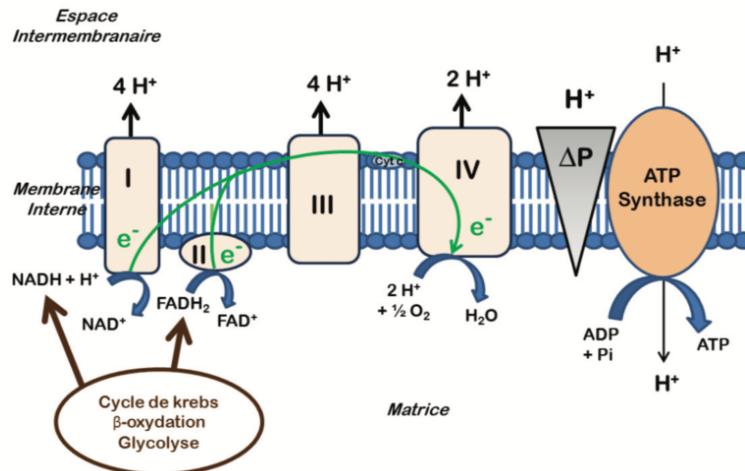


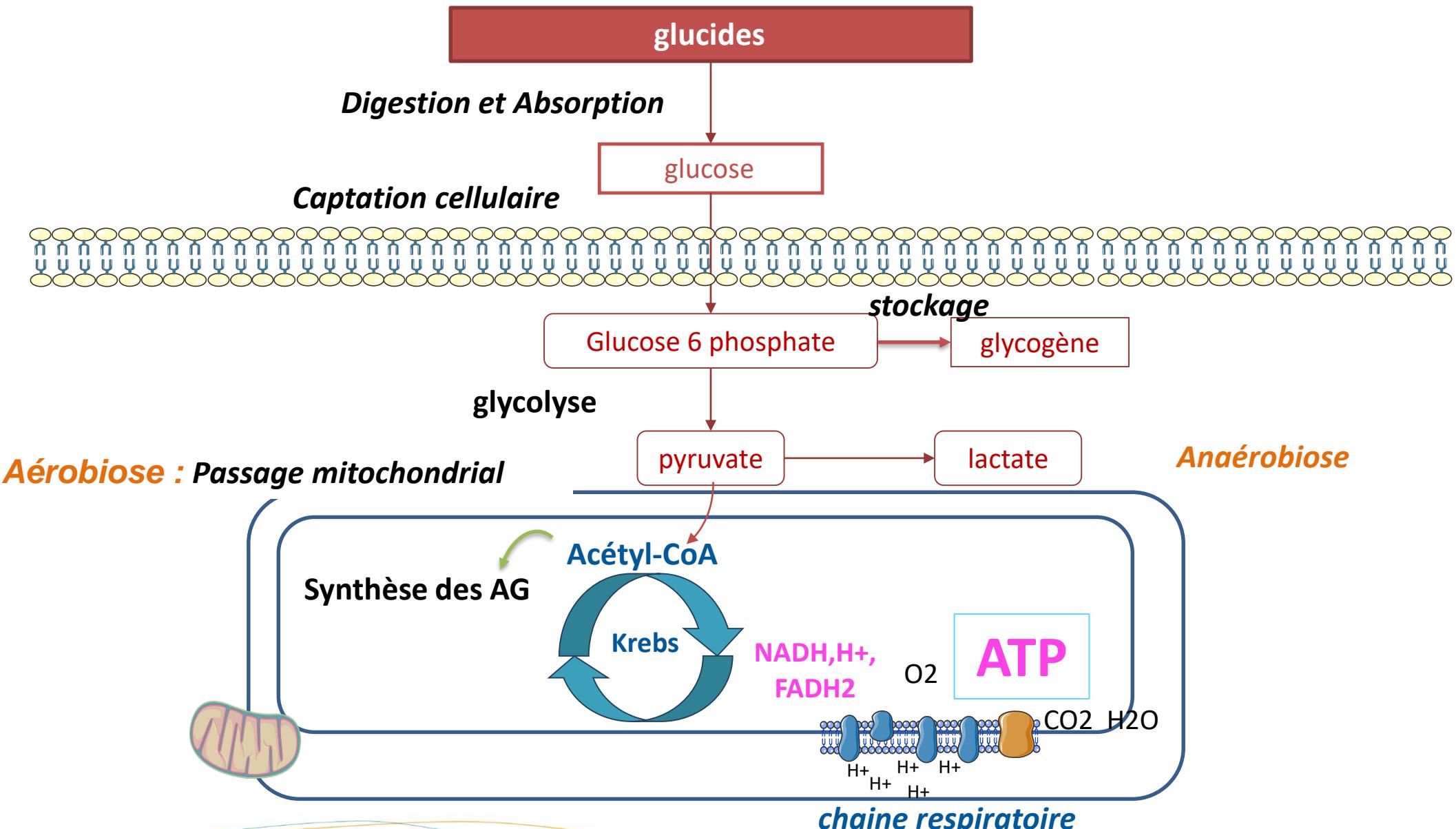
LA CHAINE RESPIRATOIRE



Florence Roucher-Boulez

Biochimie BM

Rappels



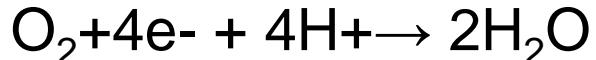
- La phosphorylation oxydative
