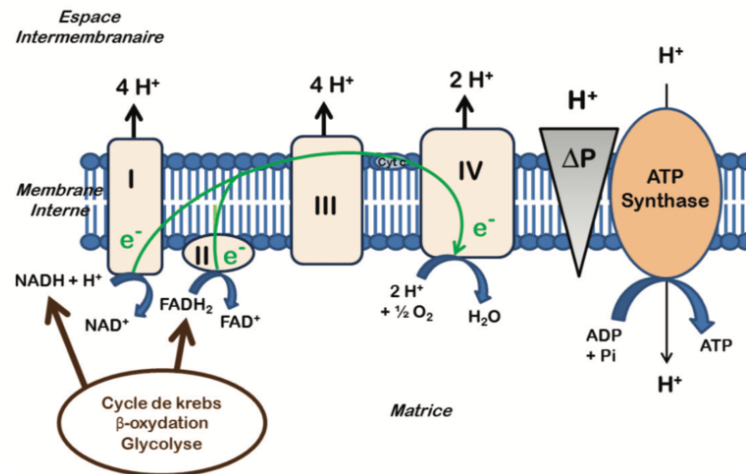
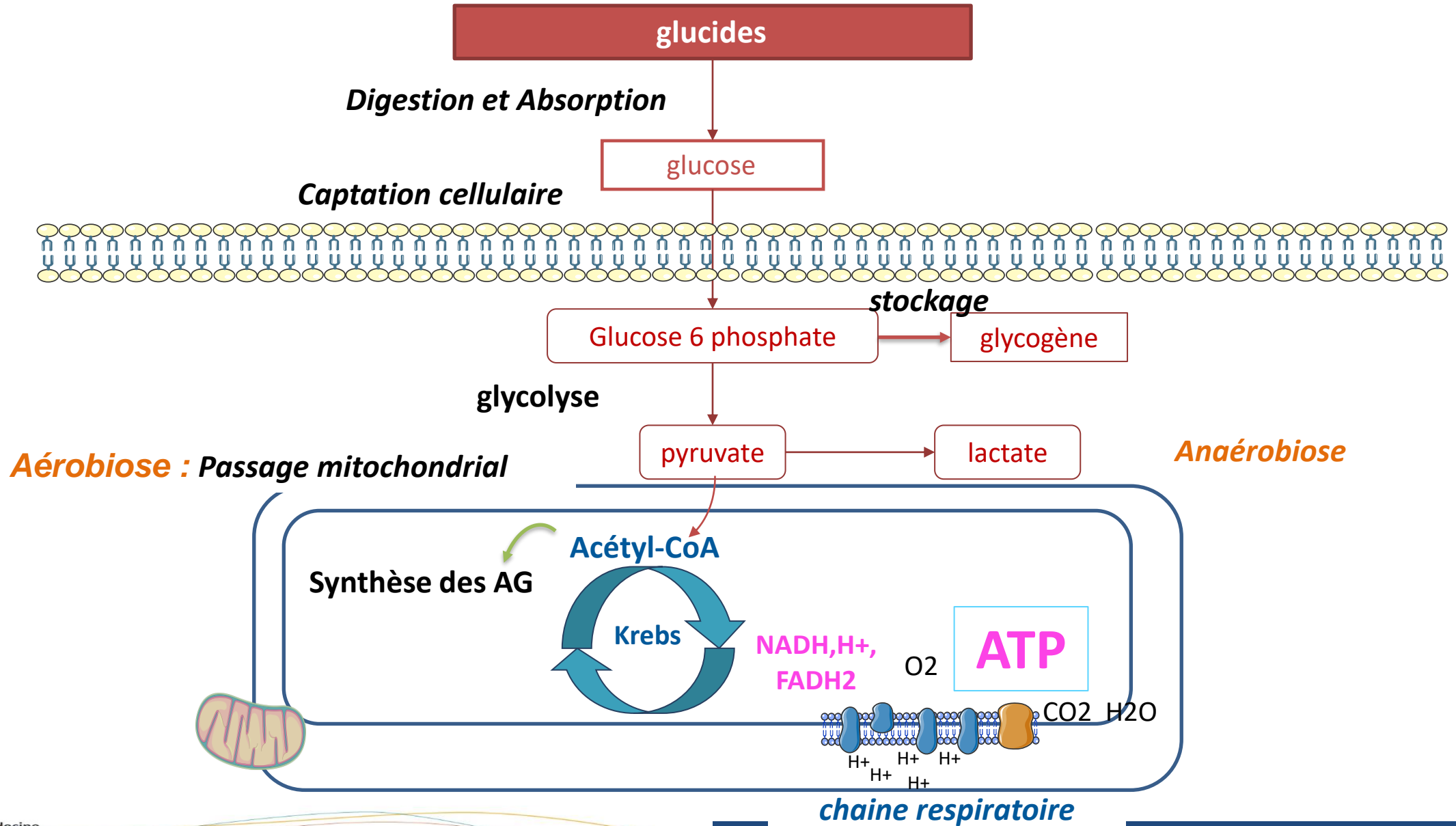


LA CHAÎNE RESPIRATOIRE



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

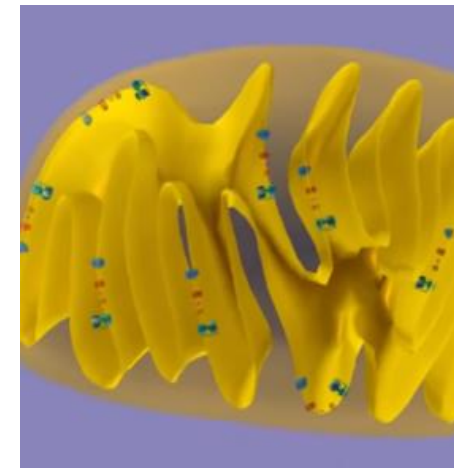
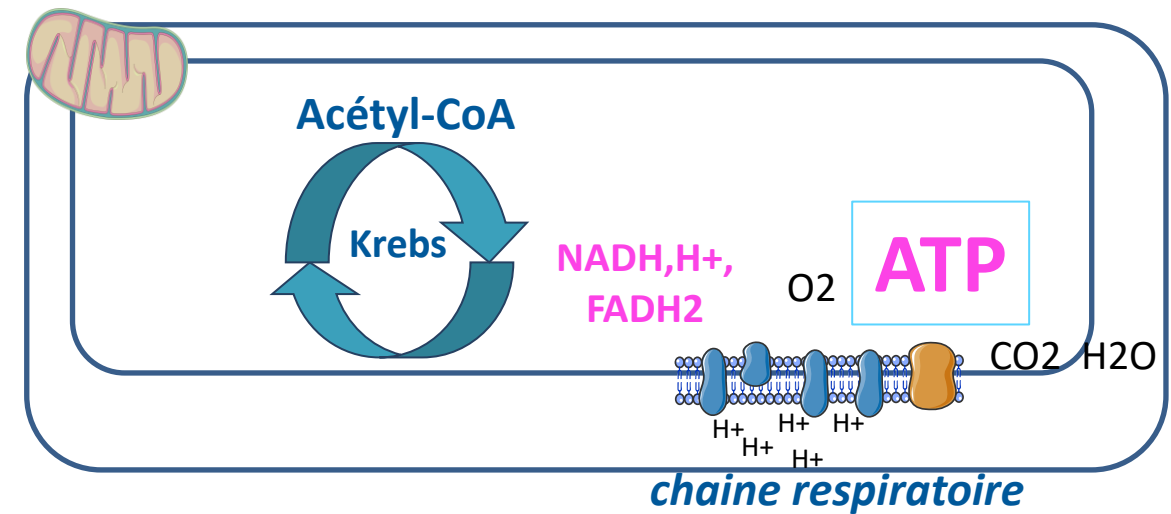
- Production ATP et H₂O à partir des H des molécules énergétiques et de l'O₂ de l'air

- 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

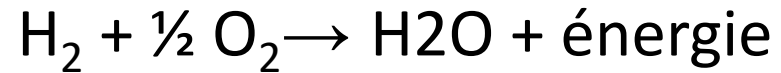


- L'ATP synthétisé par phosphorylation de l'ADP en utilisant l'énergie produite lors de la chaîne d'oxydoreduction

- Chaque mitochondrie contient des milliers d'exemplaires de la chaîne permettant le transport d'électrons (crêtes)



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

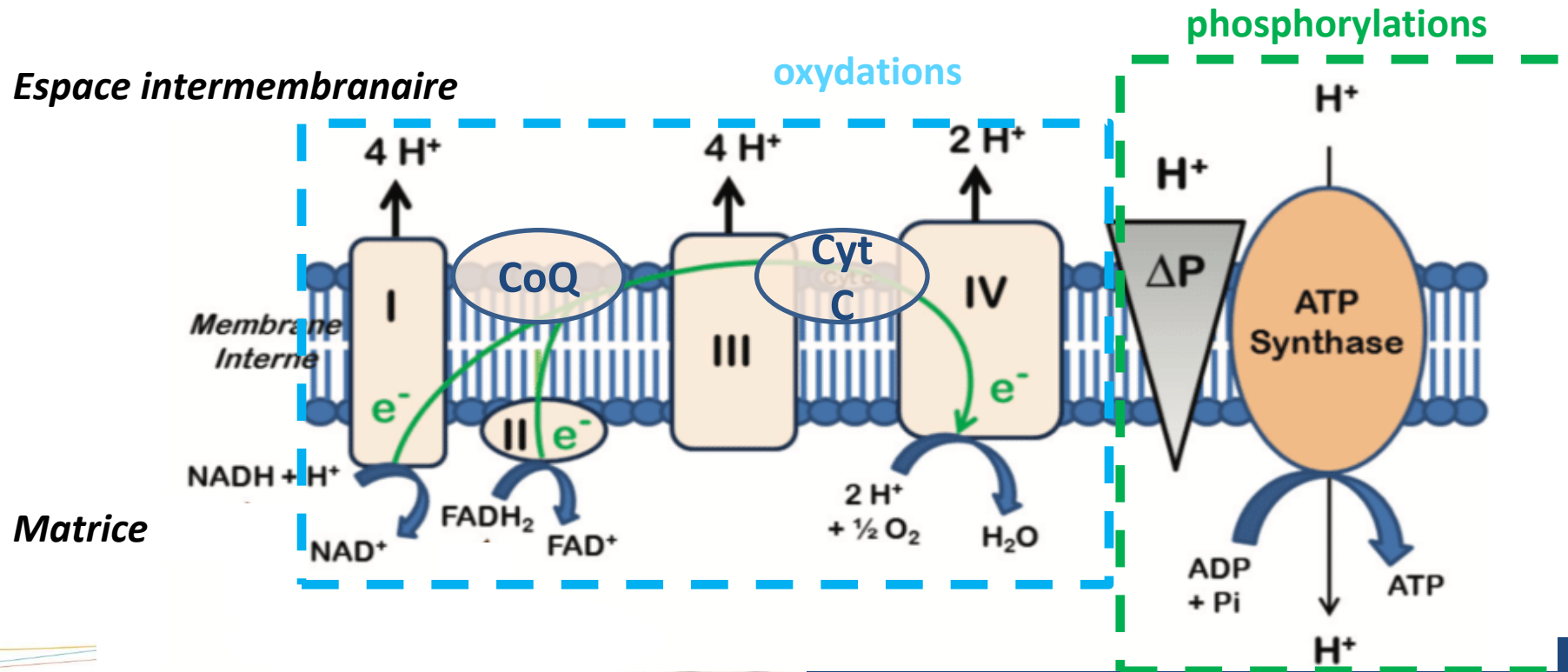


$\Delta E^{\circ'} = +1,24 \text{ V}$ et $\Delta G^{\circ'} = - 239 \text{ kJ/mol}$: réaction explosive

- 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

- 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**

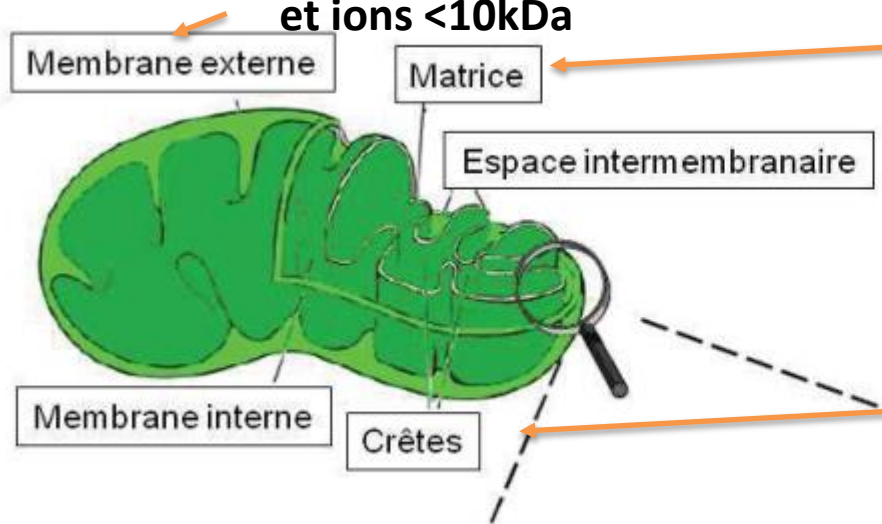


Poreuses aux petites molécules
et ions <10kDa

cycle de Krebs ,
Oxydation des acides gras

impermeable aux ions et
molécules.

