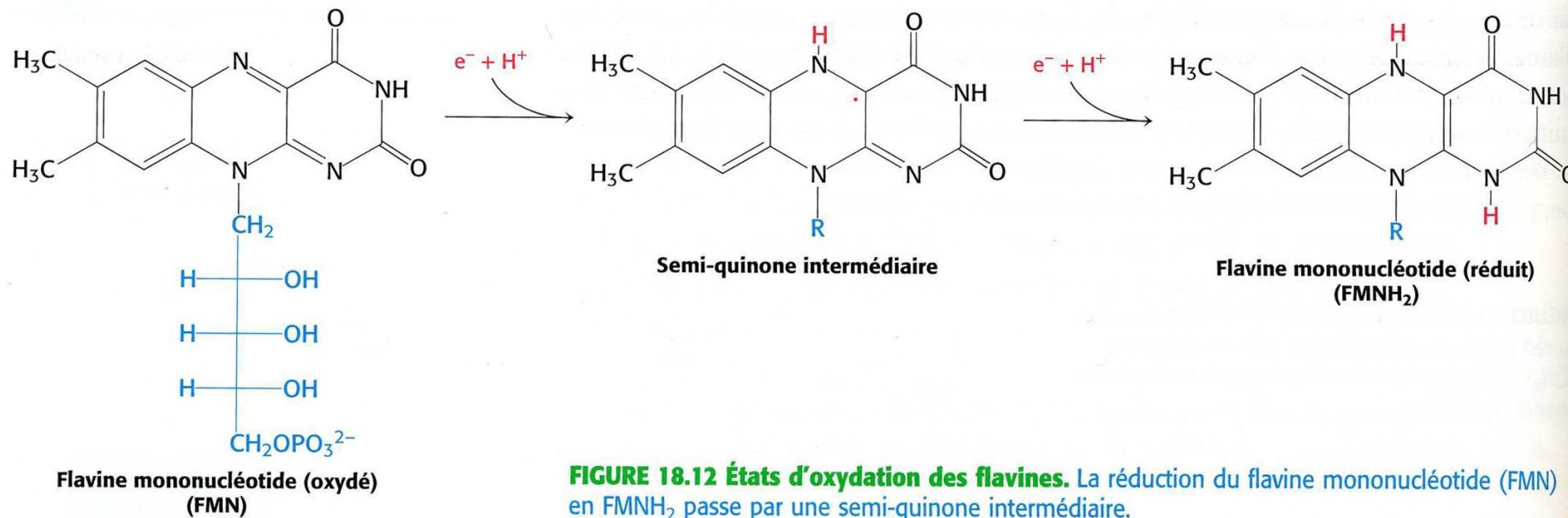
**Groupes
prosthetiques**

FMN, Fe-S

- Les différentes étapes du transfert

- Complexe I NADH-Q reductase

- 1er transfert : FMN



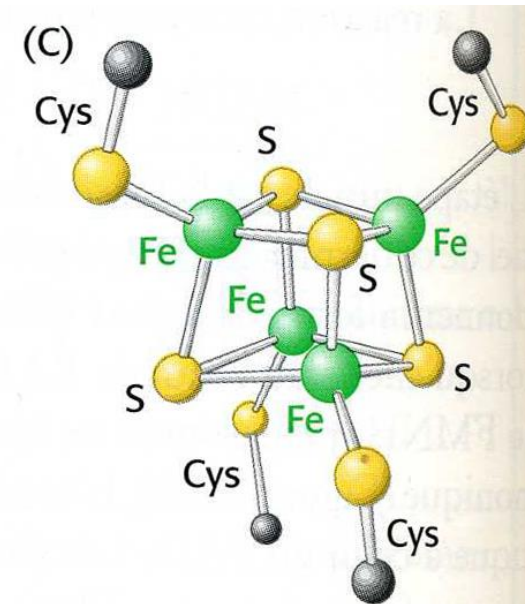
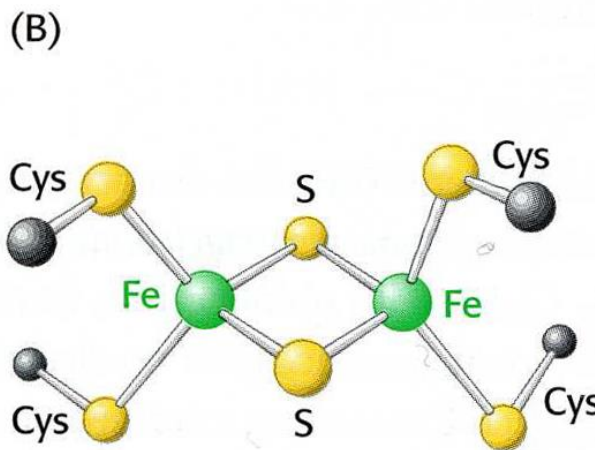
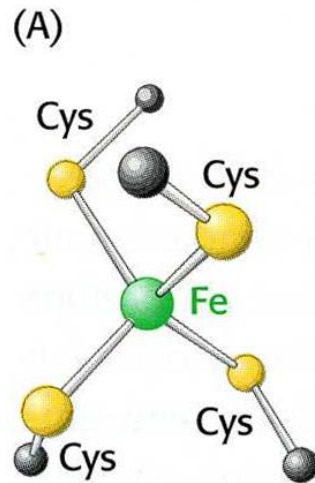
- **Les différentes étapes du transfert**

- **Complexe I NADH-Q reductase**

- 1er transfert : FMN

- 2ème transfert Protéine Fe-S (à fer non hémique)

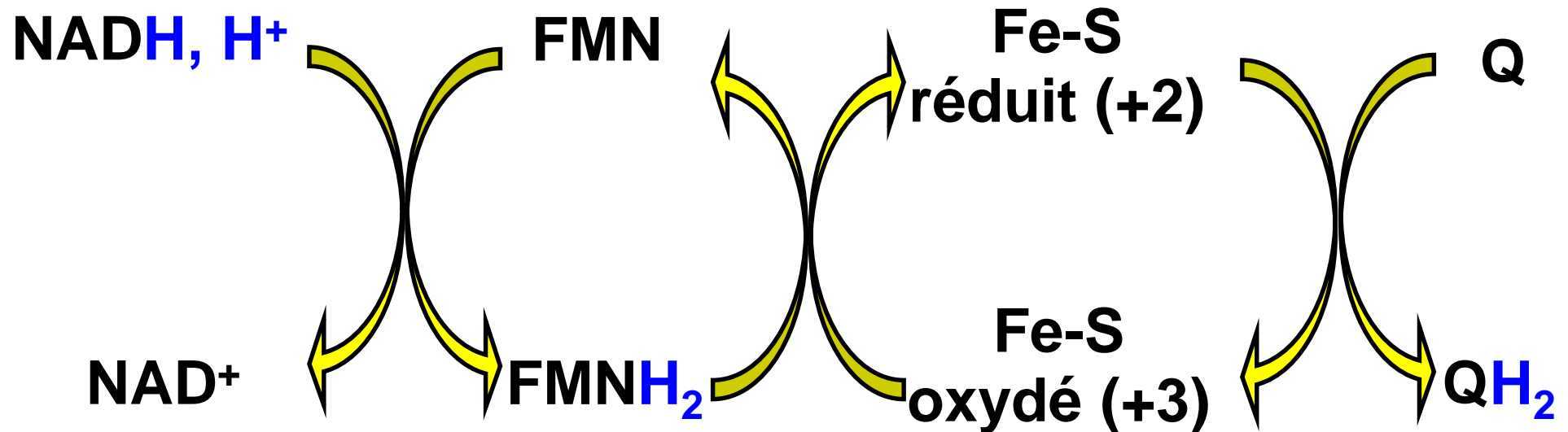
Un seul atome de fer est coordonné tétraédriquement aux groupements sulfhydryles de 4 résidus Cys

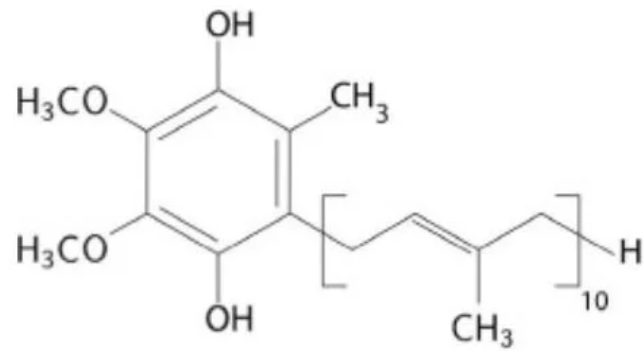


- Les différentes étapes du transfert

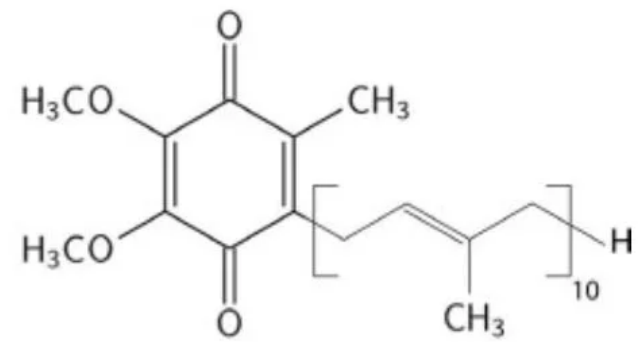
- Complexe I NADH-Q reductase

- 1er transfert : FMN
- 2ème transfert Protéine Fe-S (à fer non héminique)
- Transfert vers l'ubiquinone ou coenzyme Q

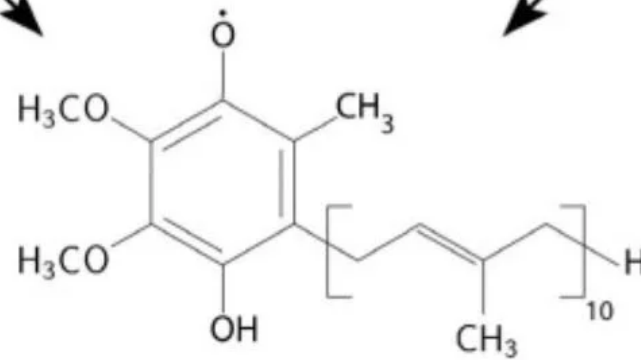




ubiquinol
(CoQ₁₀H₂)



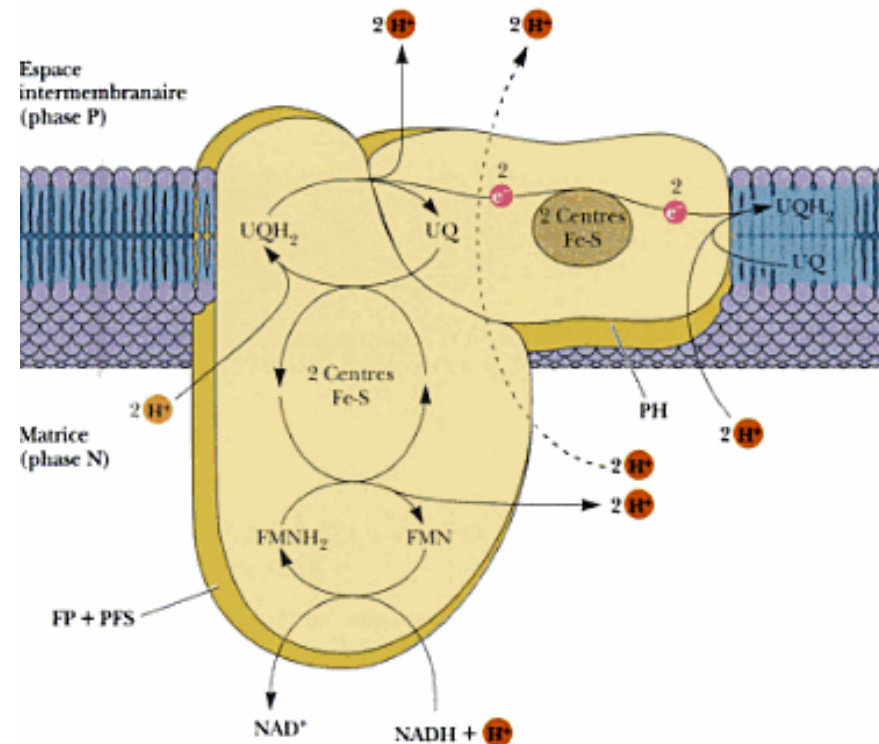
ubiquinone
(CoQ₁₀)



ubisemiquinone
(CoQ₁₀H•)