- Régulation de la synthèse d'ATP

- 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

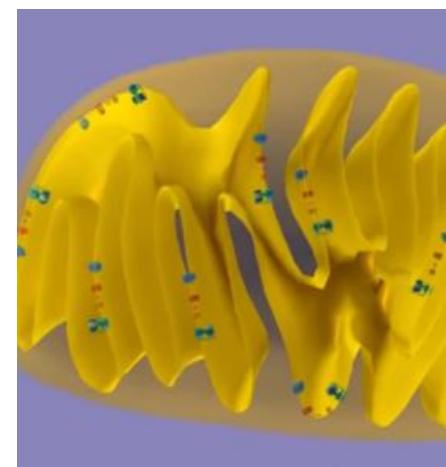
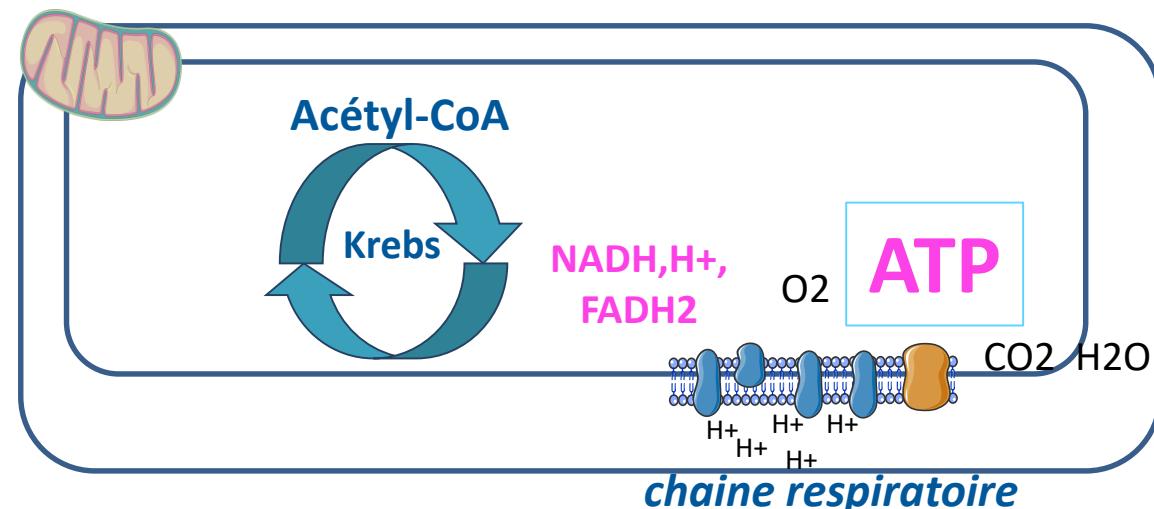
- Production ATP et H₂O à partir des H des molécules énergétiques et de l'O₂ de l'air