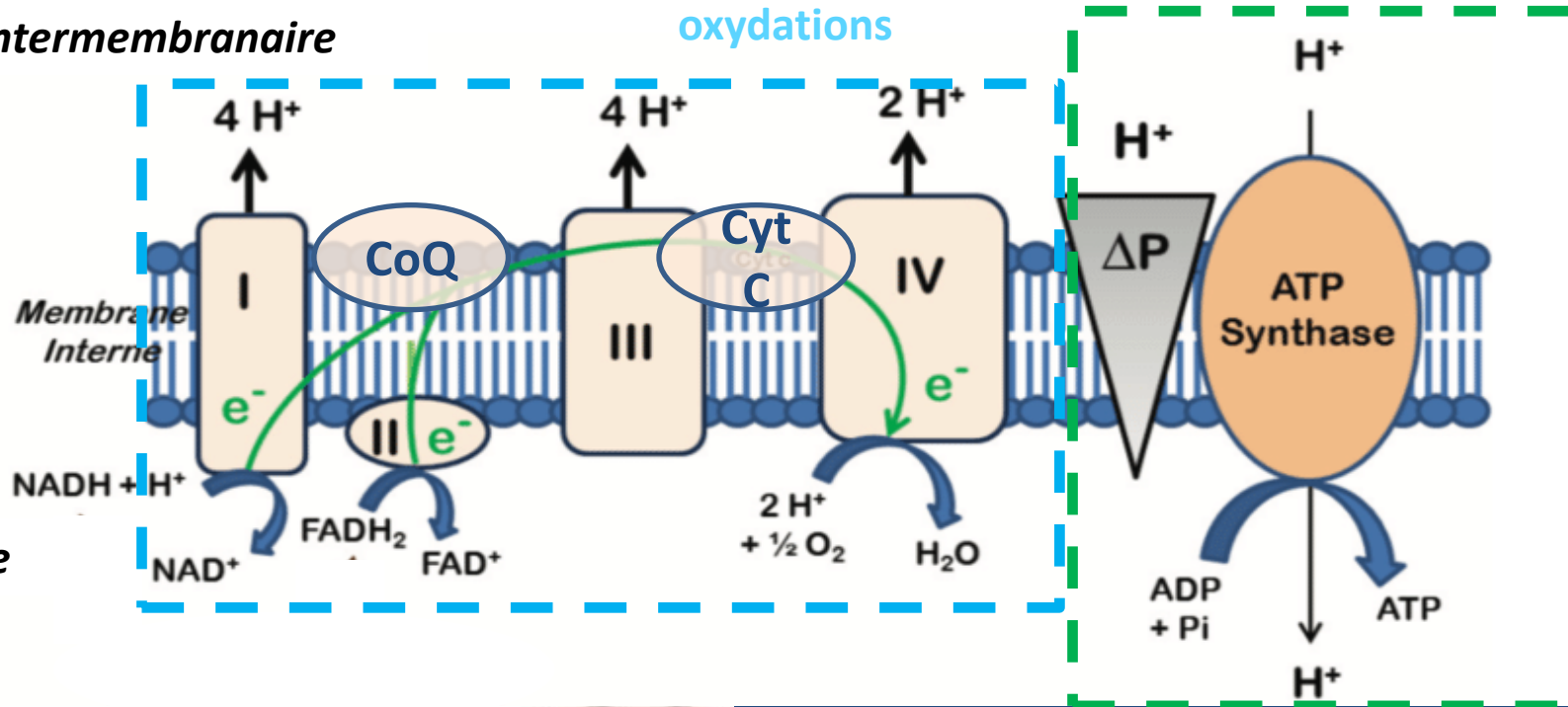
phosphorylations



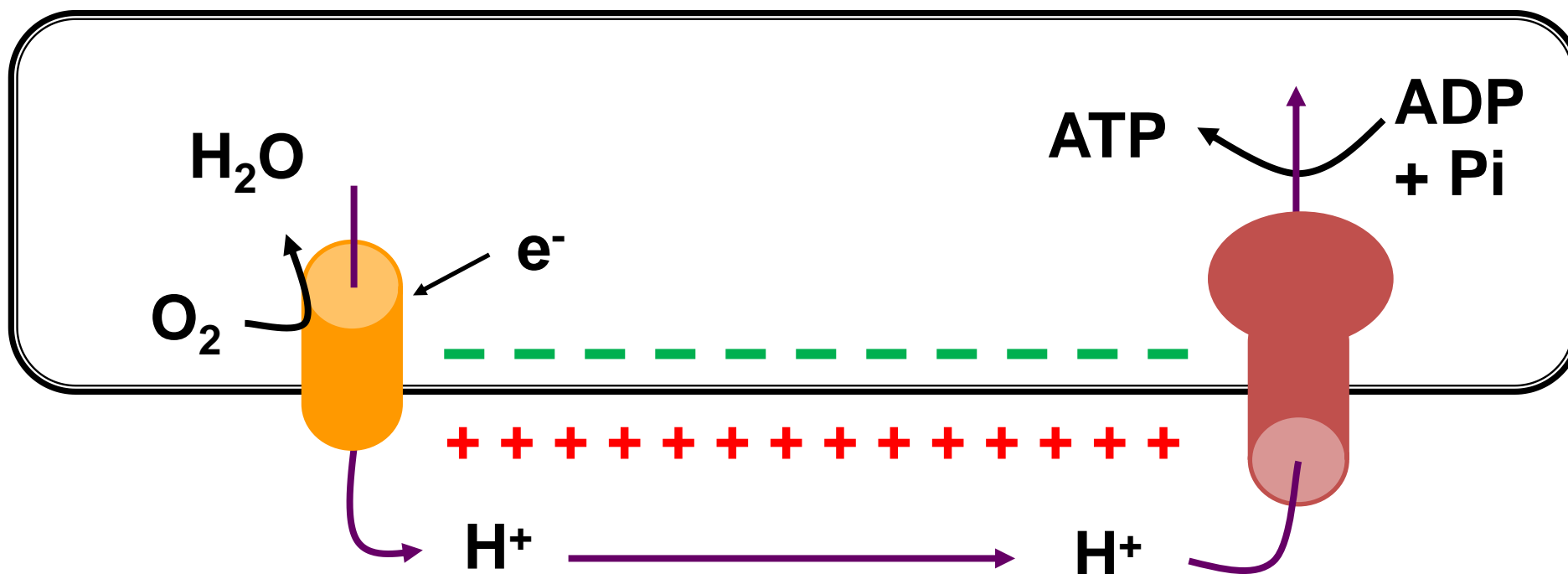
Espace intermembranaire

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'1 substance a une affinité **plus faible** pour e^- qu' H_2

Si $E'_0 > 0$, la forme oxydée d'1 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 $\Delta G'^0 = - 52,6 \text{ kcal/mol}$

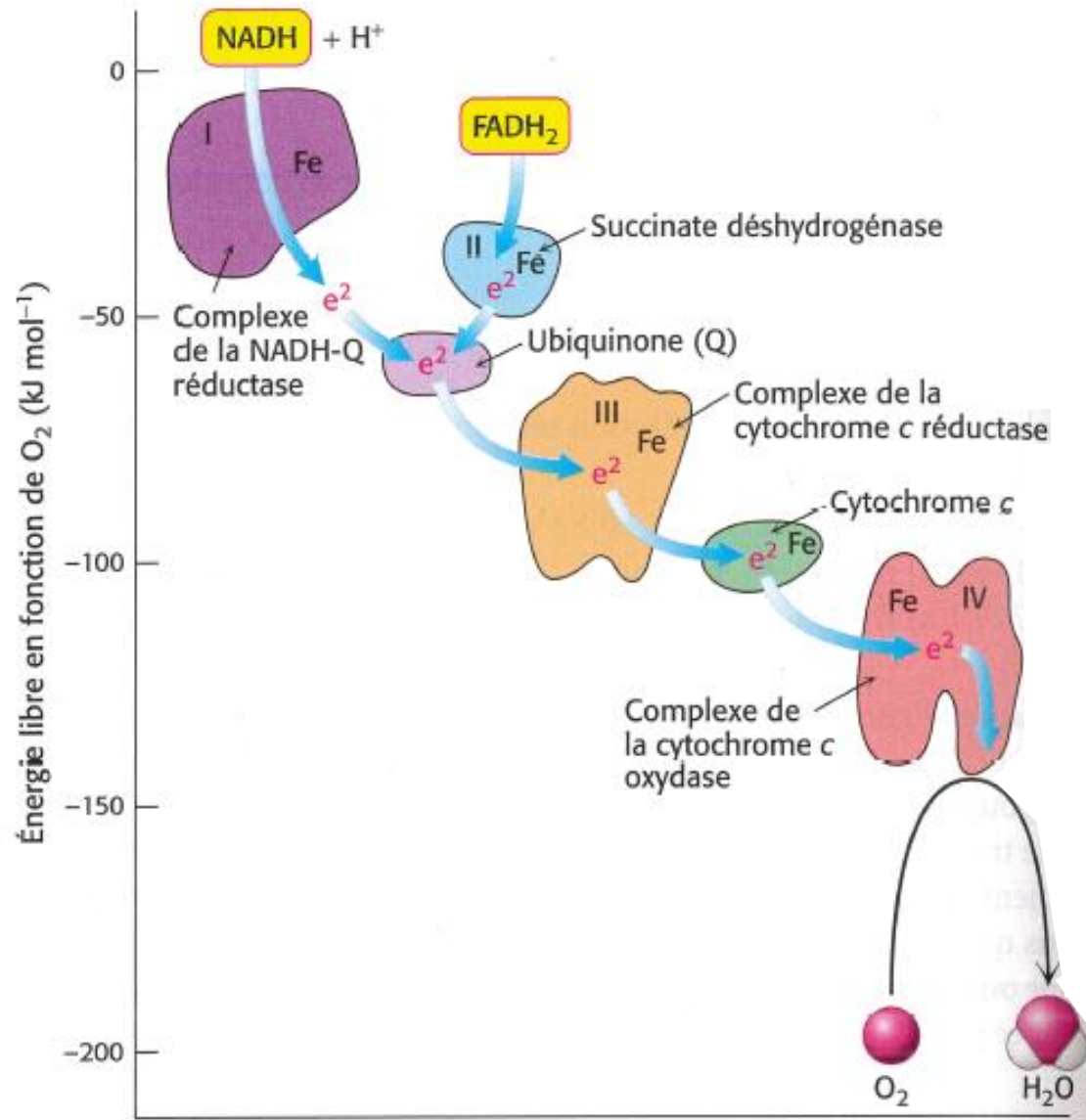
Mesure : **Potentiel de transfert de groupe phosphate $\Delta G^{\circ\prime}$**

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

La chaîne d'oxydoréduction

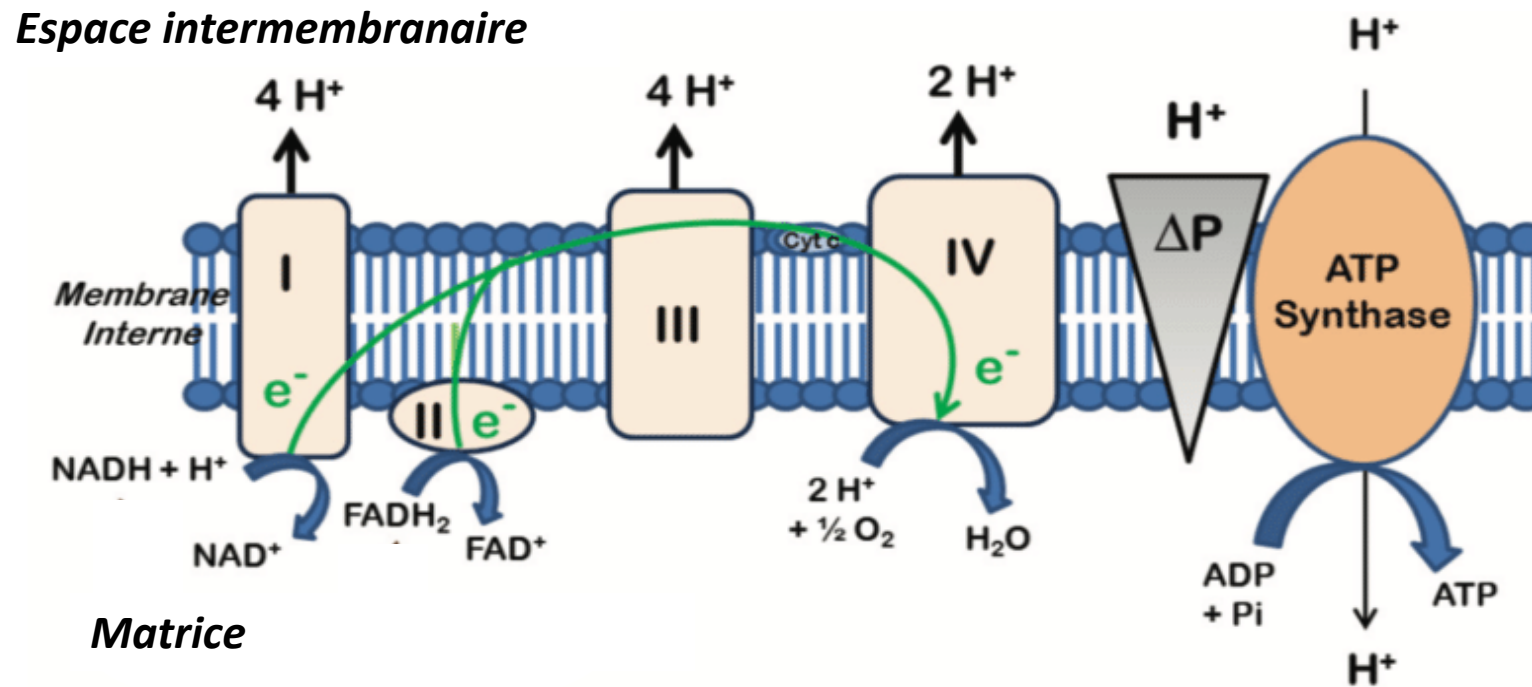
I/ Généralités
II/ La chaîne d'oxydoreduction
III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux
V/ Bilan énergétique
VI/ Les inhibiteurs