An external file that
etc.
Object name is i194

- Le flux d'e⁻ du NADH au coenzyme Q par l'intermédiaire de la NADH-Q oxydo reductase
- pompage de 4 H⁺ hors de la matrice de la mitochondrie
- La réduction de Q en QH₂ capture de 2H de la matrice



- Les éléments fixes

| | Masse (kDA) | Sous- unités | Groupes prosthétiques |
|--------------------------|----------------|-----------------|--------------------------|
| I NADH-Q réductase | 850 | 25 | FMN, Fe-S |
| II Succinate-Q réductase | 140 | 4 | FAD, Fe-S |

Le passage des e^- via les complexes est couplé à l'expulsion de protons

I NADH-Q réductase

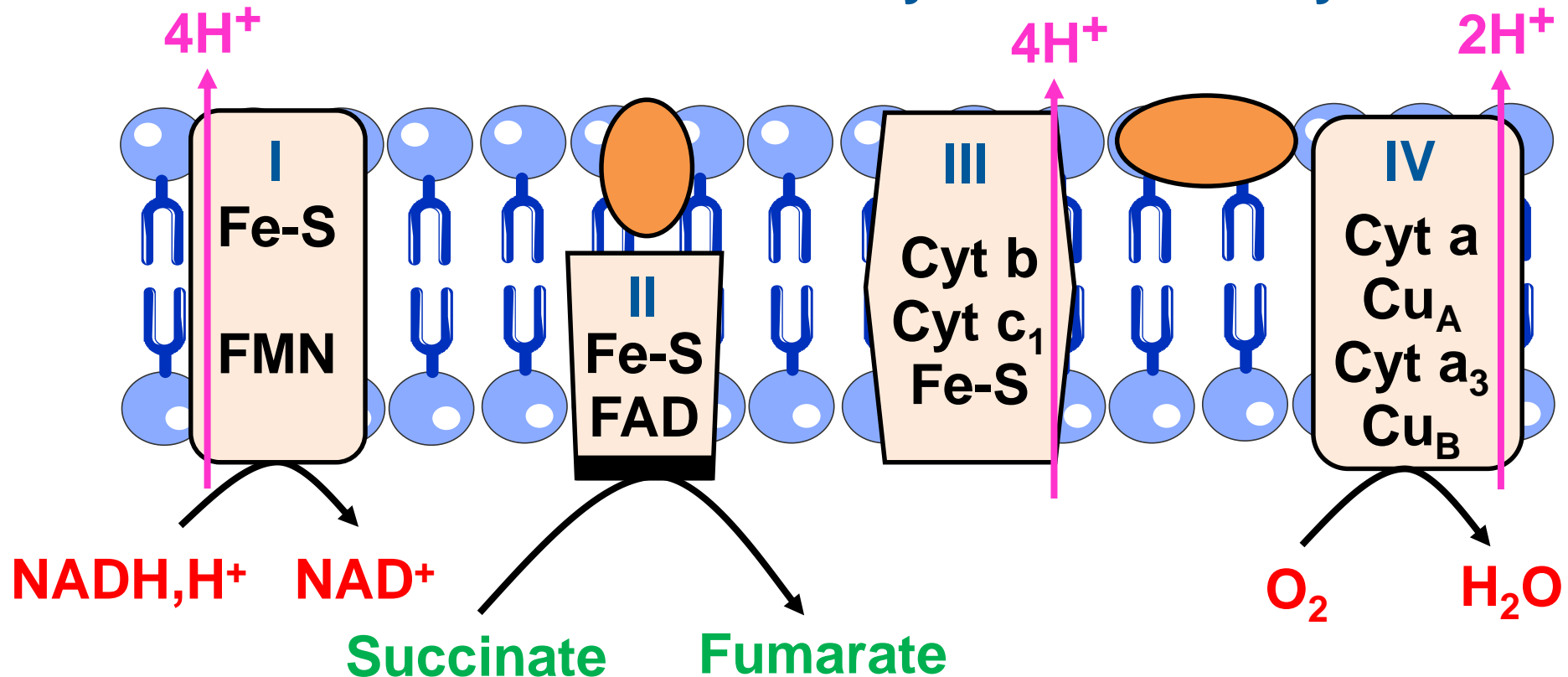
Ubiquinol

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

II Succinate-Q réductase

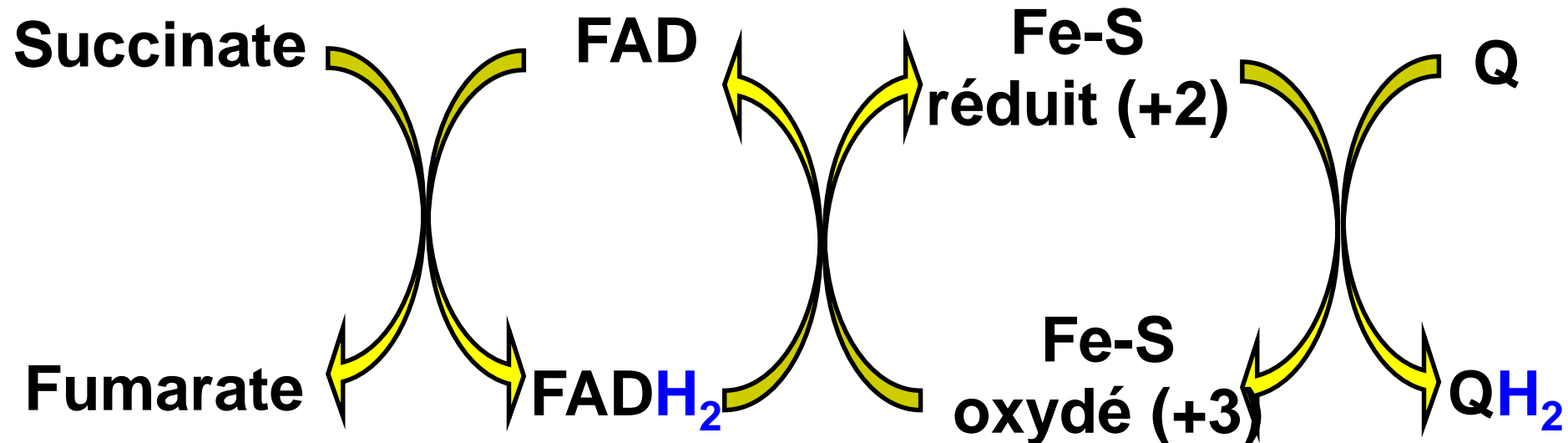
IV Cytochrome c oxydase



- Les différentes étapes du transfert

- Succinate-Q réductase (CII) / succinate deshydrogénase

- Idem pour le FADH₂ du glycérol phosphate déshydrogénase et l'acyl déshydrogénase
 - Mais ce n'est pas une pompe à protons car le transfert FADH₂ vers Q n'entraîne qu'une faible énergie



| Les éléments fixes | Masse (kDA) | Sous-unités | Groupes prosthétiques |
|----------------------------------|-------------|-------------|---|
| I NADH-Q réductase | 850 | 25 | FMN, Fe-S |
| II Succinate-Q réductase | 140 | 4 | FAD, Fe-S |
| Ubiquinol (Q > QH ₂) | | | |
| III Cytochrome c réductase | 250 | 9 | Hème b-562 Hème b-566 Hème c ₁ , Fe-S |
| Cytochrome c | 13 | 1 | Hème c |
| IV Cytochrome c oxydase | 160 | 8 | Hème a Hème a ₃ Cu _A et Cu _B |