- 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) ->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 palier depuis le cofacteur réduit jusqu'à l'oxygène

La chaîne d'oxydoréduction

I/ Généralités

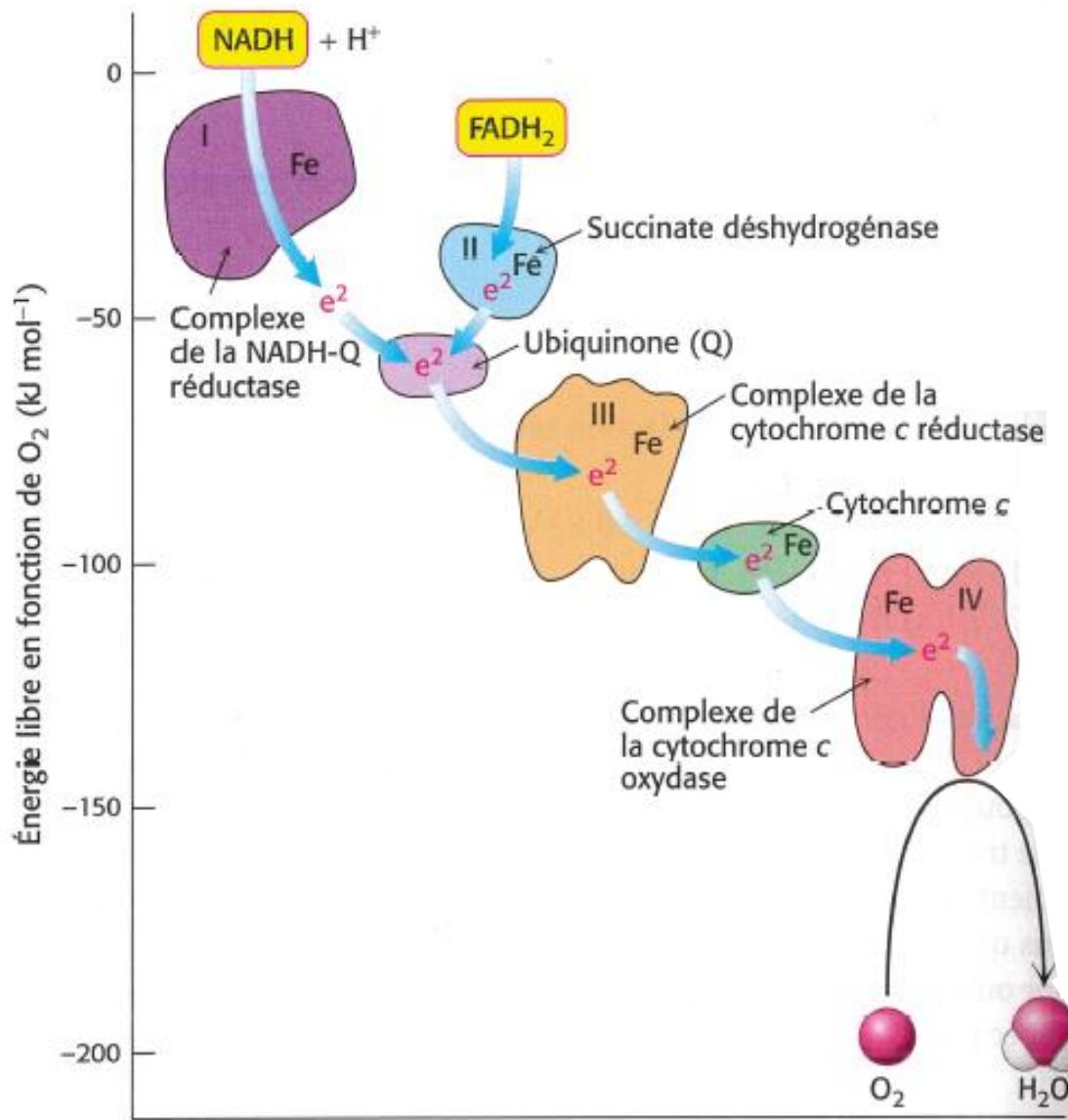
II/ La chaîne d'oxydoreduction