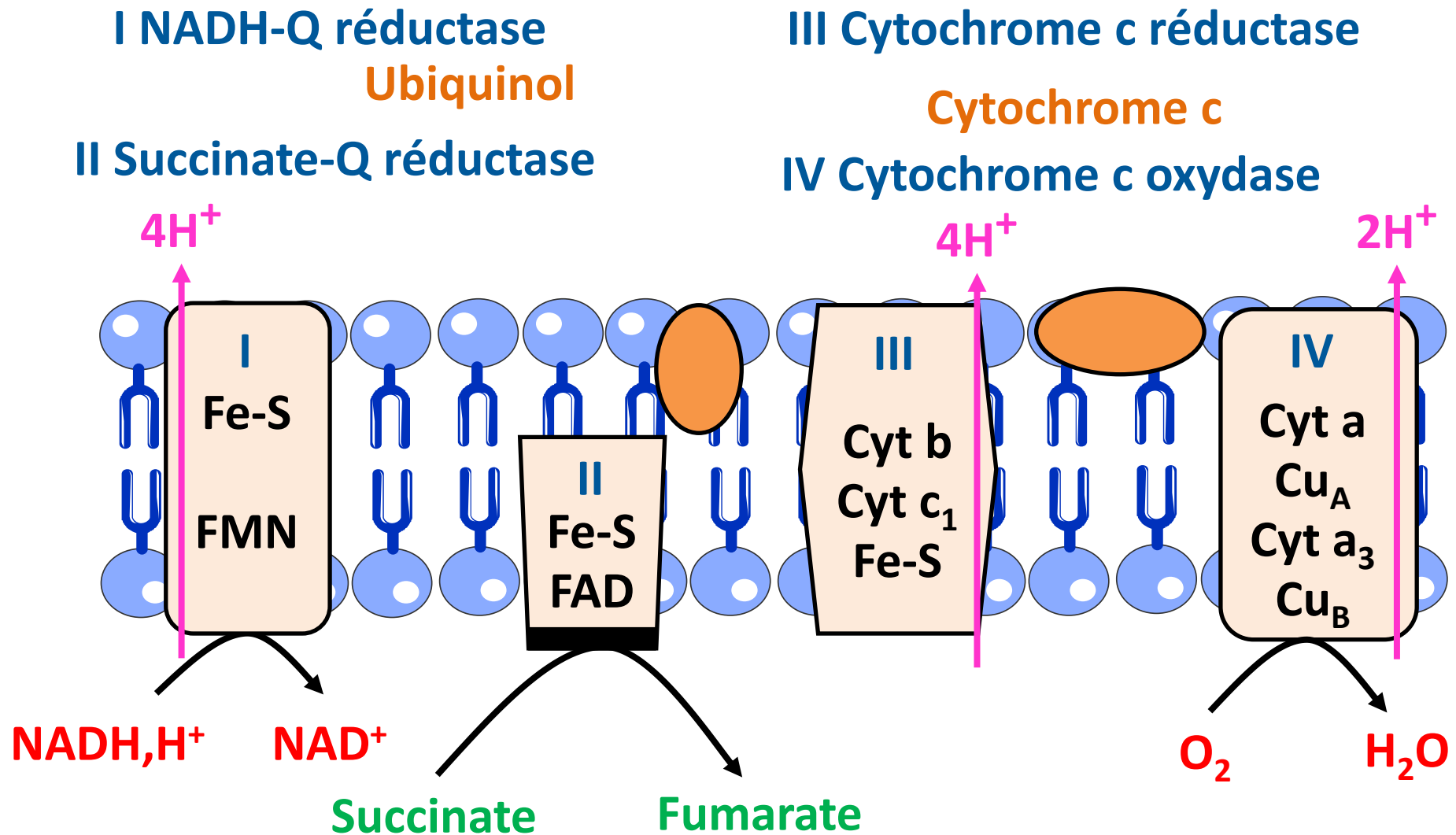


- Les éléments fixes

- 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



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
prosthétiques**

FMN, Fe-S

- Les différentes étapes du transfert
 - Complexe I NADH-Q reductase
 - 1er transfert : FMN

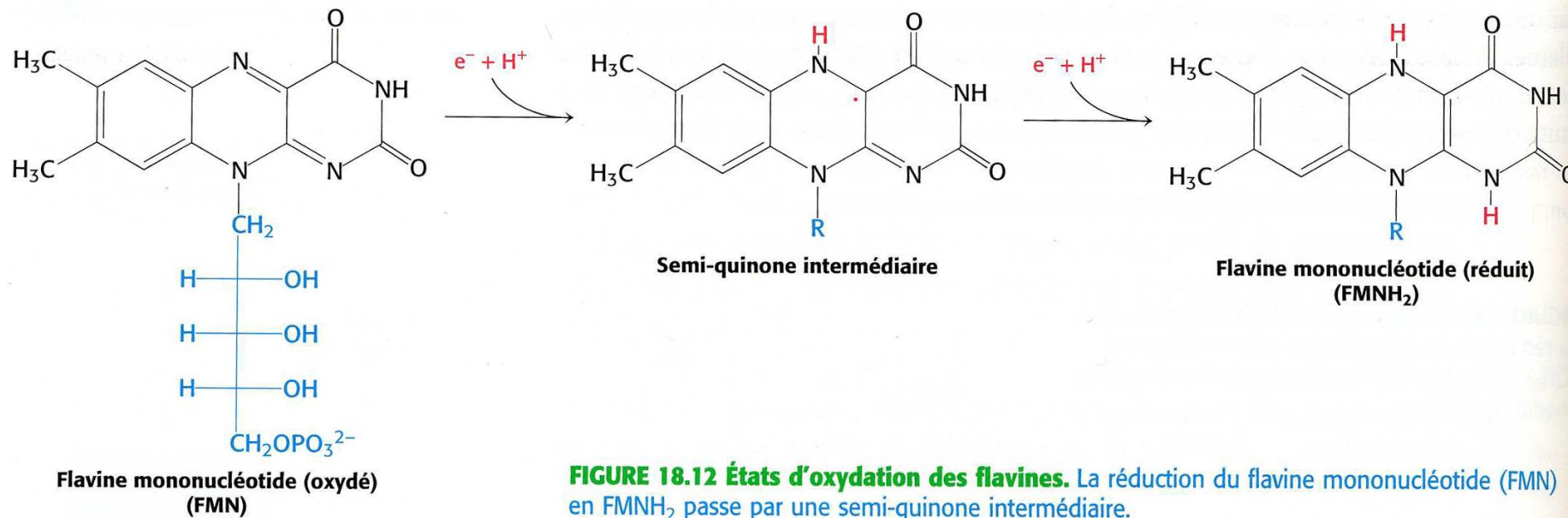


FIGURE 18.12 États d'oxydation des flavines. La réduction du flavine mononucléotide (FMN) en FMNH₂ passe par une semi-quinone intermédiaire.

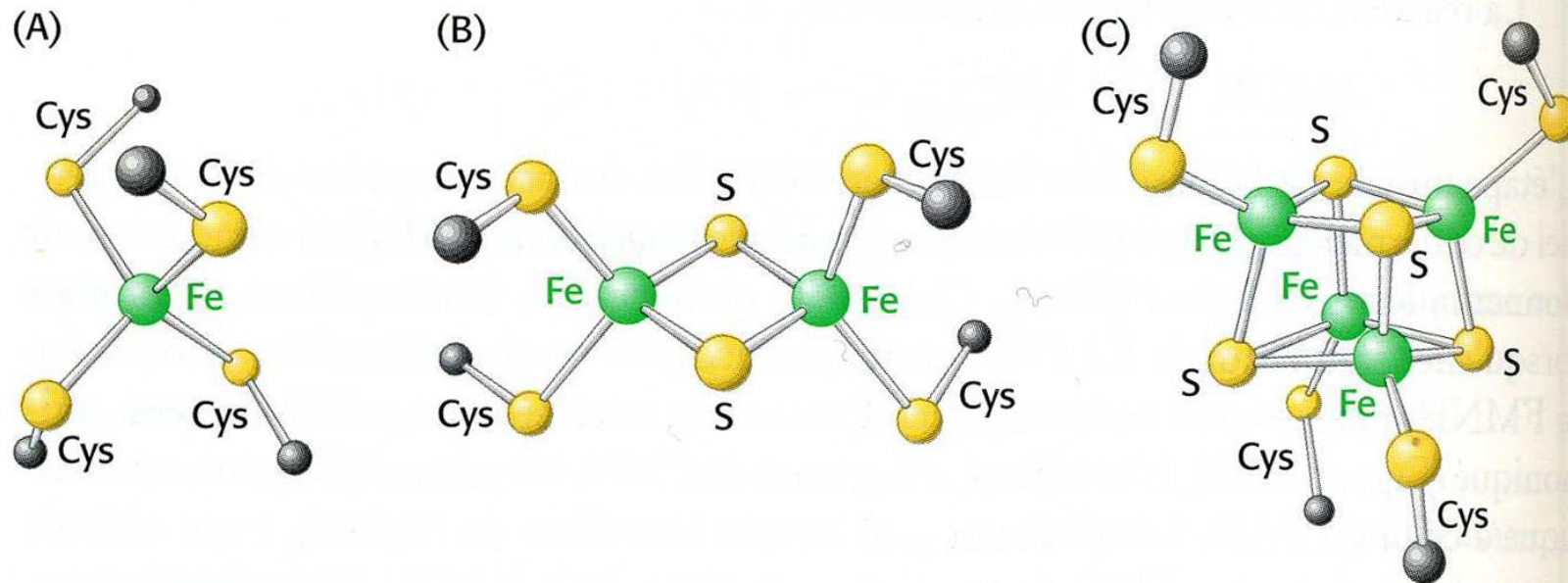
• Les différentes étapes du transfert

■ Complexe I NADH-Q reductase

■ 1er transfert : FMN

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

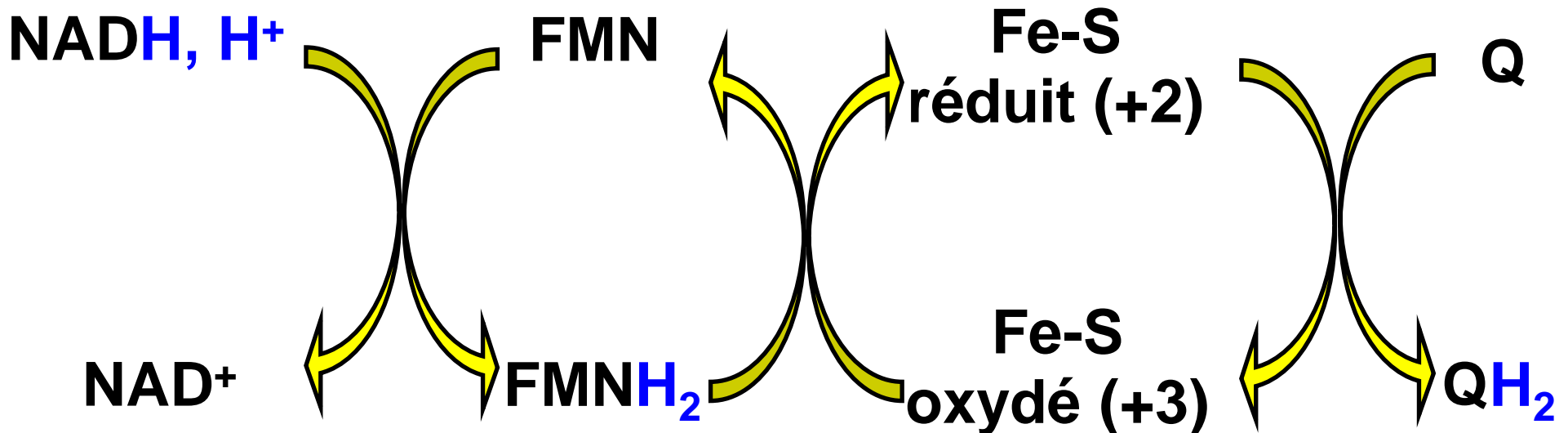
Un seul atome de fer est coordonné tétraédriquement aux groupements sulfhydryles de 4 résidus Cys