Le passage des e⁻ via les complexes est couplé à l'expulsion de protons

I NADH-Q réductase

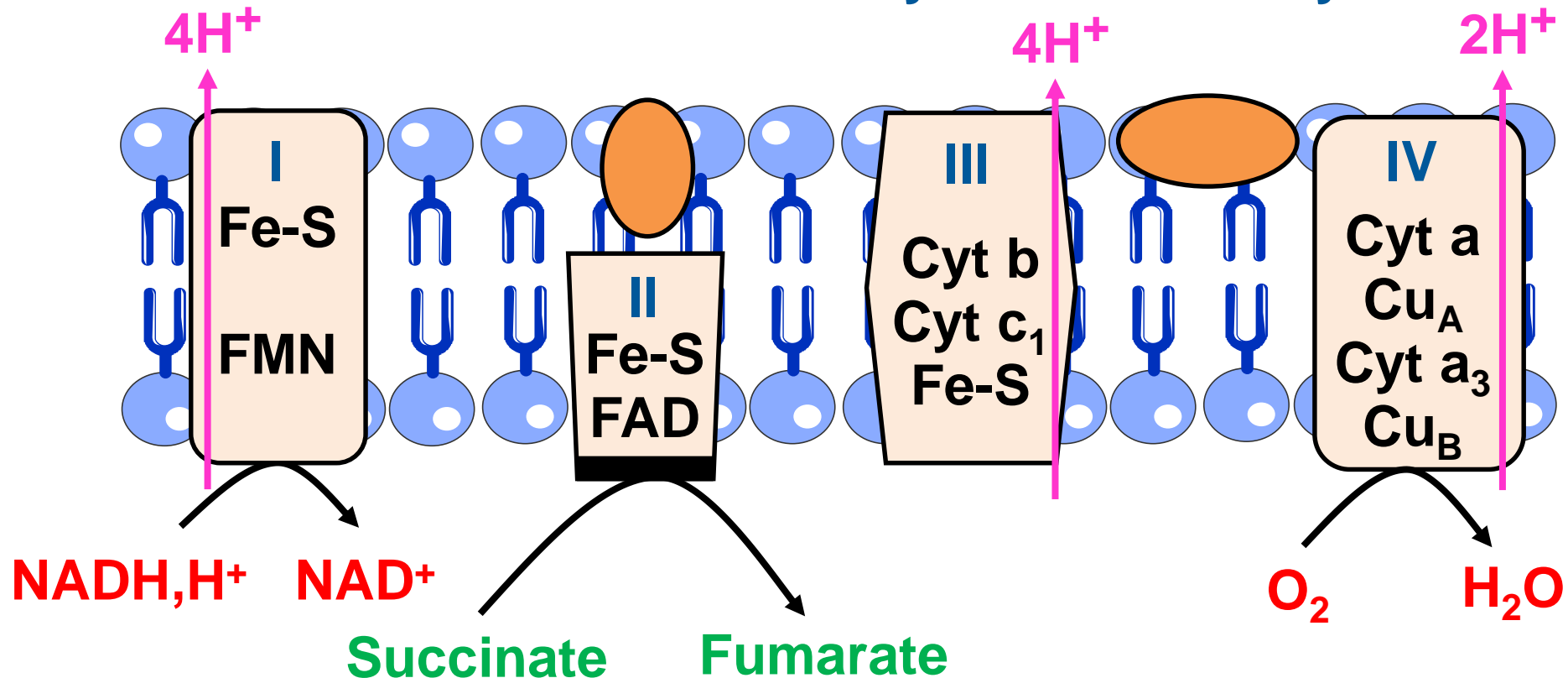
Ubiquinol

II Succinate-Q réductase

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

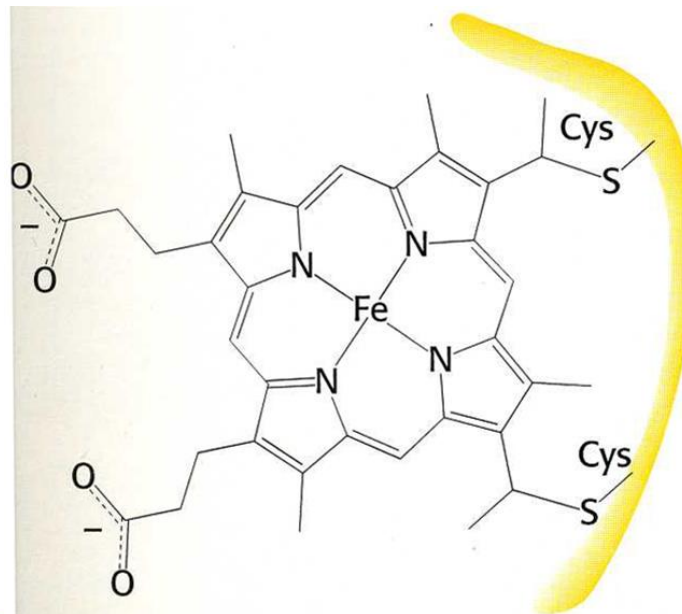
IV Cytochrome c oxydase



- Les différentes étapes du transfert

- Cytochrome c réductase (III)

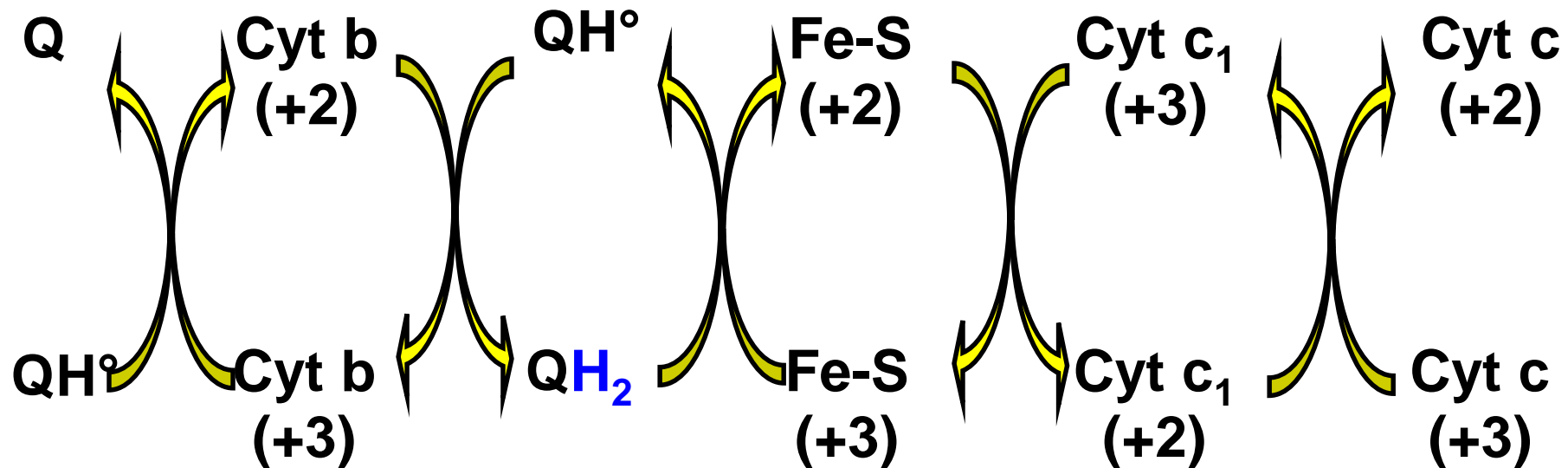
- Protéine de transfert d'électrons qui contient un groupement prosthétique héminique
 - Pour les cytochromes b, c1 et c, protoporphyrine IX avec le fer est lié par covalence au -SH de 2 cystéines.

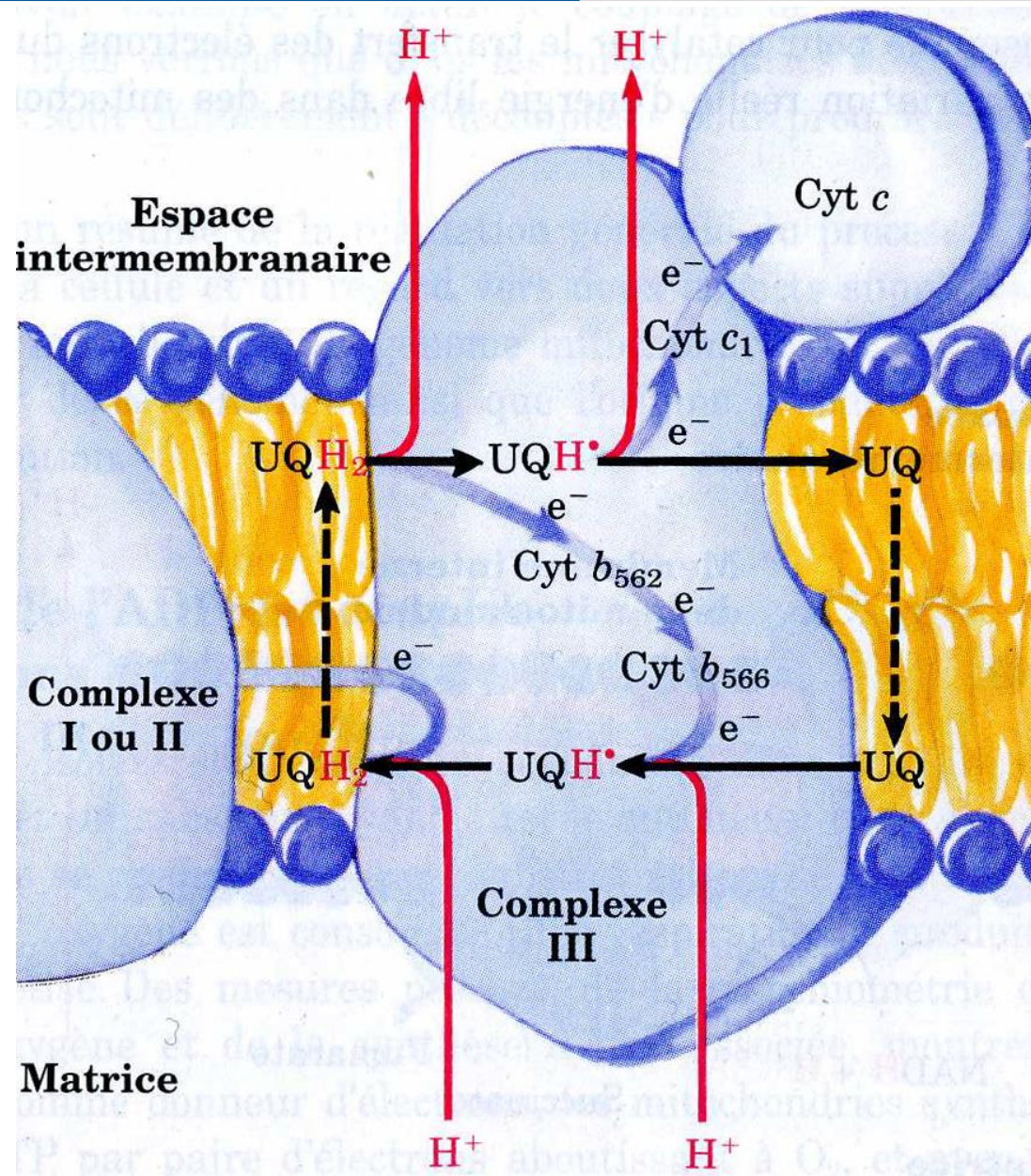


- Les différentes étapes du transfert

- **Cytochrome c réductase (III)**

- Protéine de transfert d'électrons qui contient un groupement prosthétique héminique
 - Pour les cytochromes b, c₁ et c, protoporphyrine IX avec le fer est lié par covalence au –SH de 2 cystéines.





Le passage des e⁻ via les complexes est couplé à l'expulsion de protons

I NADH-Q réductase

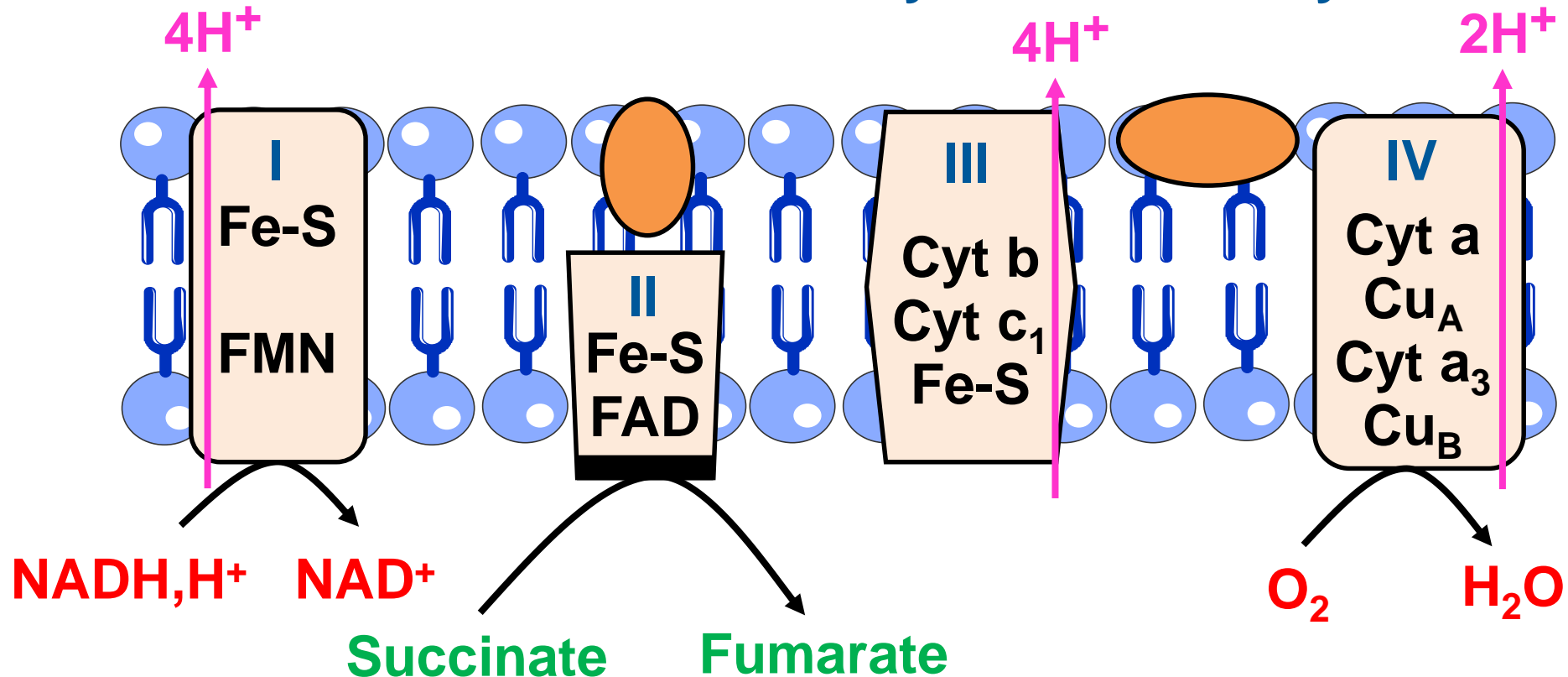
Ubiquinol

II Succinate-Q réductase

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

IV Cytochrome c oxydase



- Les différentes étapes du transfert

- **Cytochrome c**

- Unique chaîne polypeptidique de 104 AA
- petite protéine hydrosoluble
- située entre le CIII et le CIV
- transporte les e⁻ de la Q-cytochrome c reductase à la cytochrome c oxydase