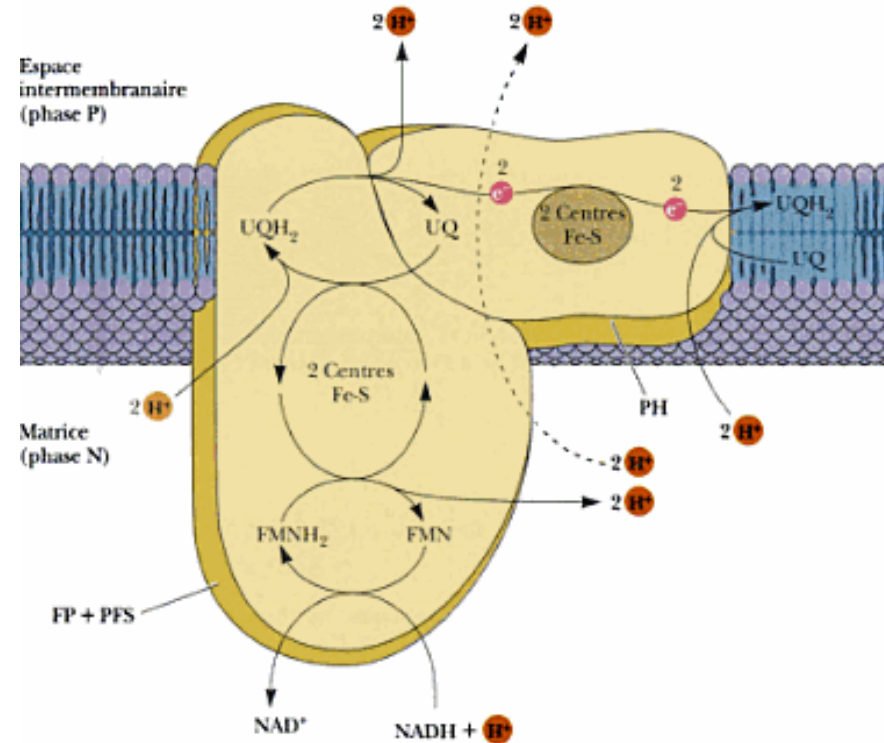
- Les différentes étapes du transfert

- Complexe I NADH-Q reductase

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



- 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

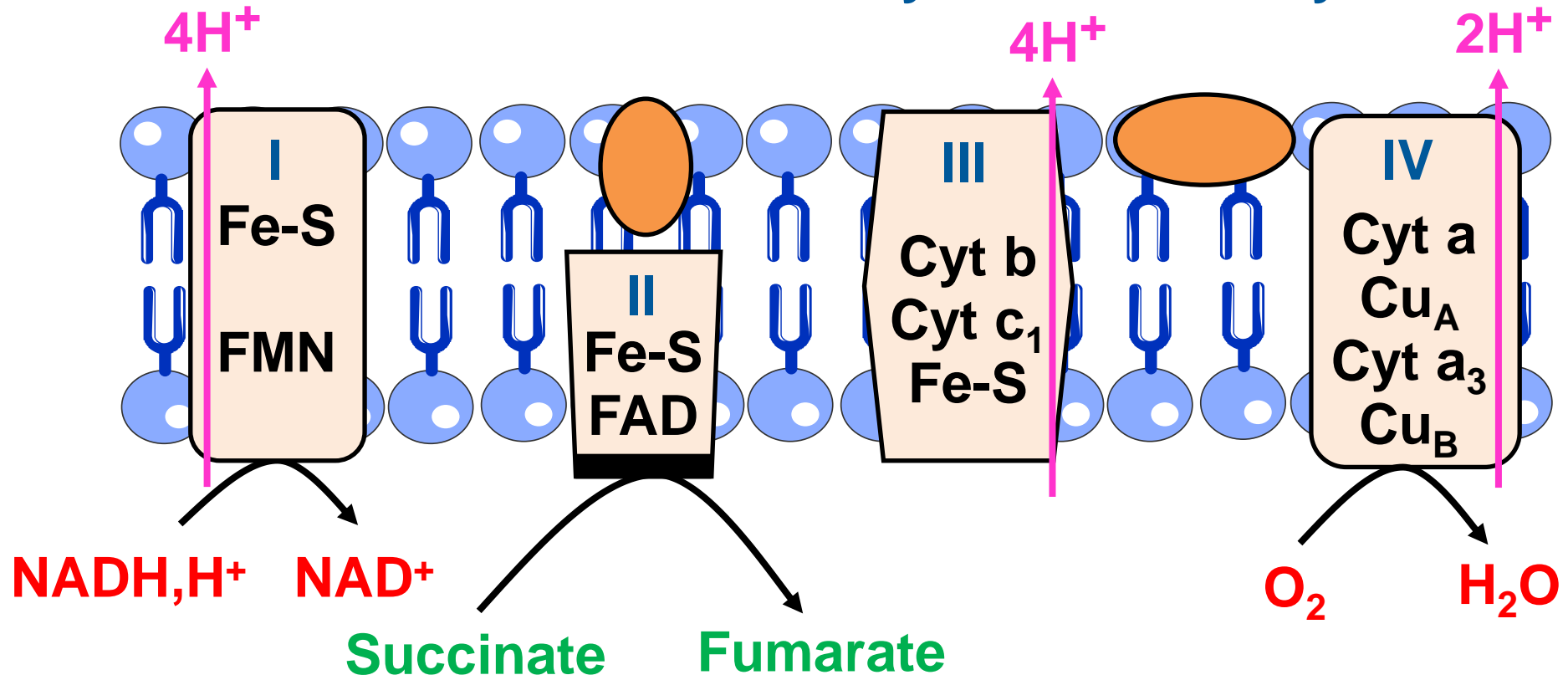
Ubiquinol

II Succinate-Q réductase

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

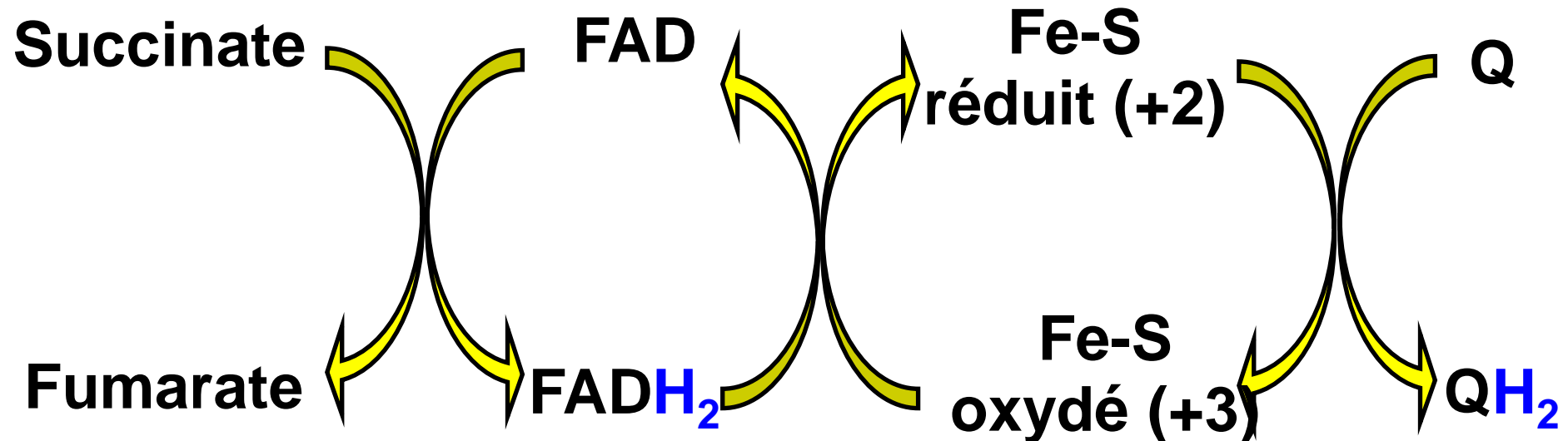
IV Cytochrome c oxydase



- Les différentes étapes du transfert

- Succinate-Q réductase (CII)

- 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 > QH₂)			
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

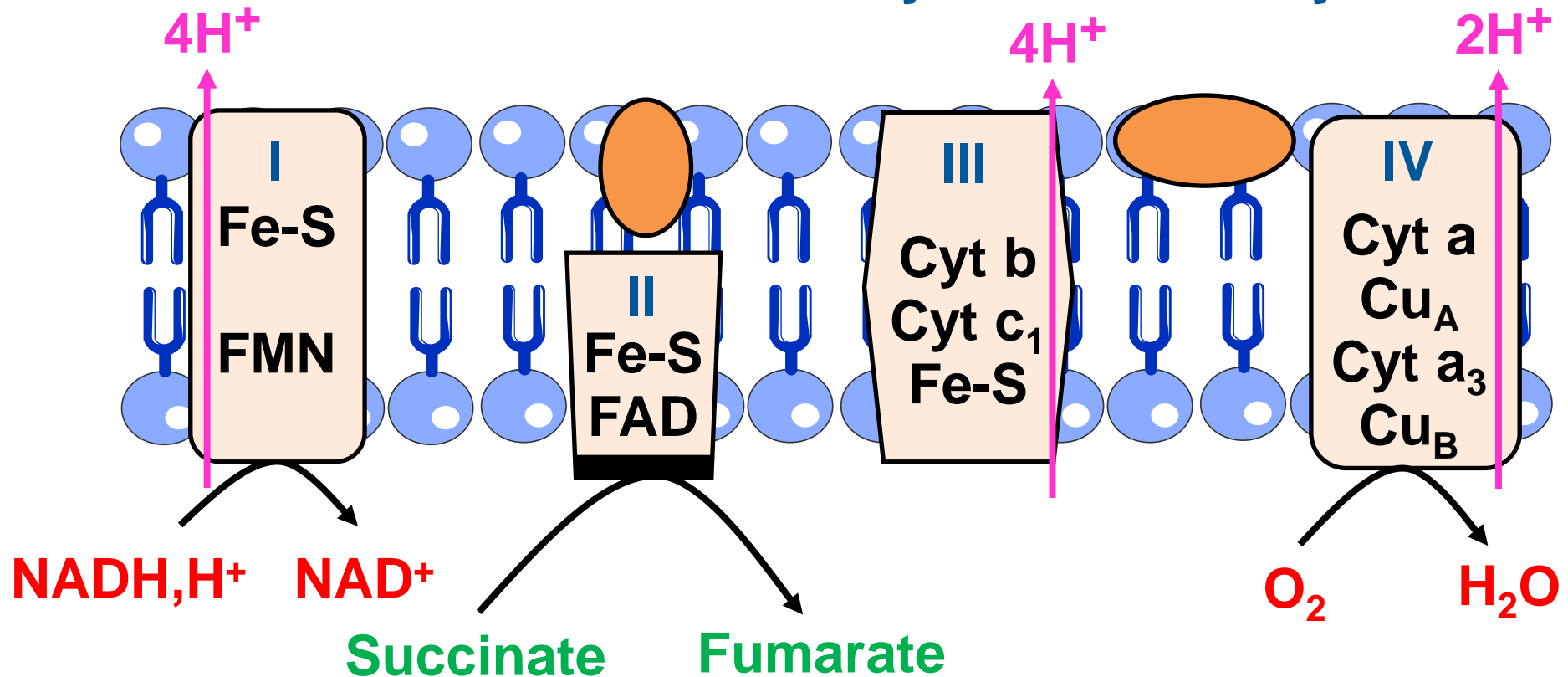
Ubiquinol

II Succinate-Q réductase

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

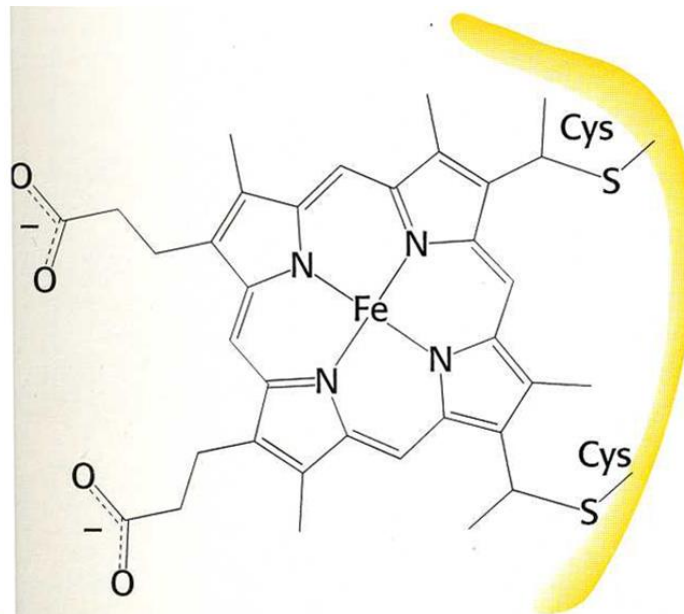
IV Cytochrome c oxydase



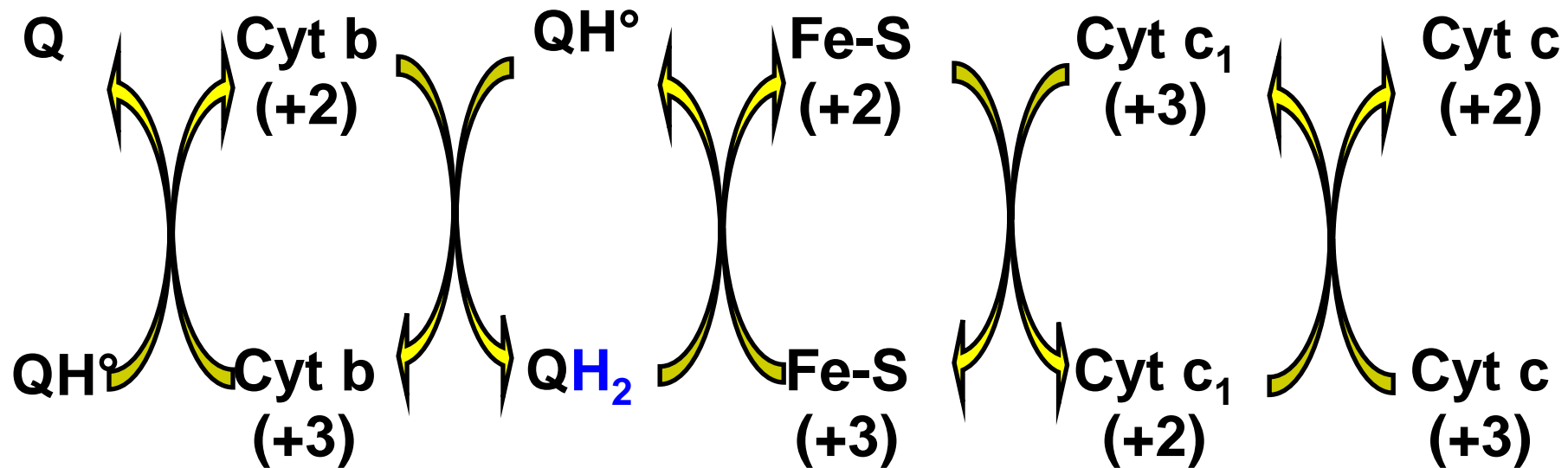
- Les différentes étapes du transfert

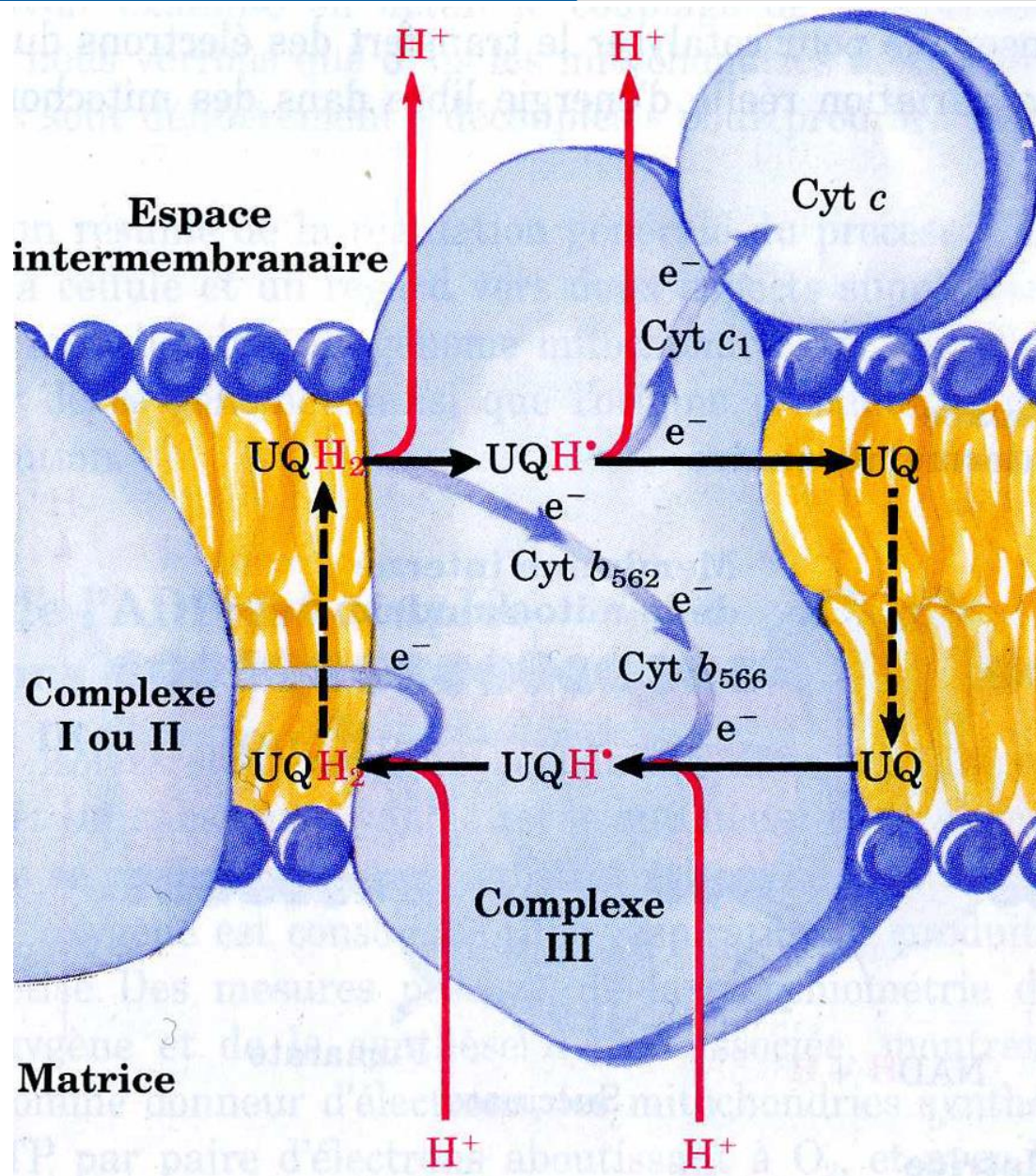
- Cytochrome c réductase (III)