Le passage des e^- via les complexes est couplé à l'expulsion de protons

I NADH-Q réductase

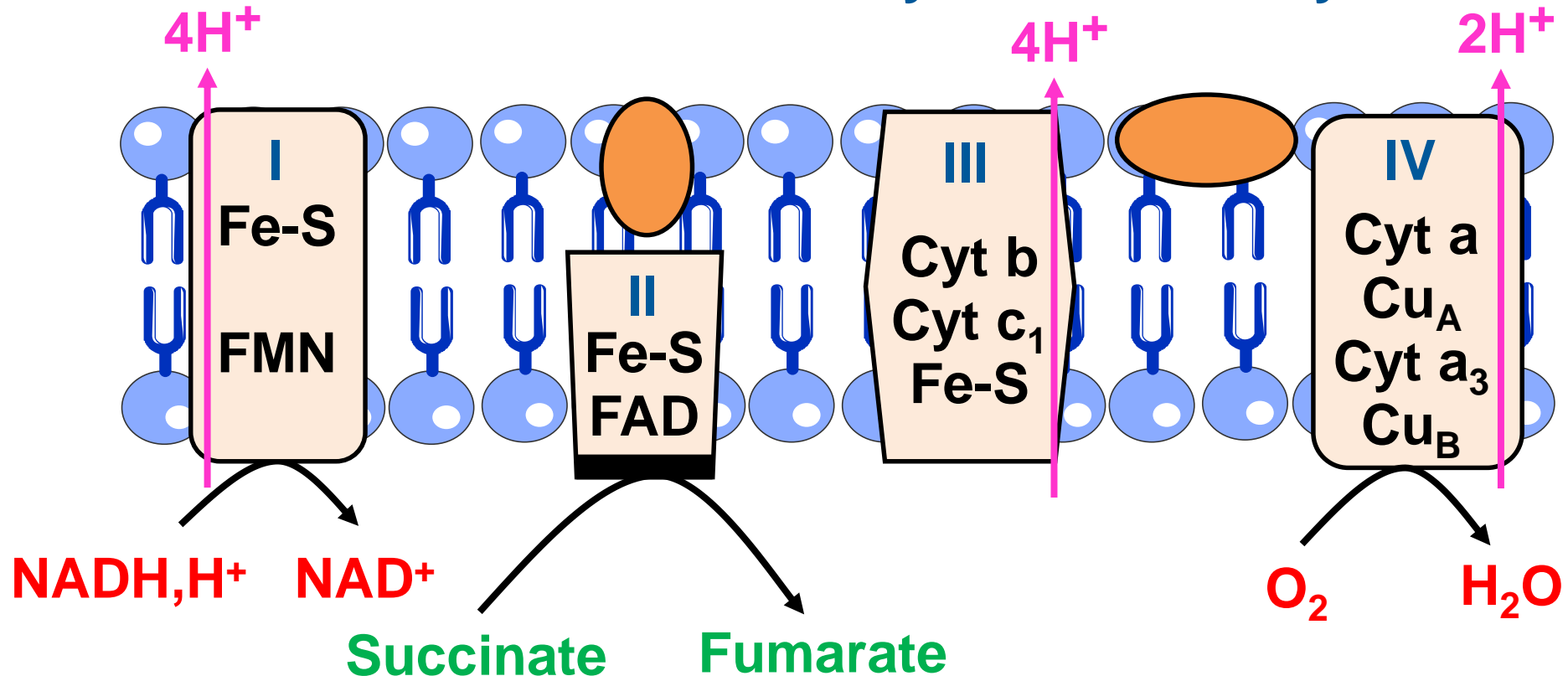
Ubiquinol

II Succinate-Q réductase

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

IV Cytochrome c oxydase



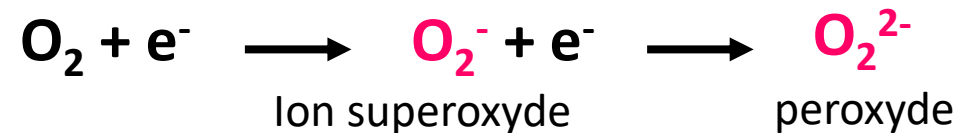
- Les différentes étapes du transfert

- Cytochrome c oxydase (CIV)

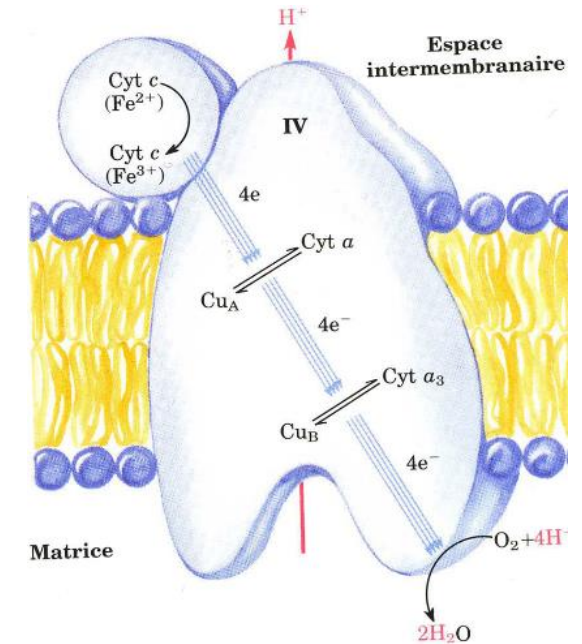


4 électrons sont canalisés vers O_2 pour le réduire totalement en H_2O et, de façon concomitante, pour pomper des protons de la matrice vers la face cytosolique de la membrane mitochondriale interne

O est un accepteur d' e^- idéal. Le transfert de 4 e^- donne H_2O , mais une réduction partielle forme des composés dangereux en particulier l'ion superoxyde



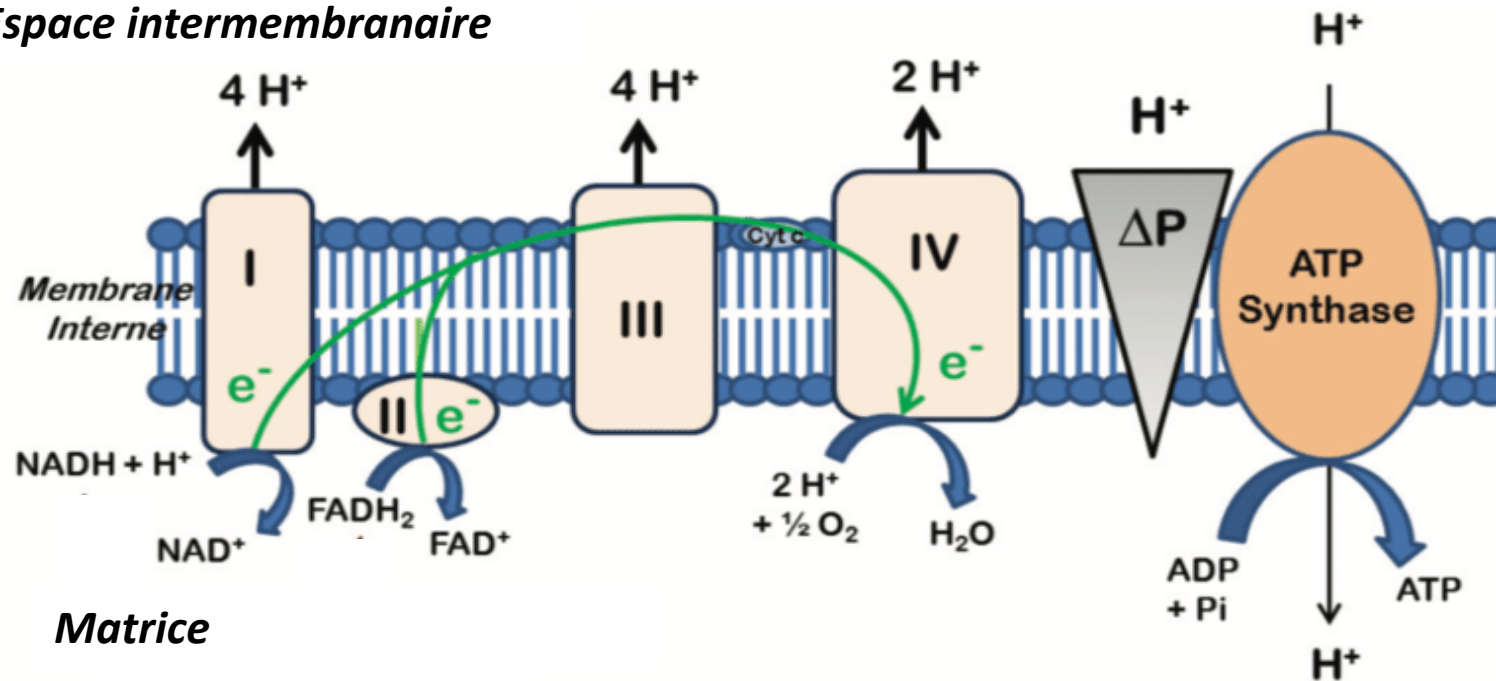
2 H^+ sont conduits dans l'espace intermembranaire



- I- Généralités
- II- La chaîne d'oxydo-reduction
- **III- Les mécanismes de phosphorylation**
- IV- Les transporteurs mitochondriaux
- V- Bilan énergétique
- VI- Les inhibiteurs

- **Retour des protons via l'ATP synthase ou complexe V**
 - utilisation du gradient électrochimique, couplé à la phosphorylation d'ADP en ATP