- 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

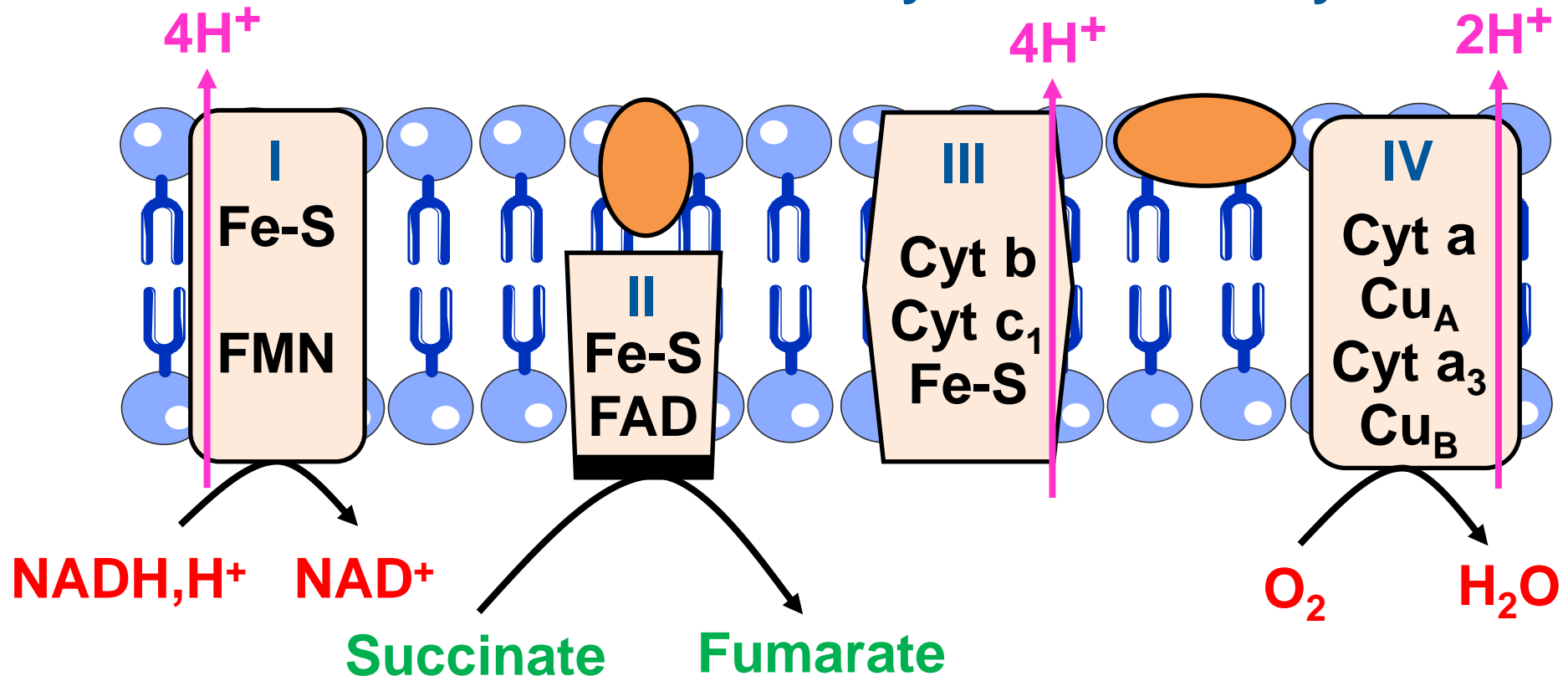
Ubiquinol

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

II Succinate-Q réductase

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 oxydoreductase à la cytochrome c oxydase

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

I NADH-Q réductase

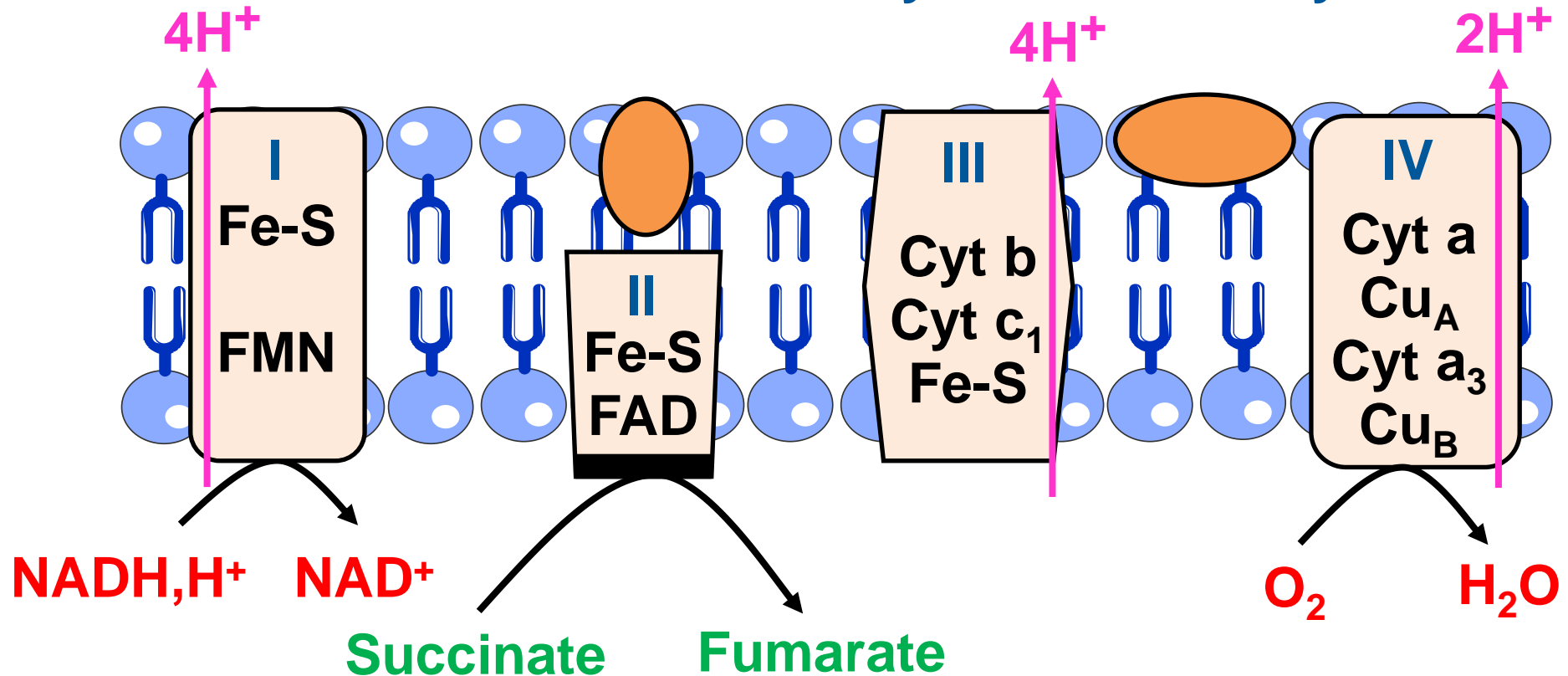
Ubiquinol

II Succinate-Q réductase

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

IV Cytochrome c oxydase



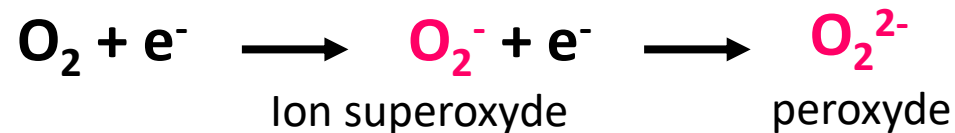
La chaîne d'oxydoréduction

- Les différentes étapes du transfert
 - Cytochrome c oxydase (CIV)

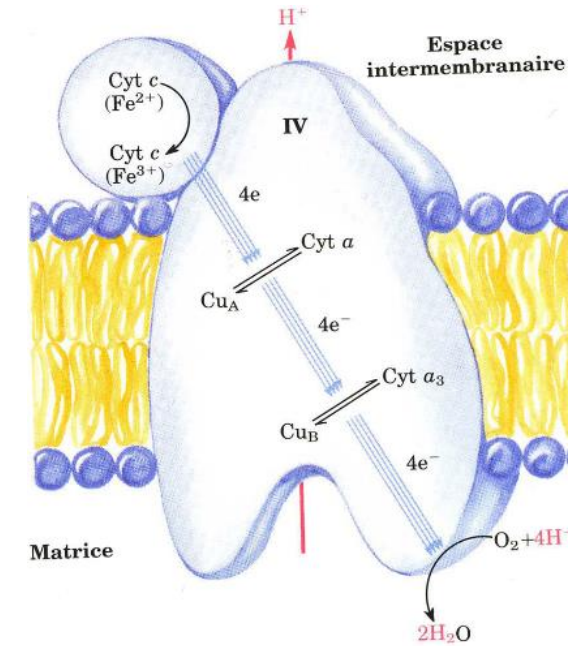


4 électrons sont canalisés vers O_2 pour le réduire totalement en H_2O et, de façon concomitante, pour pomper des protons de la matrice vers la face cytosolique de la membrane mitochondriale interne

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

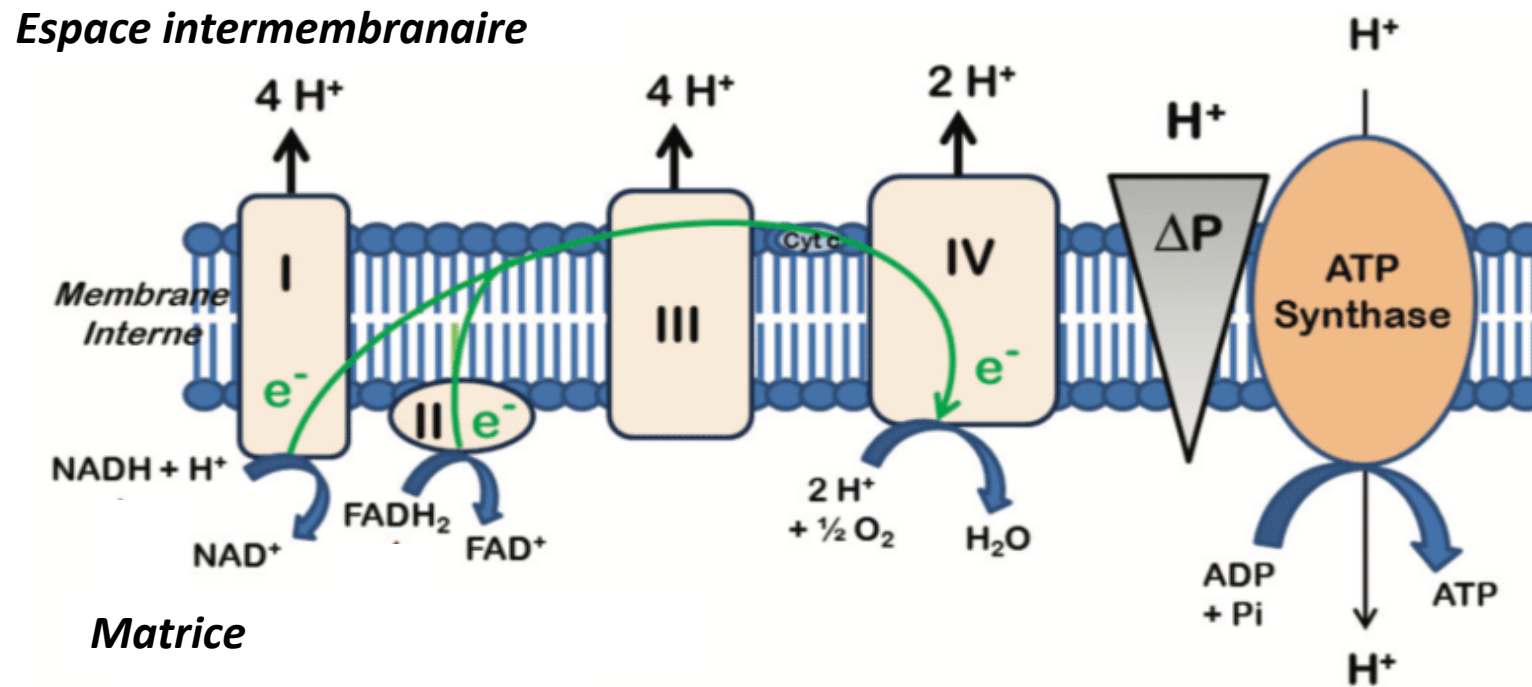


2 H^+ sont conduits dans l'espace intermembranaire



- 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



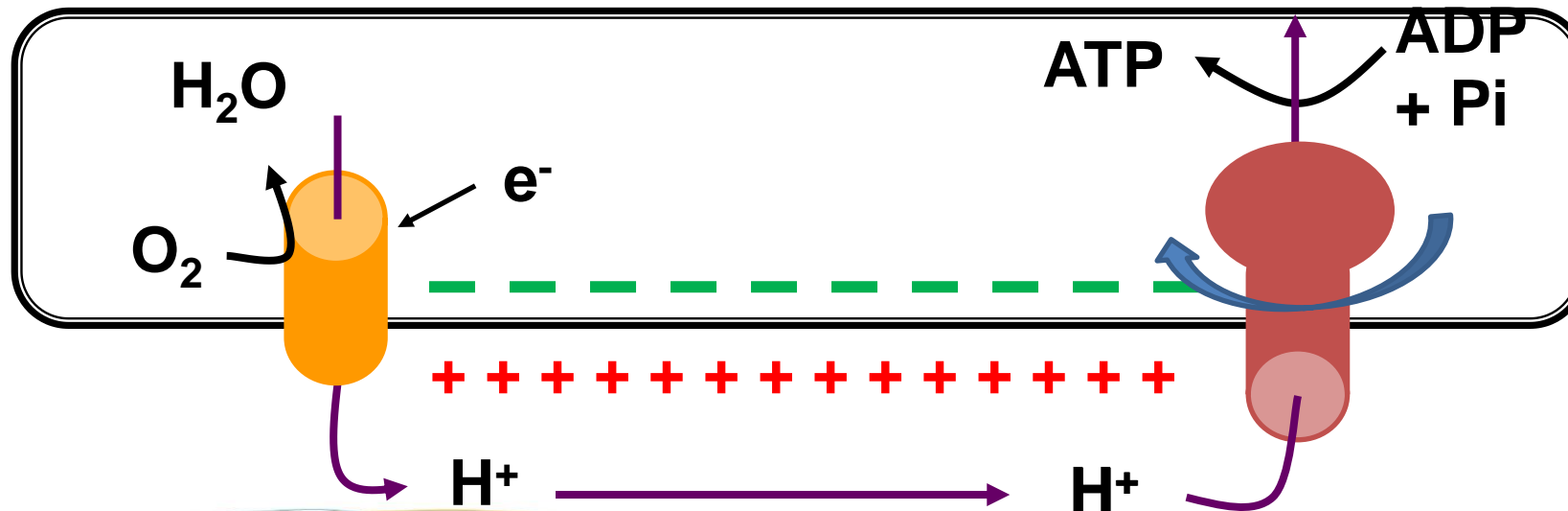
Flux d'e⁻ du NADH vers O₂ : processus **exergonique**



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)

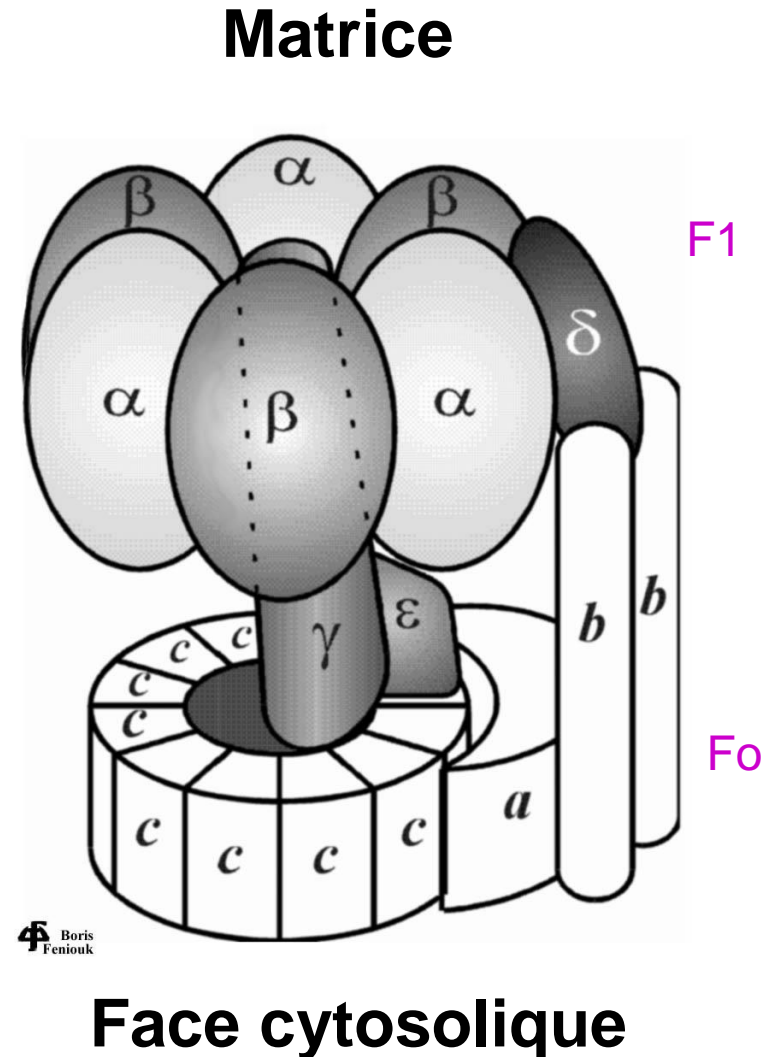
Tige centrale : ϵ et γ

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



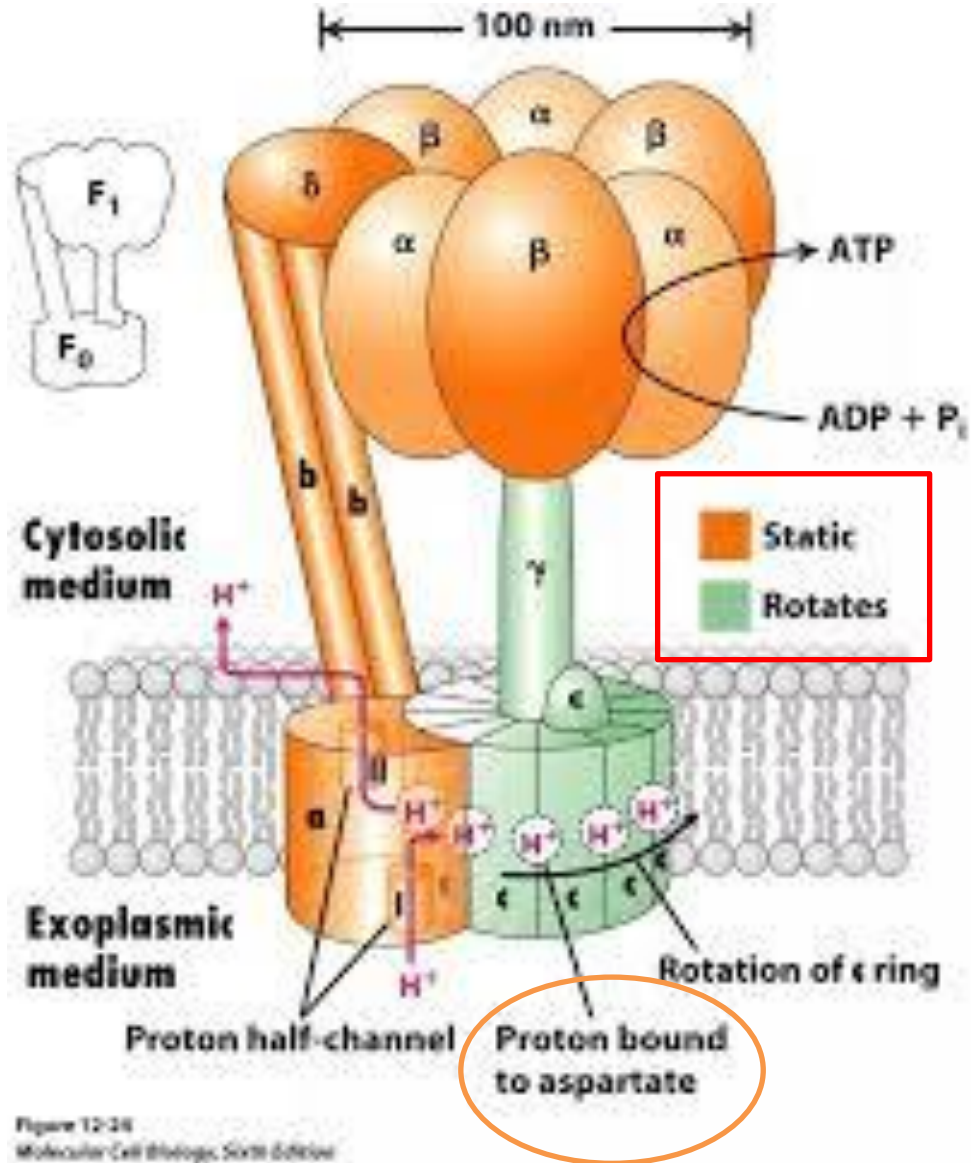
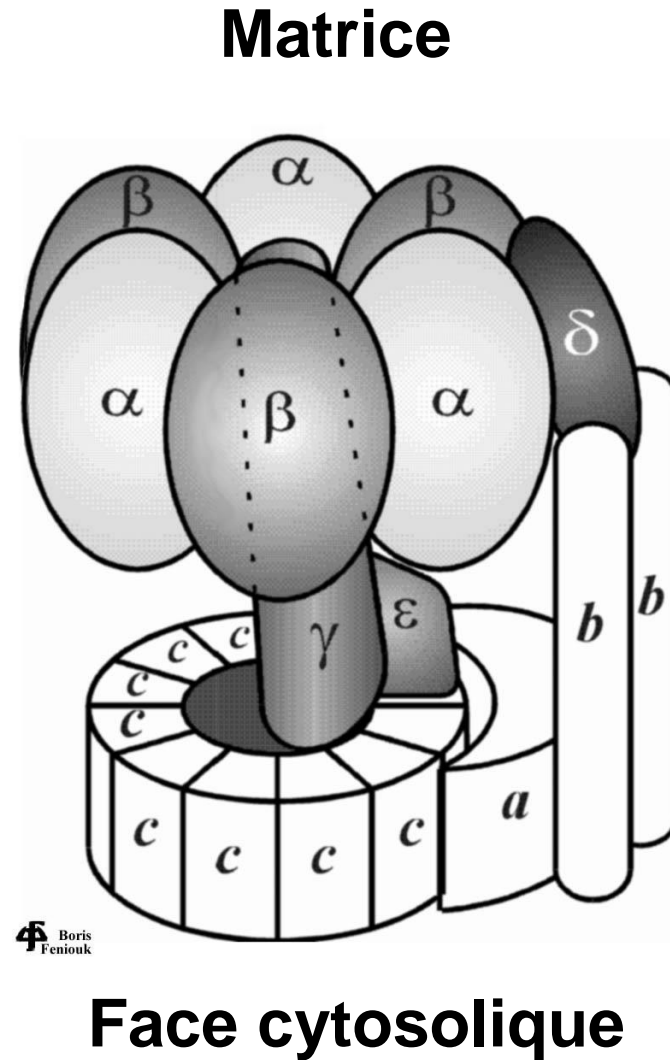
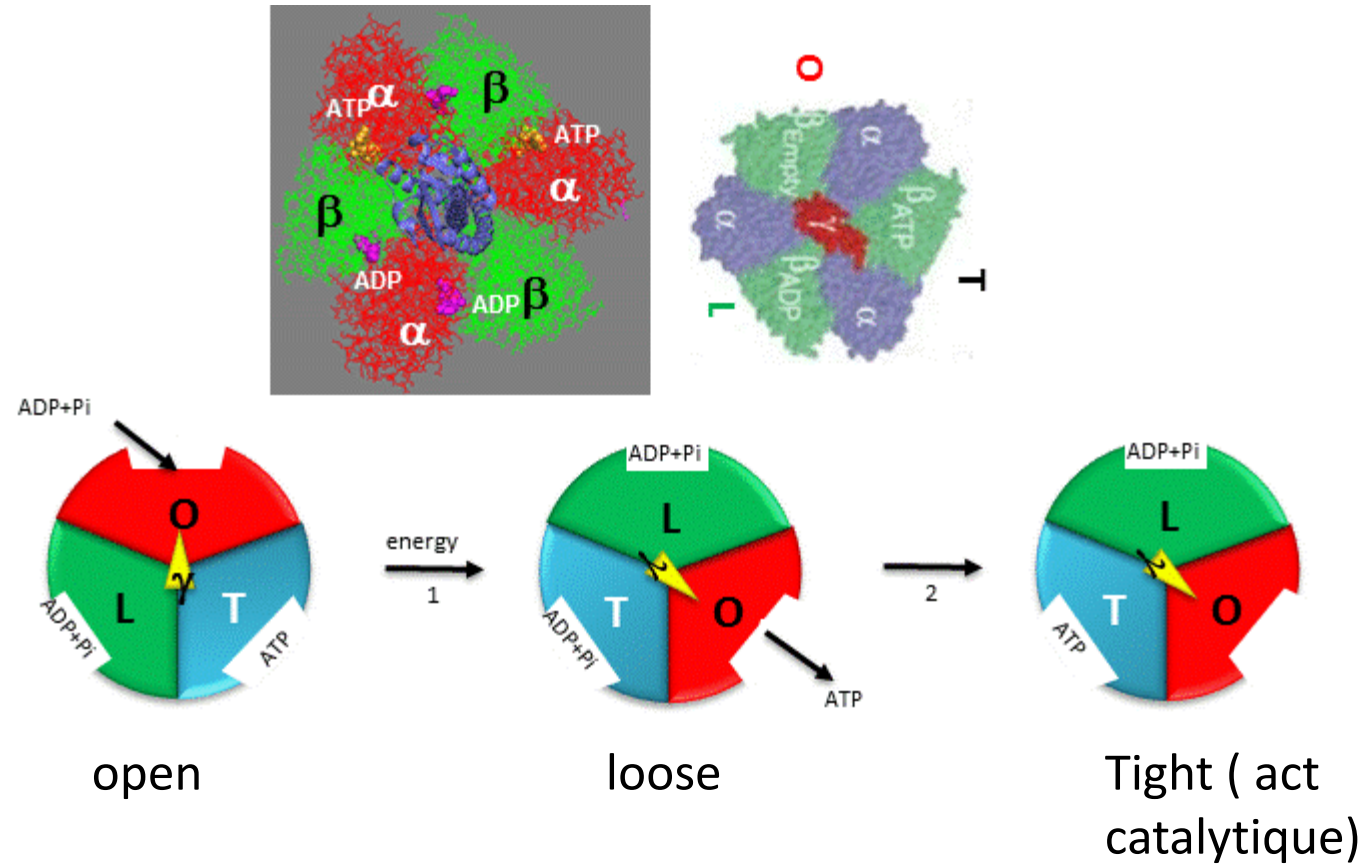


Figure 12-28
 Molecular Cell Biology, Sixth Edition
 © 2005 W. H. Freeman and Company



Boris Feniouk



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



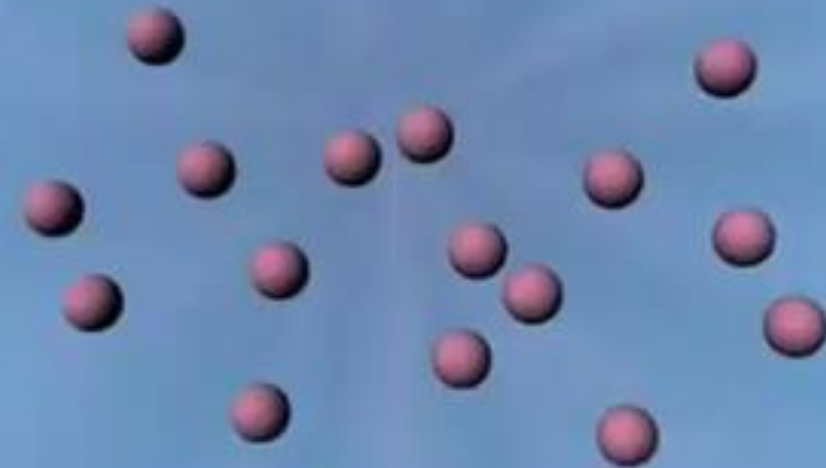
- <http://www.youtube.com/watch?v=3y1dO4nNaKY>