Espace intermembranaire



Matrice

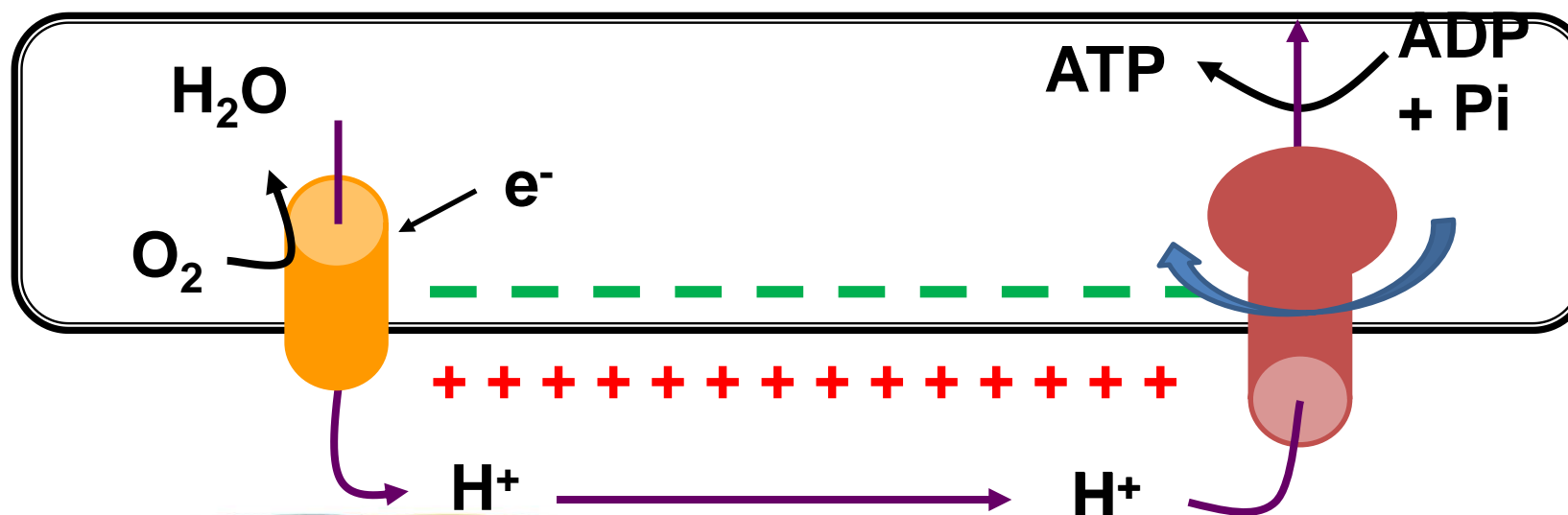
Flux d'e⁻ du NADH vers O₂ : processus **exergonique**



L'énergie libre de cette oxydation est utilisée pour synthétiser de l'ATP, processus **endergonique**



L'**oxydation** et la **phosphorylation** sont couplées par un gradient de protons établi à travers la membrane interne de la mitochondrie



- Utilisation du gradient de proton et du potentiel de membrane pour produire de l'ATP (Nobel Chimie 78)
- **Peter Mitchell's Chemiosmotic theory**



ATP synthase ou F_1F_0 ATPase

F₁, sous unité catalytique :

6 chaînes polypeptidiques

3 α , 3 β (seules à participer à la catalyse)

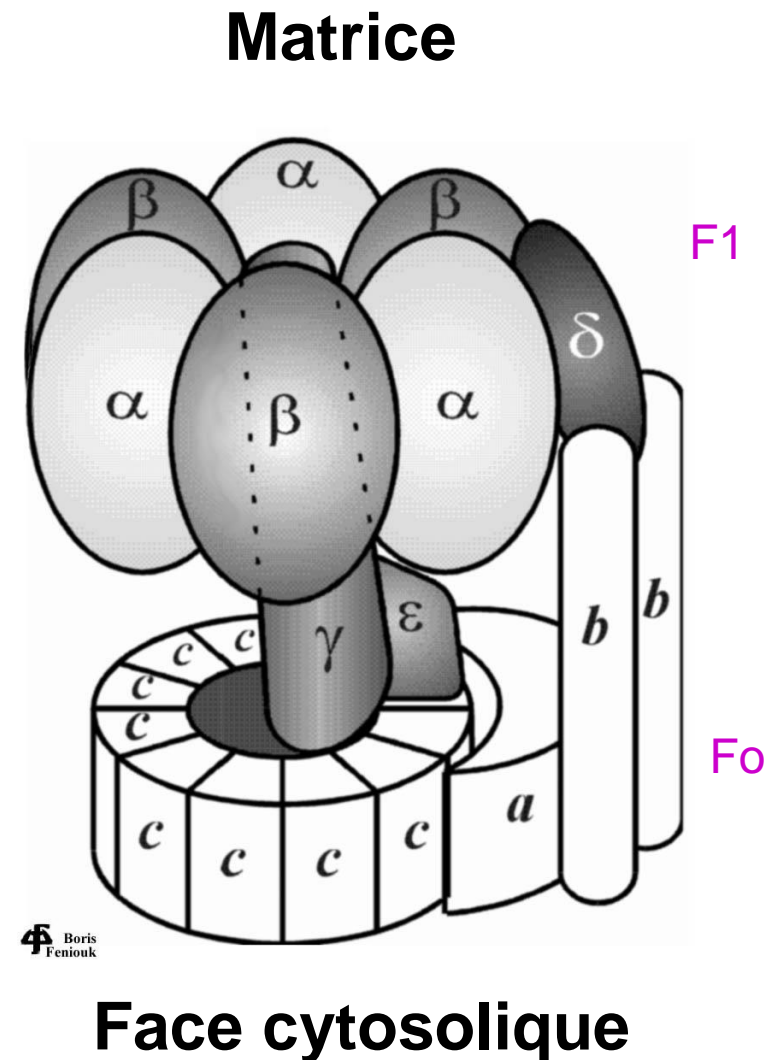
Tige centrale : ϵ et γ

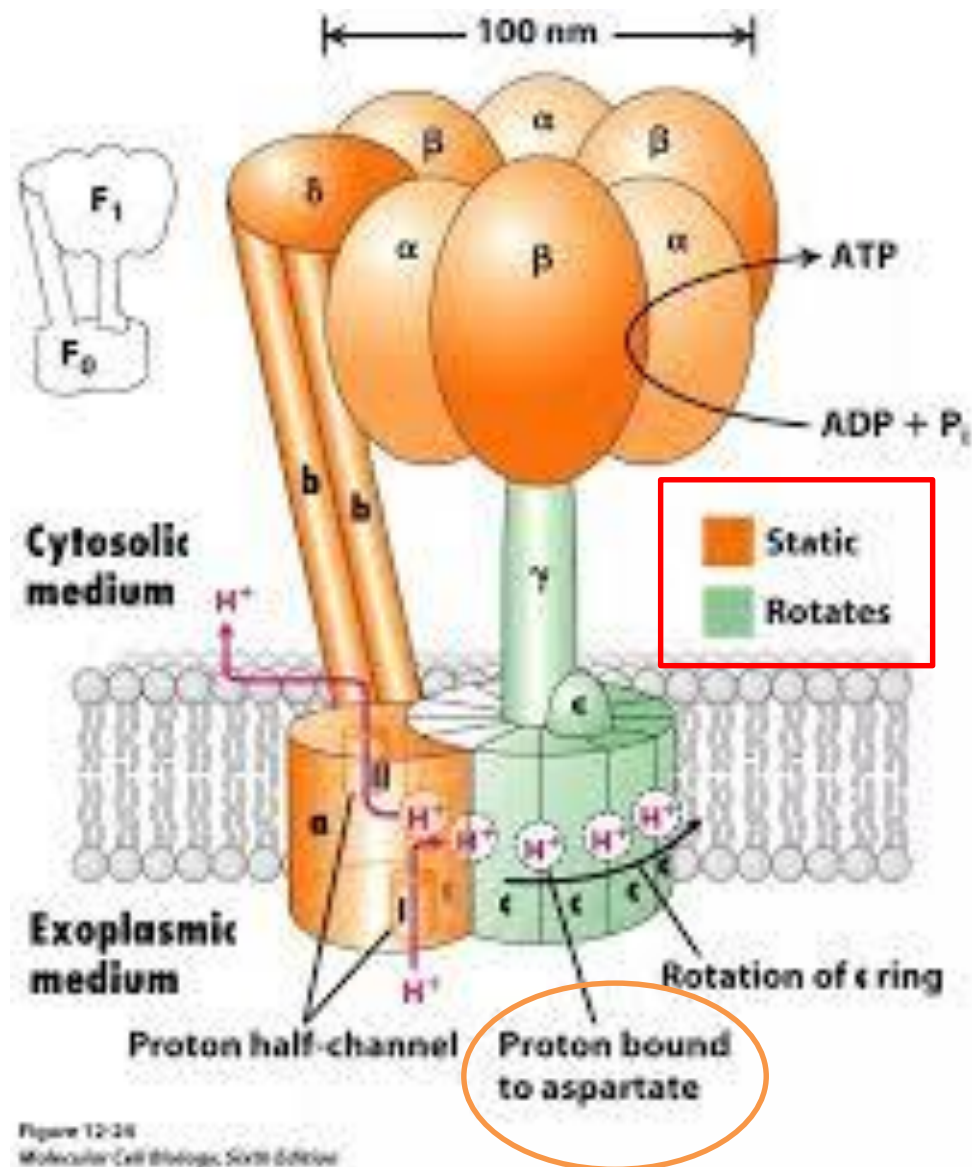
γ rompt la symétrie de l'hexamère $\alpha_3\beta_3$

δ

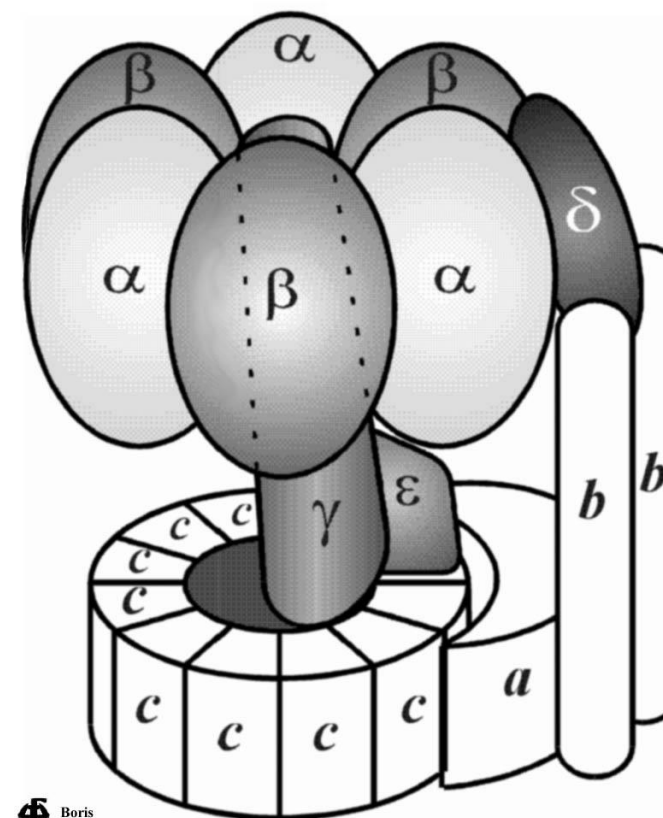
F₀, segment hydrophobe :