- <http://www.youtube.com/watch?v=xbI0nbzt5Kw>



Introducing: Biological Gradients

Hydrogen Ions = Protons



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

<https://www.youtube.com/watch?v=UI9W-CvCRYA&t=188s>



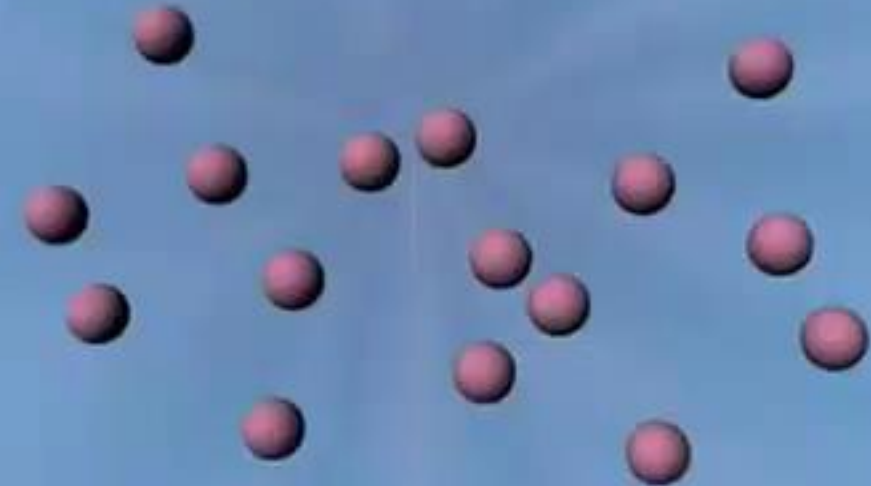
- <http://www.youtube.com/watch?v=xbJ0nbzt5Kw>



- <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=UI9W-CvCRYA&t=188s>



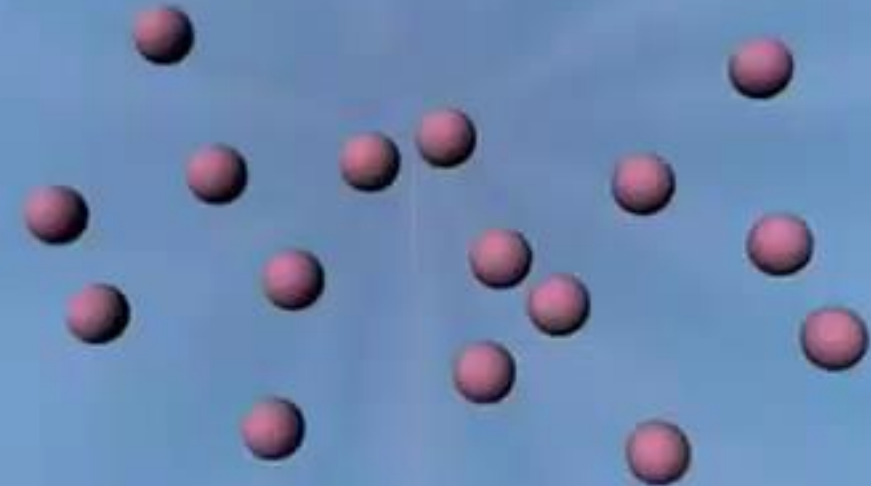
- <http://www.youtube.com/watch?v=xbJ0nbzt5Kw>



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

Introducing: Biological Gradients

Hydrogen Ions = Protons

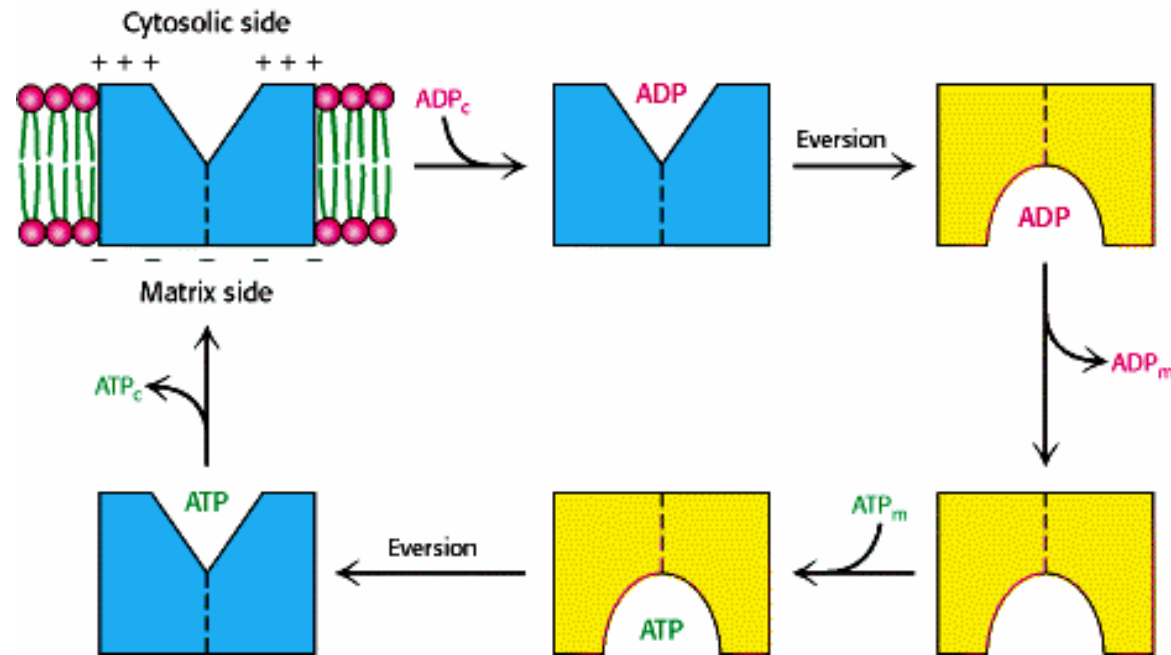


<https://www.youtube.com/watch?v=5clF5nICd8>

<https://www.youtube.com/watch?v=UI9W-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

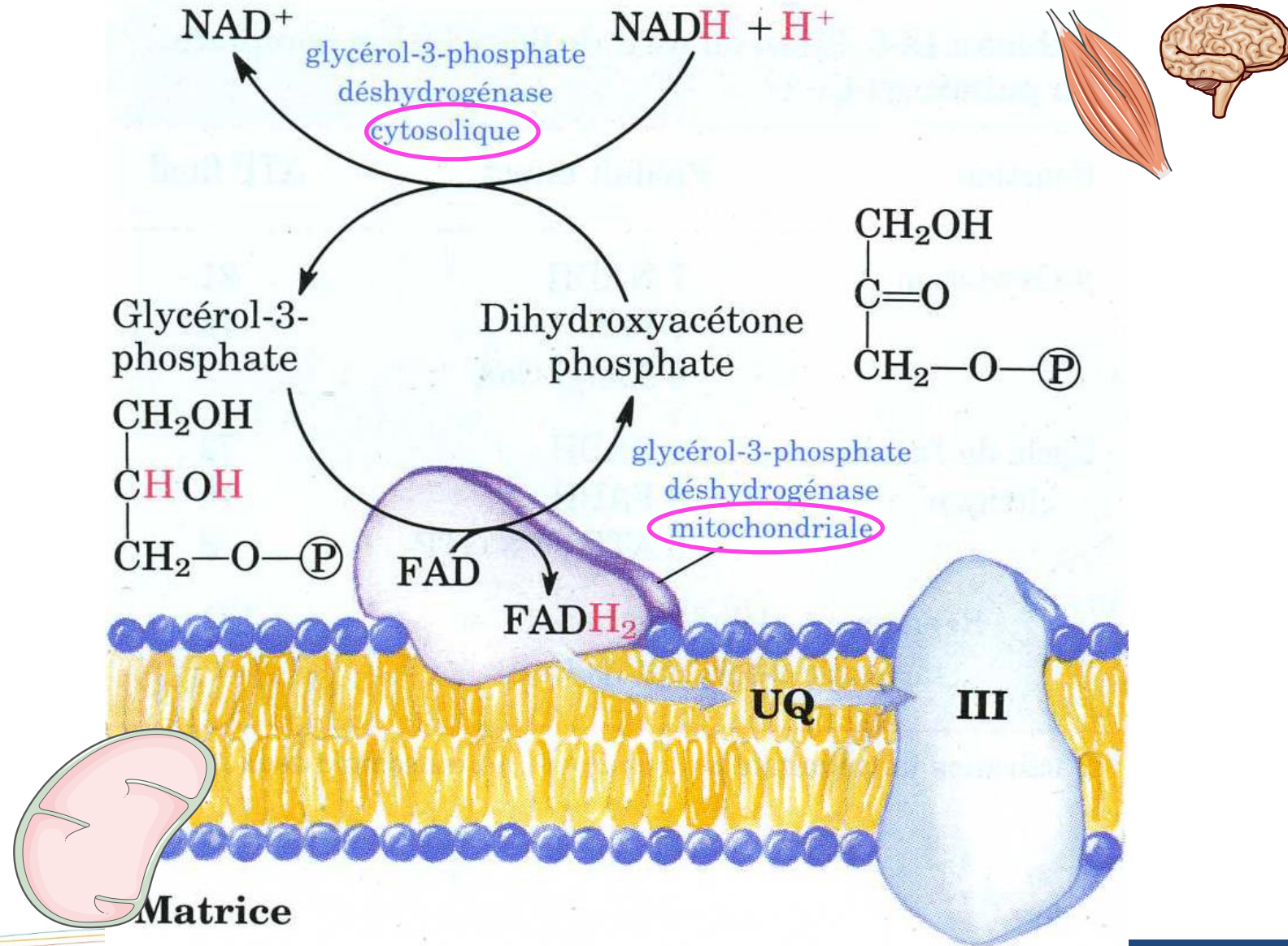
Adenine nucleotide translocase or ANT (couplé Pi/OH-antiporter)

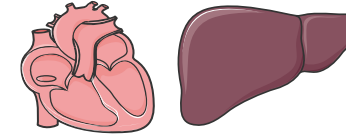


- ATP plus nég que ADP transporté 30 fois plus vite que ADP:
- moteur alimenté par potentiel de membrane

Système glycérol-phosphate dans le muscle (foie)

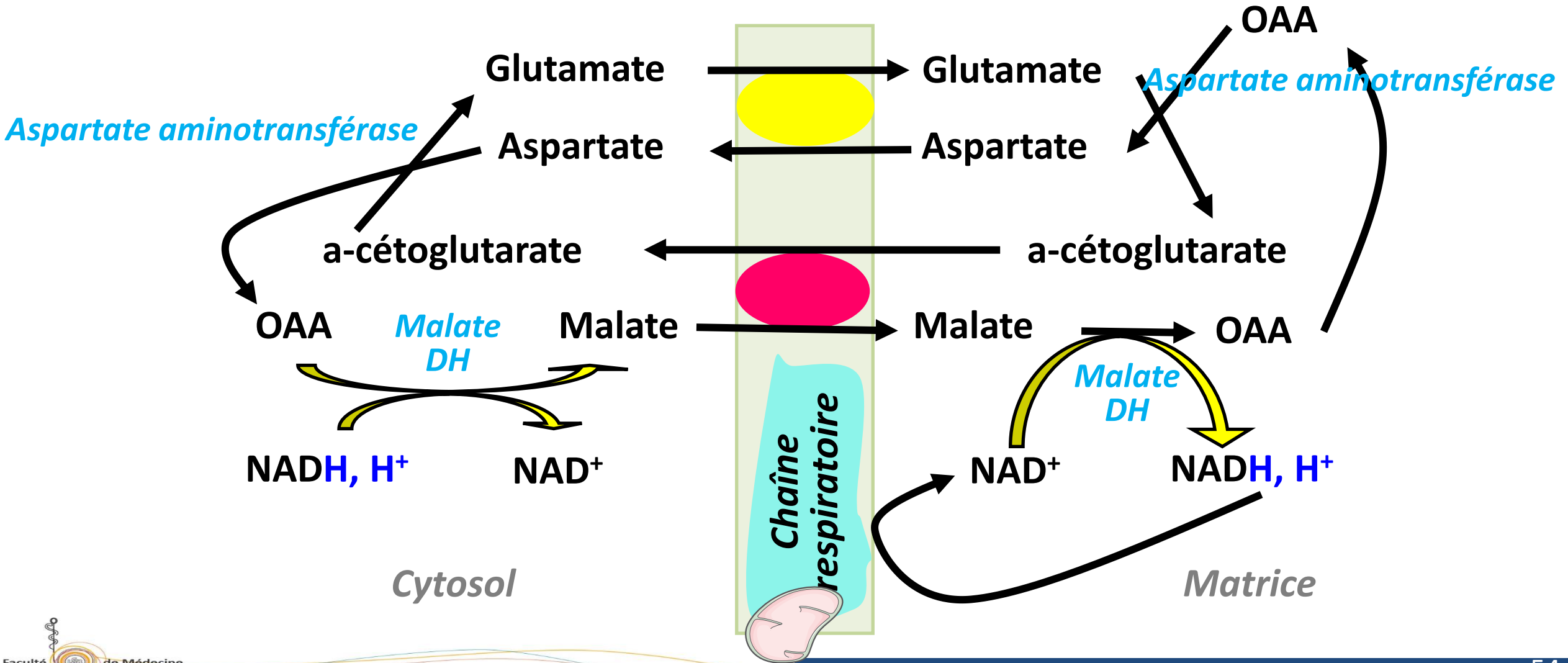
→ 2 ATP





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

Glucose + 2 Pi + 2 ADP + 2 NAD⁺

↓

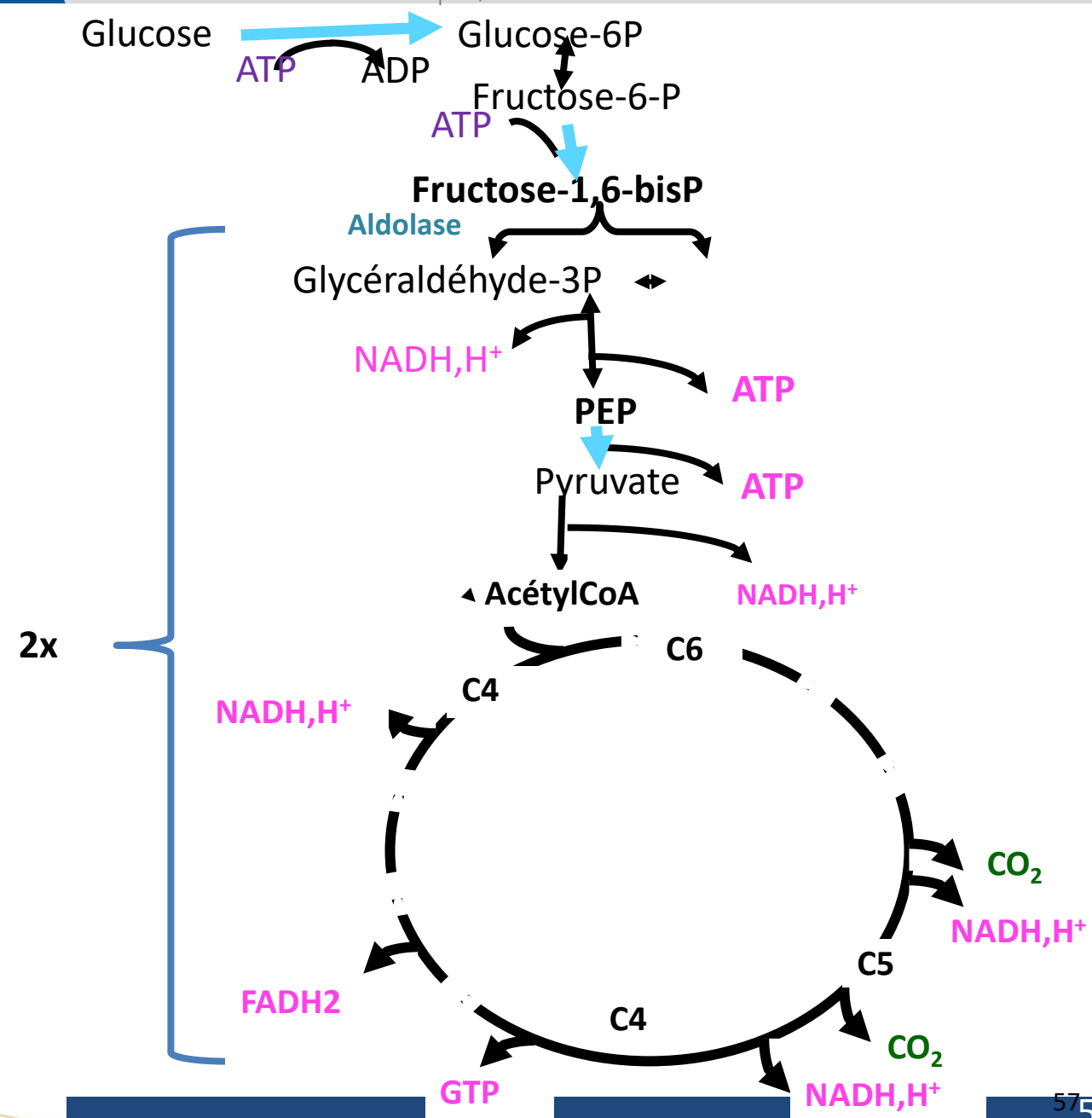
2 Pyruvate + 2 ATP + 2 NADH + 2H⁺ + 2H₂O

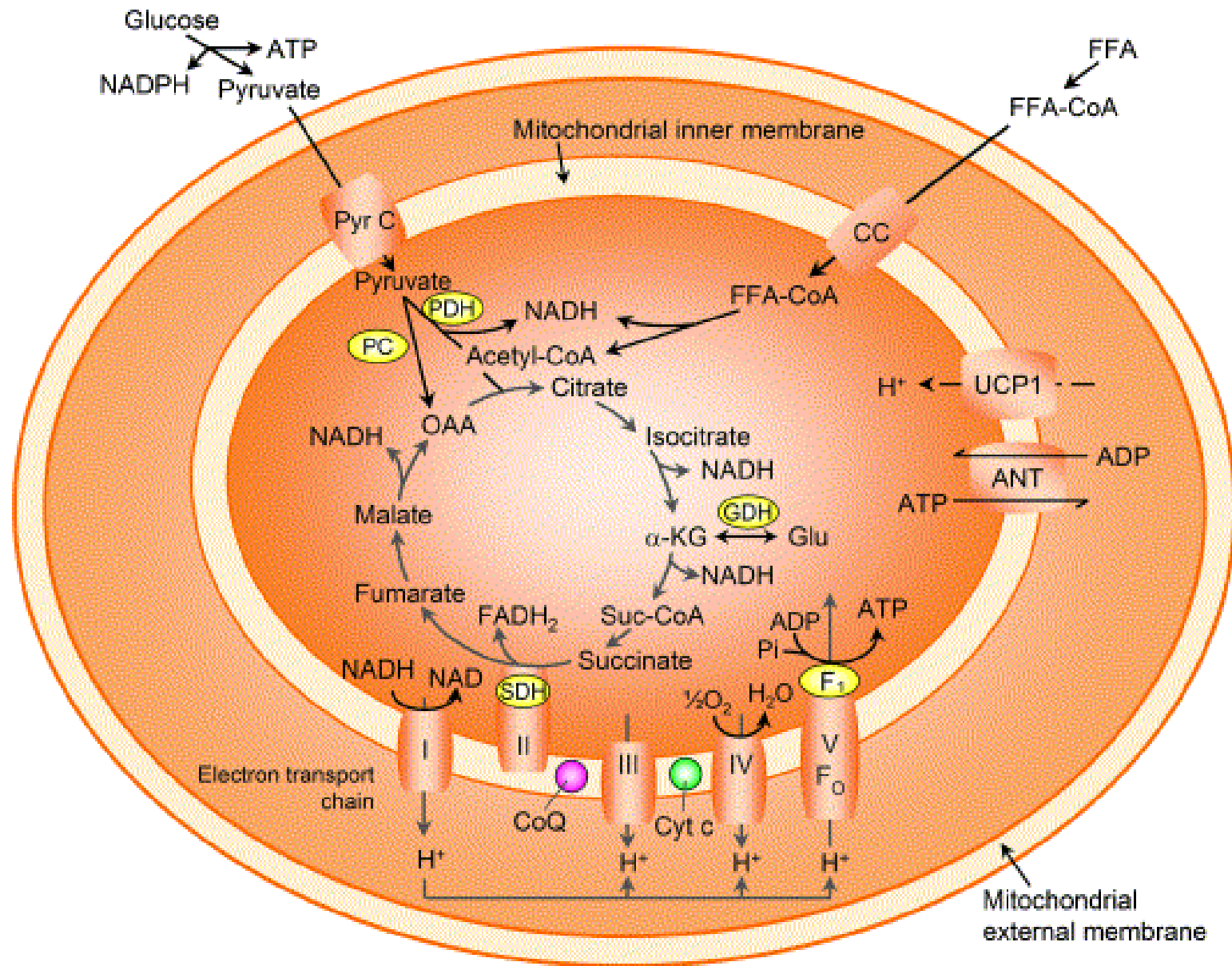
=4 ATP (navette glycerol phosphate)
=6 ATP (navette malate aspartate)

PDH: NADH*2 = 6 ATP

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

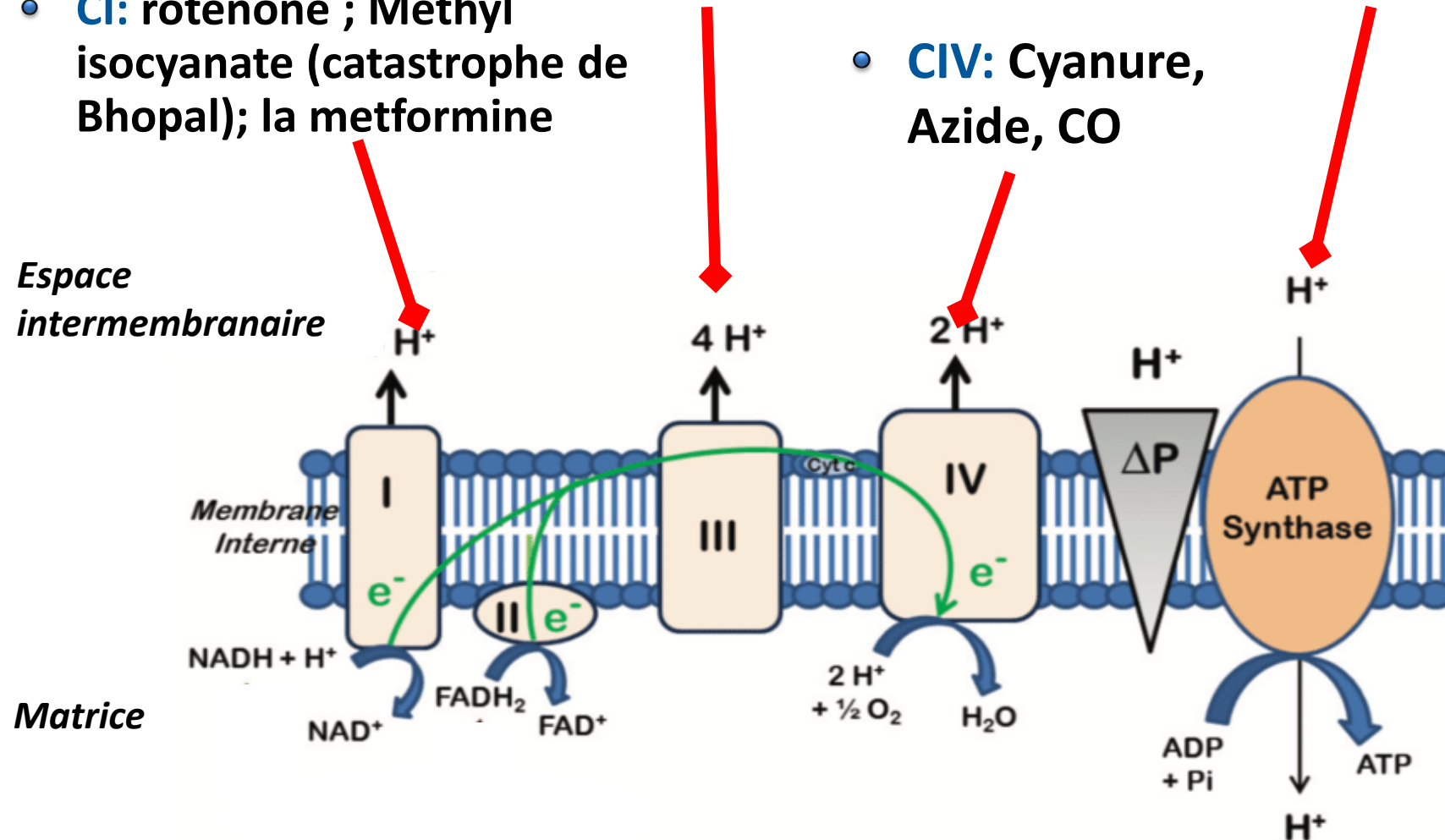
=36 ATP 30ATP
38ATP 32ATP





- 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



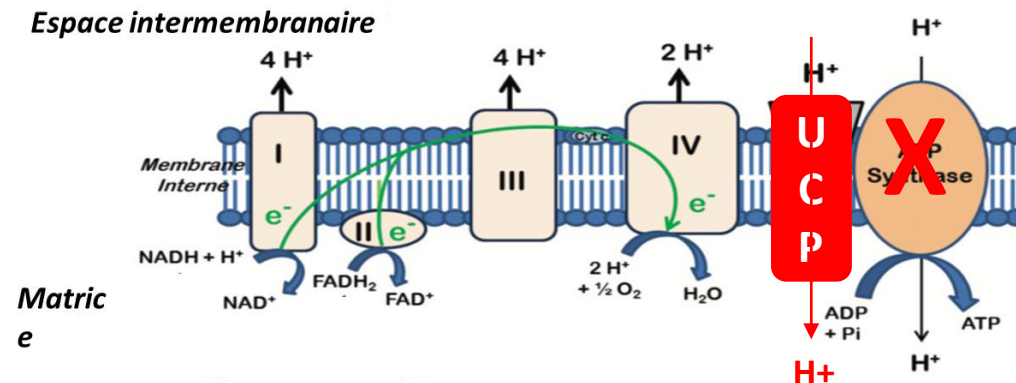
- **Découplant: :**

- **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

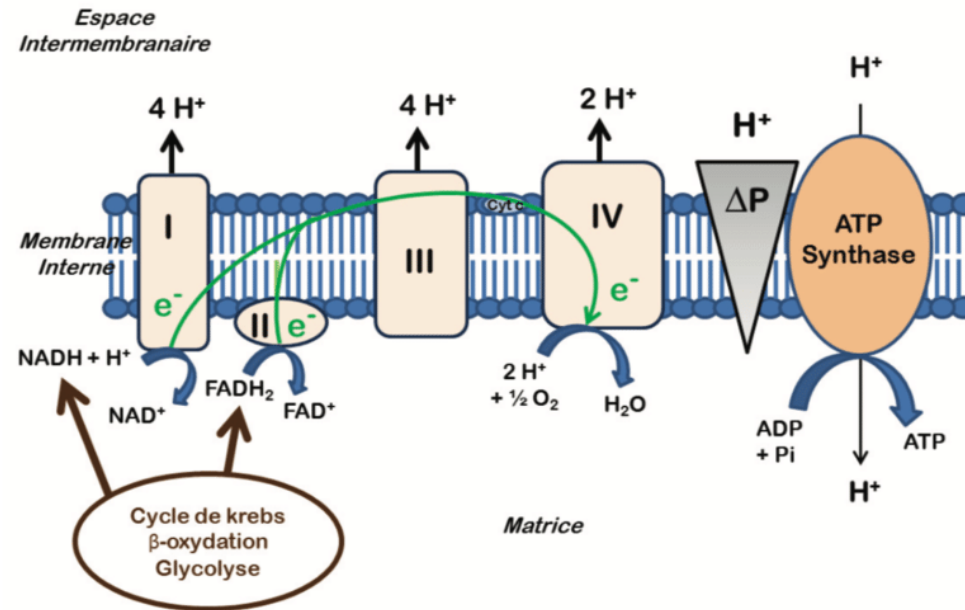
- **substance chargée traversent MIM neutralise H⁺:** dinitrophenol, CCCP, FCCP



- **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)