- Canal à protons (anneau de 10-14 c)
- une sous-unité a
- 2 sous-unités b

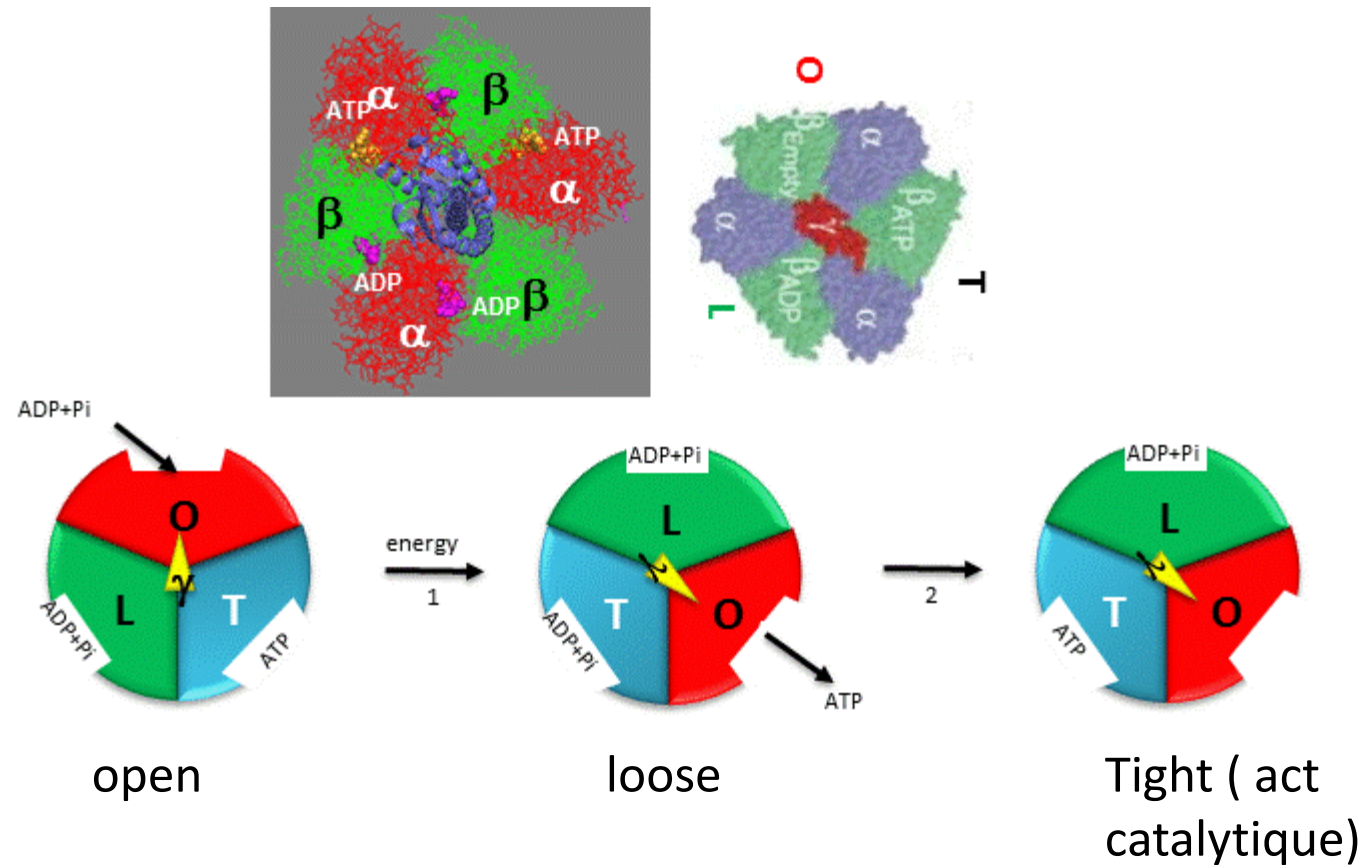




Matrice



Face cytosolique / intermembranaire



Le flux de protons à travers l'ATP synthase conduit à la libération de l'ATP qui lui est étroitement lié

Un équilibre entre ATP et ADP au site catalytique

L'ATP ne quitte le site catalytique que si le flux de protons passe



- <http://www.youtube.com/watch?v=xbJ0nbzt5Kw>



- <http://www.youtube.com/watch?v=3y1dO4nNaKY>

Introducing: Biological Gradients

Hydrogen Ions = Protons



https://www.youtube.com/watch?v=_5clF5nICd8

<https://www.youtube.com/watch?v=Ul9W-CvCRYA&t=188s>



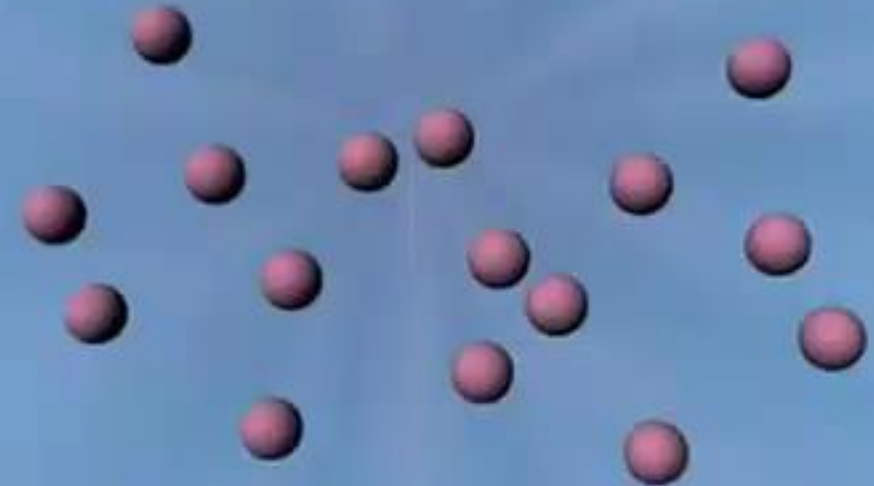
- <http://www.youtube.com/watch?v=3y1dO4nNaKY>

- <http://www.youtube.com/watch?v=xBJ0nbzt5Kw>



Introducing: Biological Gradients

Hydrogen Ions = Protons



<https://www.youtube.com/watch?v=5clF5nICd8>

<https://www.youtube.com/watch?v=Ul9W-CvCRYA&t=188s>



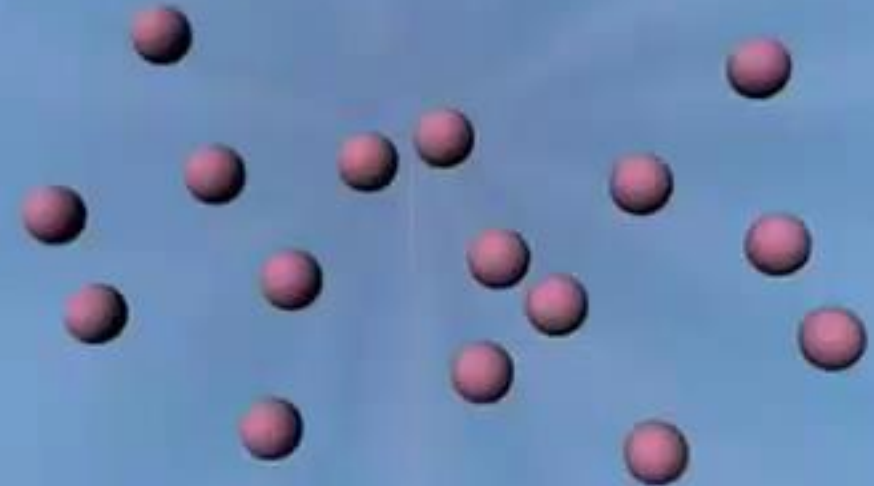
- <http://www.youtube.com/watch?v=3y1dO4nNaKY>

- <http://www.youtube.com/watch?v=xBJ0nbzt5Kw>



Introducing: Biological Gradients

Hydrogen Ions = Protons

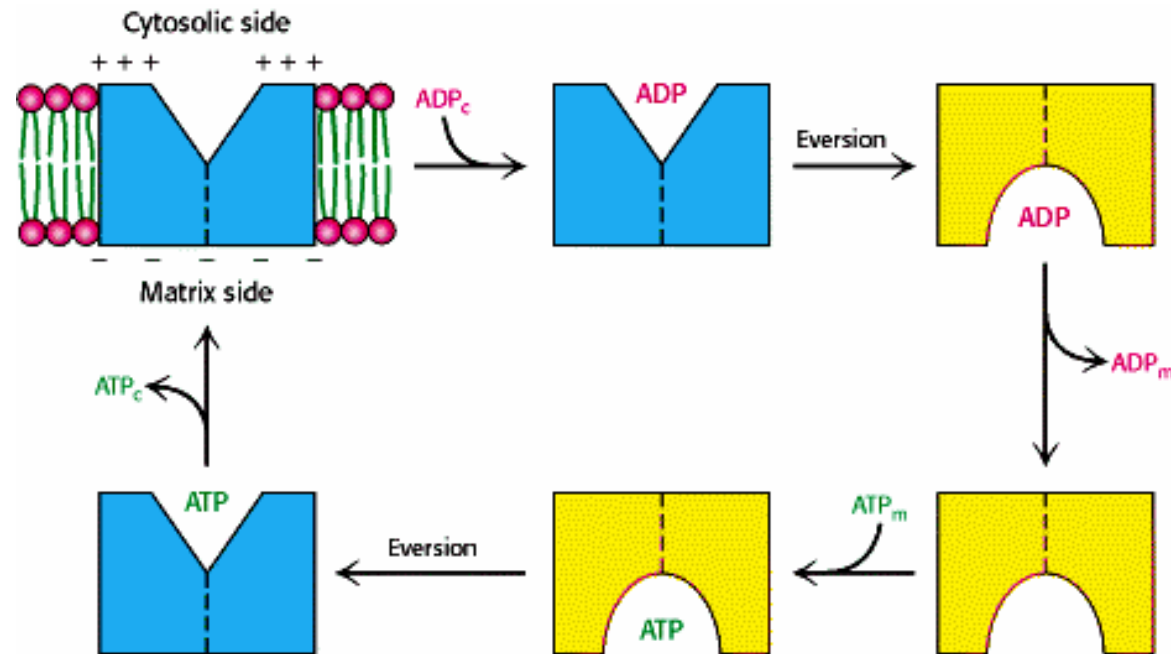


<https://www.youtube.com/watch?v=5clF5nICd8>

<https://www.youtube.com/watch?v=Ul9W-CvCRYA&t=188s>

- I- Généralités
- II- La chaîne d'oxydo-reduction
- III- Les mécanismes de phosphorylation
- **IV- Les transporteurs mitochondriaux**
- V- Bilan énergétique
- VI- Les inhibiteurs

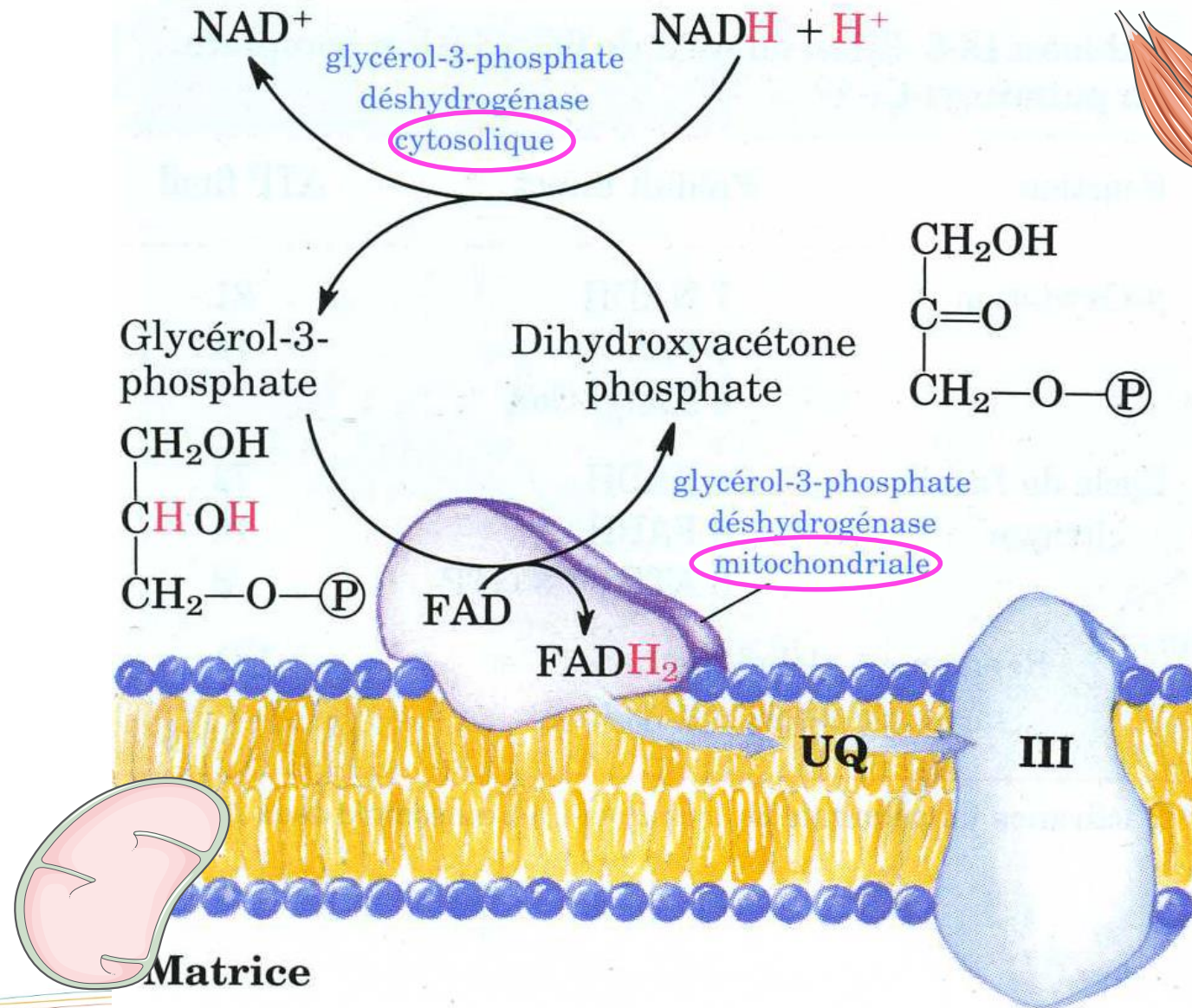
Adenine nucleotide translocase or ANT (couplé Pi/OH-antiporter)

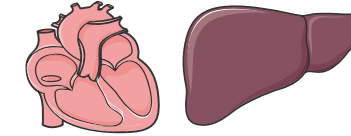


- ATP plus nég que ADP transporté 30 fois plus vite que ADP:
- moteur alimenté par potentiel de membrane

Système glycérol-phosphate dans le muscle (foie)

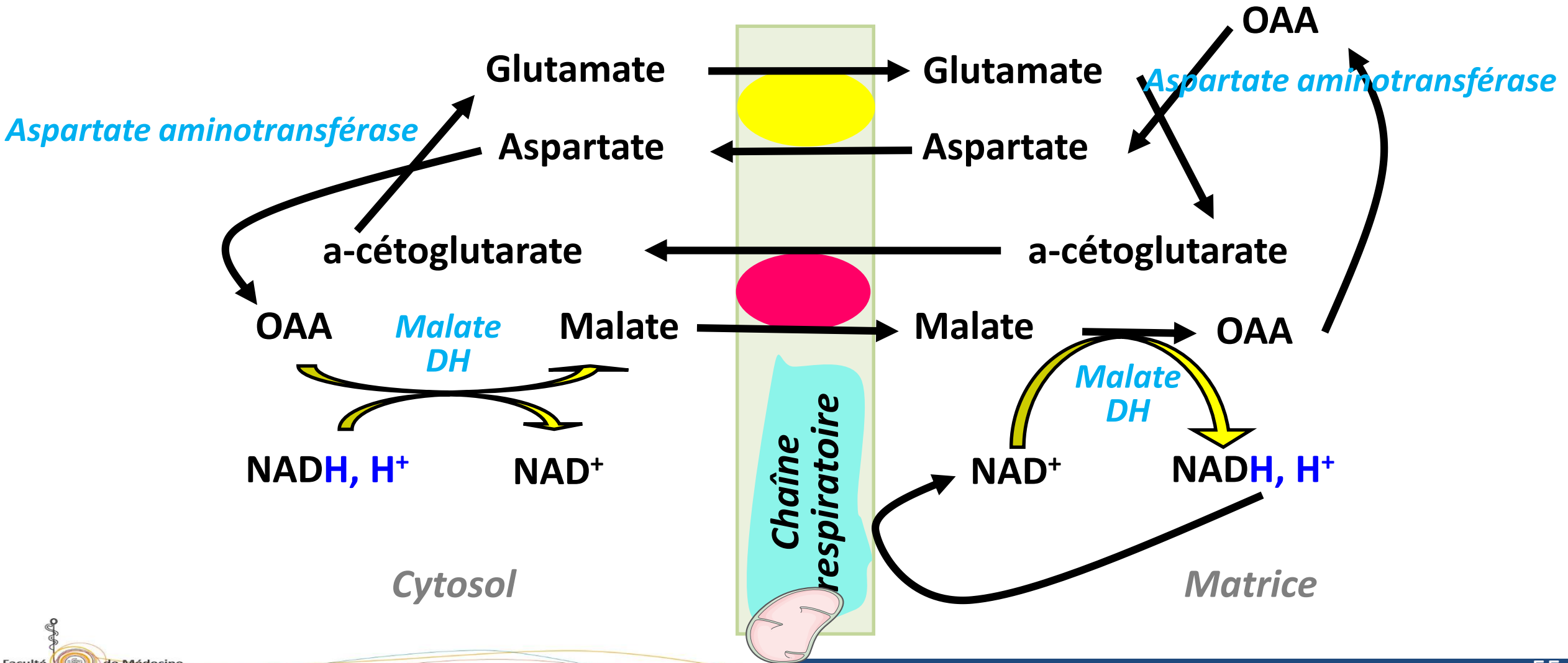
→ 2 ATP





Système malate-aspartate (cœur-foie)

→ 3 ATP



- I- Généralités
- II- La chaîne d'oxydo-reduction
- III- Les mécanismes de phosphorylation
- IV- Les transporteurs mitochondriaux
- **V- Bilan énergétique**
- VI- Les inhibiteurs

- **Oxydation d'1 NADH,H+ = expulsion de 10 H+**
 - $4\text{H}^+(\text{CI}) + 4\text{H}^+(\text{CIII}) + 2\text{H}^+(\text{CIV}) = 10\text{H}^+$
 - Production de **3 ATP**
- **Oxydation d'un FADH2 = expulsion de 6H+**
 - $4\text{H}^+(\text{CIII}) + 2\text{H}^+(\text{CIV}) = 6\text{H}^+$
 - Production de **2 ATP**
- **Classiquement on compte 3H+ pour la génération d'un ATP.**
(En réalité c'est $4\text{H}^+ \text{ NADH} \rightarrow 2,5\text{ATP}$ et $\text{FADH}_2 \rightarrow 1,5\text{ATP}$)

Glucose + 2 Pi + 2 ADP + 2 NAD⁺



2 Pyruvate + 2 ATP + 2 NADH + 2H⁺ + 2H₂O

=4 ATP (navette glycerol phosphate)

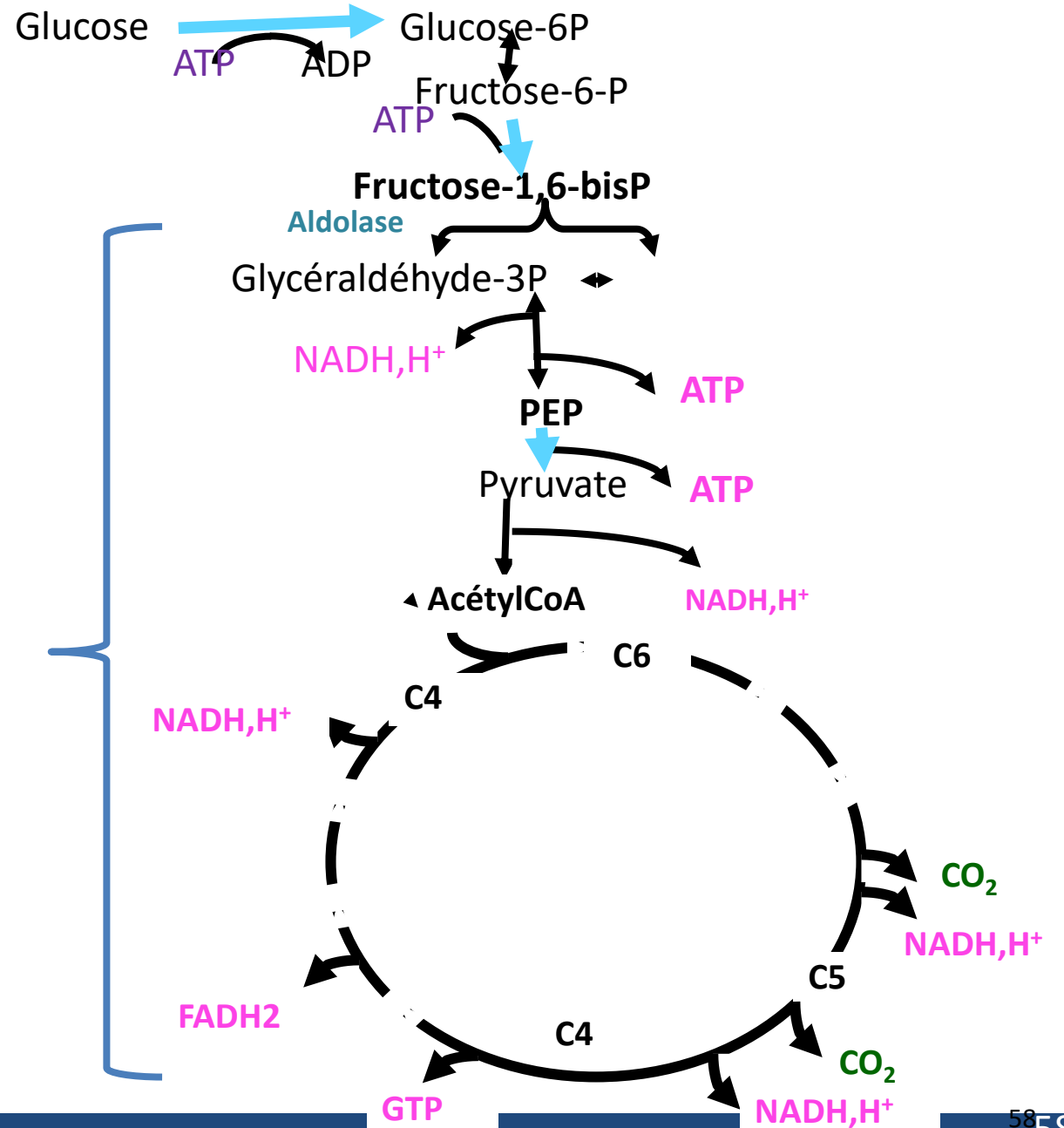
=6 ATP (navette malate aspartate)

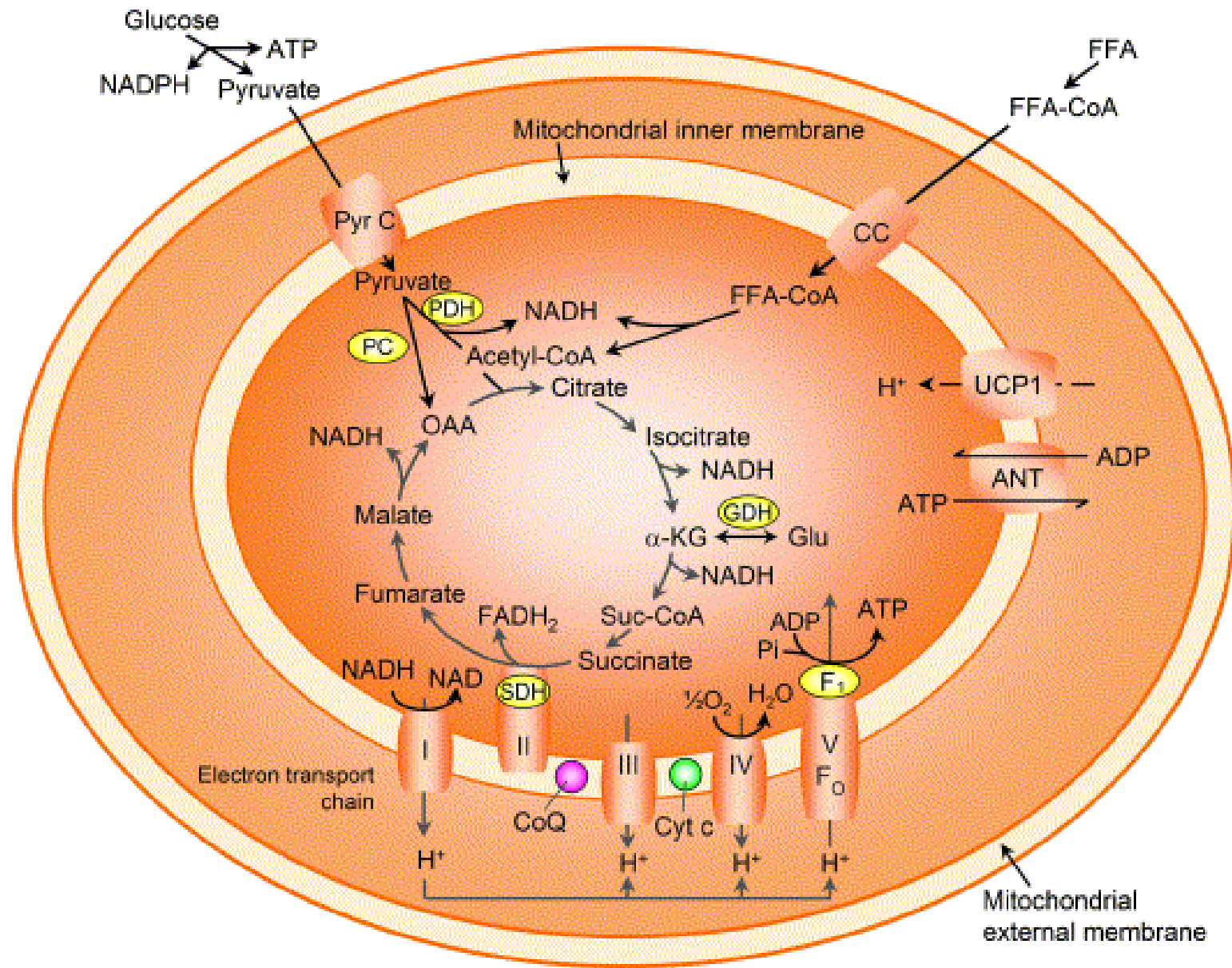
PDH: NADH*2 = 6 ATP

Krebs: (3 NADH + FADH₂ + 1 GTP)*2
12*2=24 ATP

=36 ATP 30ATP
38ATP 32ATP

2x



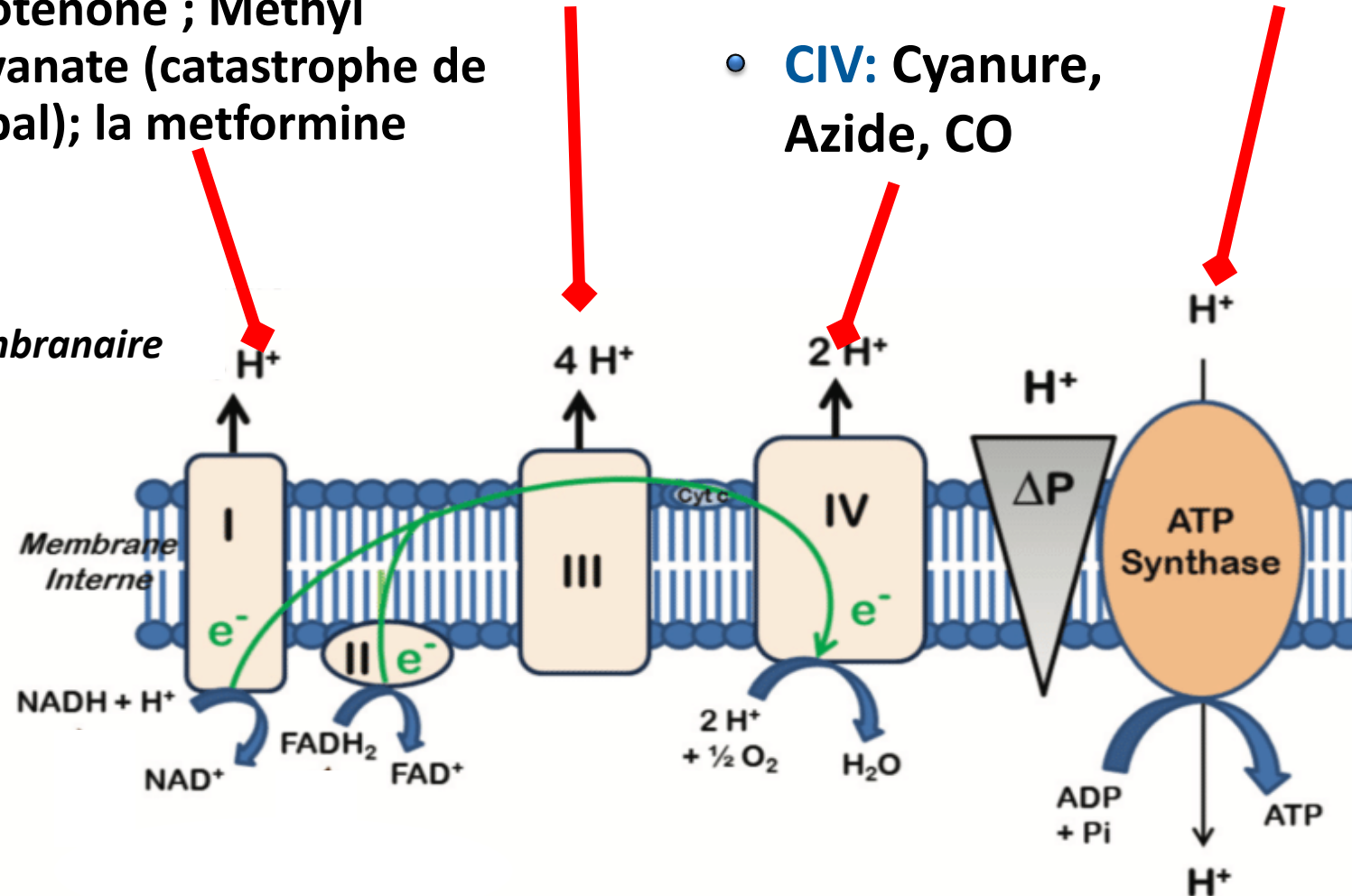


- I- Généralités
- II- La chaîne d'oxydo-reduction
- III- Les mécanismes de phosphorylation
- IV- Les transporteurs mitochondriaux
- V- Bilan énergétique
- **VI- Les inhibiteurs**

- **CI:** rotenone ; Methyl isocyanate (catastrophe de Bhopal); la metformine
- **CIII:** Antimycine A (antibiotique)
- **CIV:** Cyanure, Azide, CO
- **ATP-synthase :** oligomycine

Espace intermembranaire

Matrice



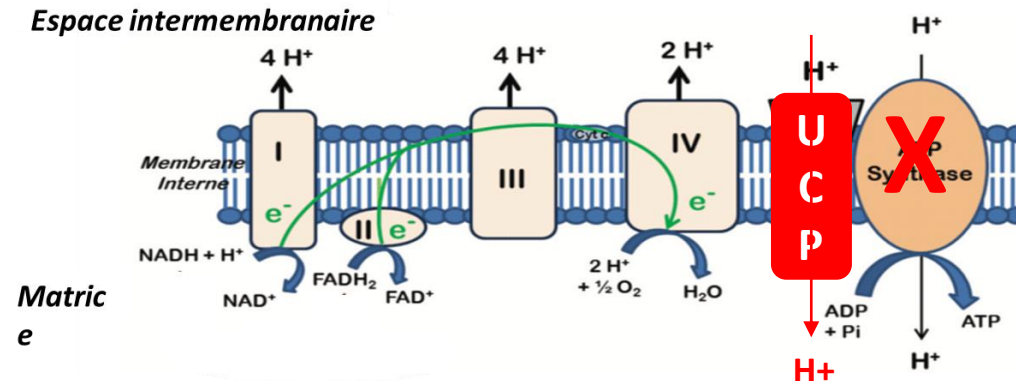
• Découplant: :

- **Découplage pour produire de la chaleur:** famille des protéines UCP (uncoupling protein) permettent **le retour des protons dans la matrice sans activation de l'ATP synthase**, E dissipée sous forme de chaleur

-> **thermogenèse NN, mammifère hibernant**

production UCP augmentée par hormones thyroïdiennes, adrénaline

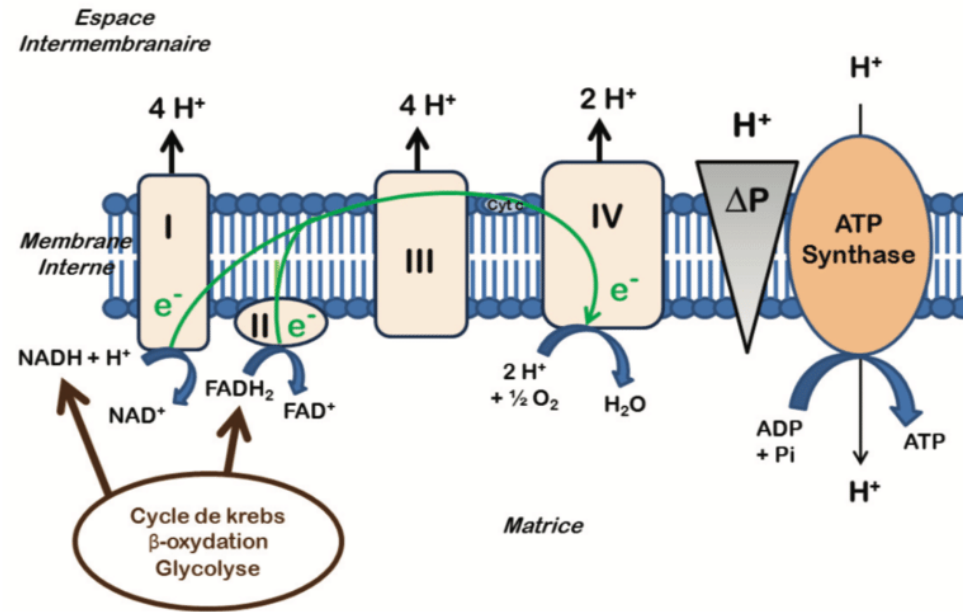
- **substance chargée traversent MIM neutralise H⁺:** dinitrophenol, CCCP, FCCP



• ANT: atractyloside, acid bongkreique

- Le fonctionnement de la chaîne respiratoire est associé à la production d'ATP mais également à celle de radicaux libres oxygénés en faible quantité (physiologique) :
- $O_2^{\cdot -}$ (anion superoxyde est toxique pour les cellules, présence d'une superoxyde dismutase mitochondriale)
- Tout dysfonctionnement de la chaîne respiratoire entraîne l'accumulation de RLO au niveau des complexes I et III (conséquences pathologiques du stress oxydant : lésions sur ADN mito, lipides et protéines membranaires).

Take home messages



- Source primordiale de production d'ATP chez l'homme
- Lié à un gradient de proton
- Limité par les apports d' O_2 (sinon mort cellulaire)