III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux

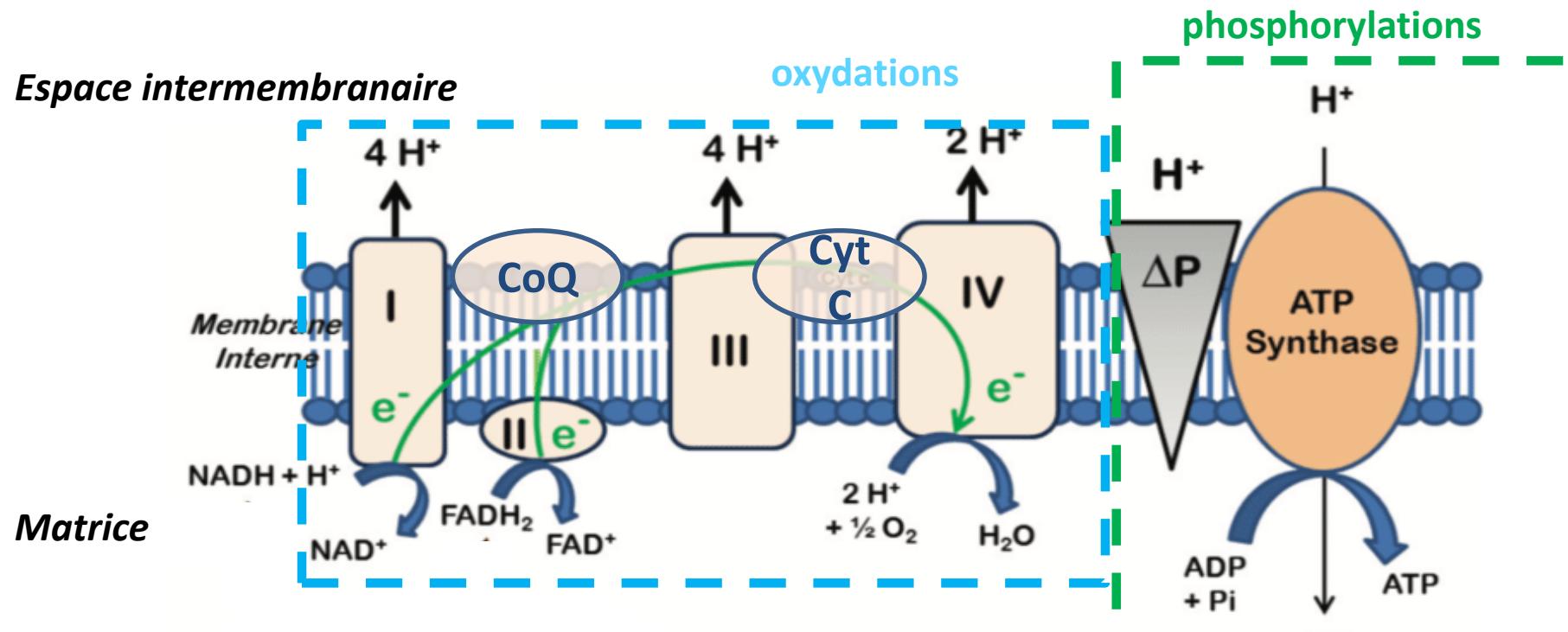
V/ Bilan énergétique

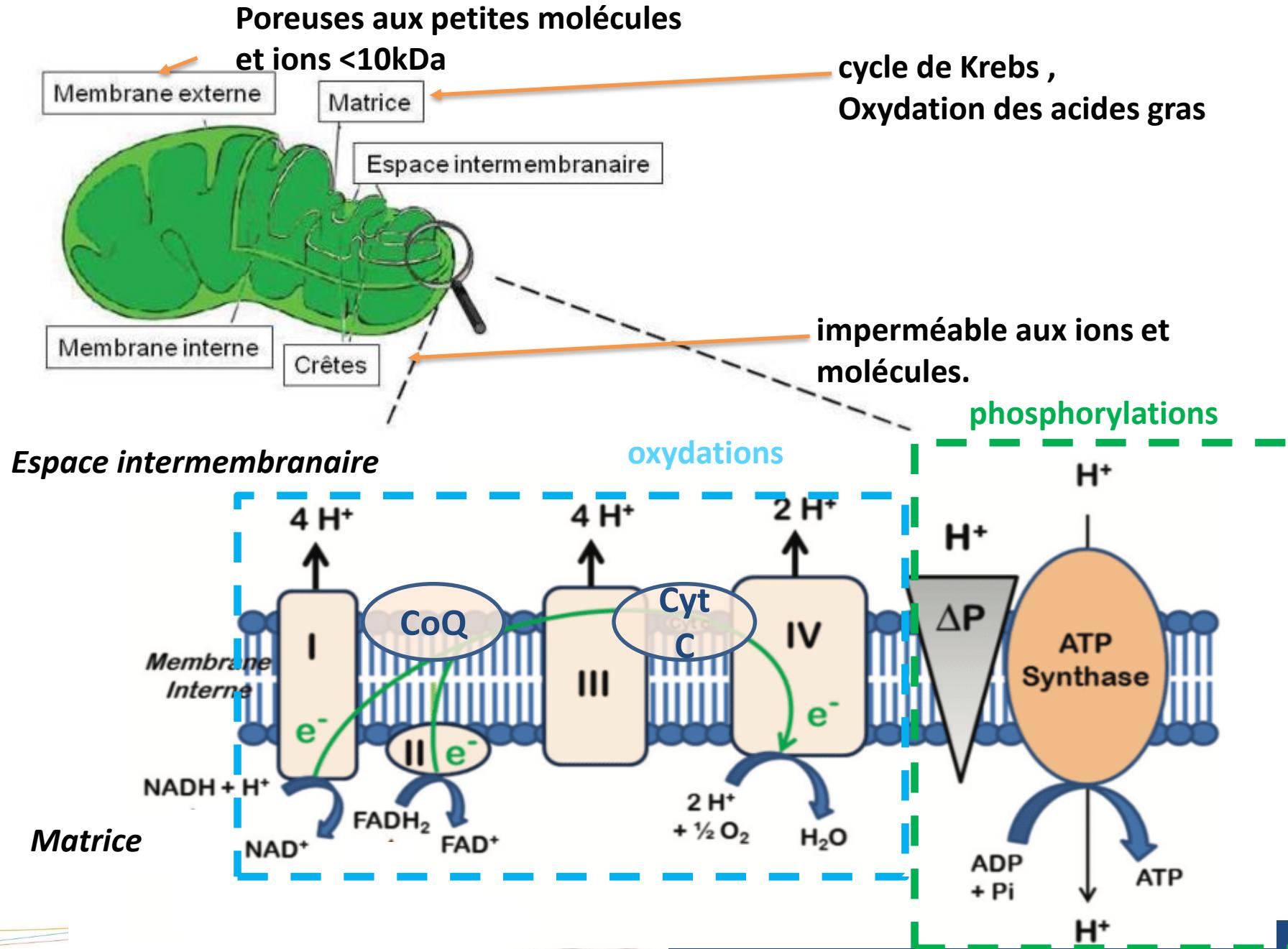
VI/ Les inhibiteurs



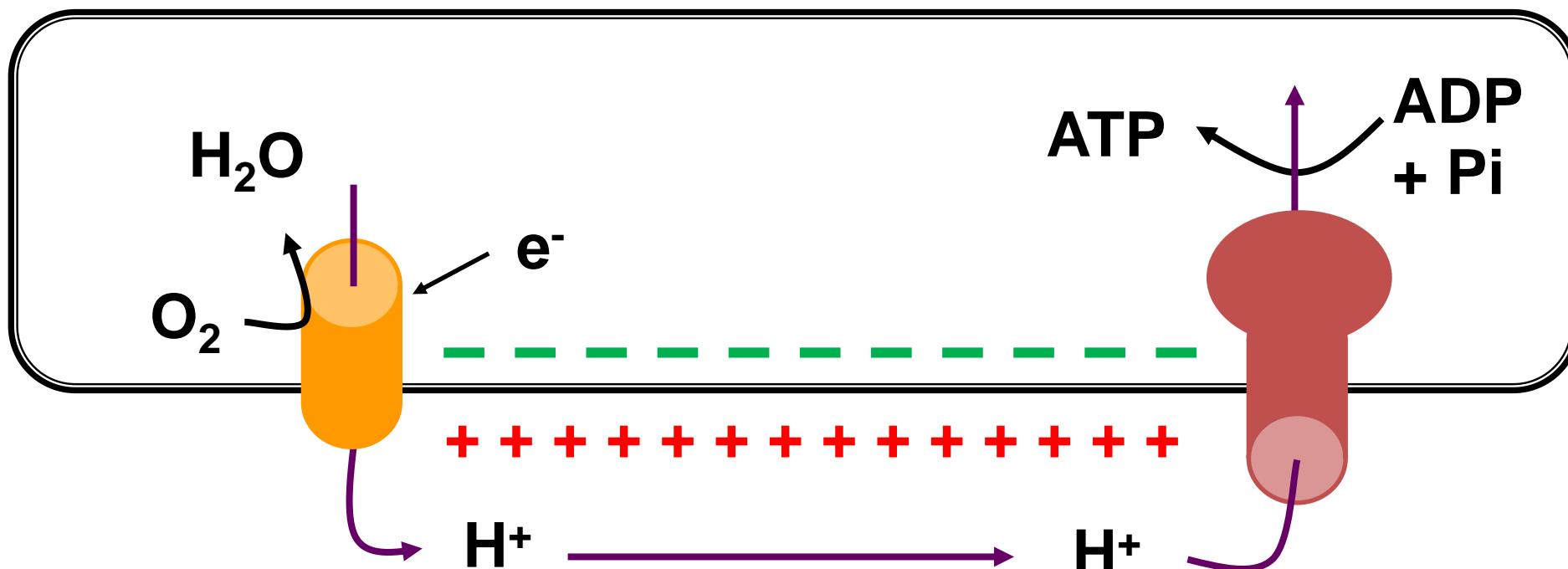
Les éléments de la chaîne d'oxydoréduction

- 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 C_I-> C_{IV}**
 - 2 éléments mobiles : **ubiquinone ou CoEnz Q et le cytochrome C**





- 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	$E^{\circ'} (V)$
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^+	$\frac{1}{2} H_2$	1	0
Fumarate	Succinate	2	0,03
Cytochrome b (+3)	Cytochrome b (+2)	1	0,07
Déhydroascorbat	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
$\frac{1}{2} O_2 + 2H^+$	H_2O	2	0,82

• Potentiel redox et énergie libre

Couple redox : forme oxydée H⁺ / forme réduite H₂



Une différence de potentiel de 1,14 volt entre NADH et O₂ assure le transport des électrons à travers la chaîne

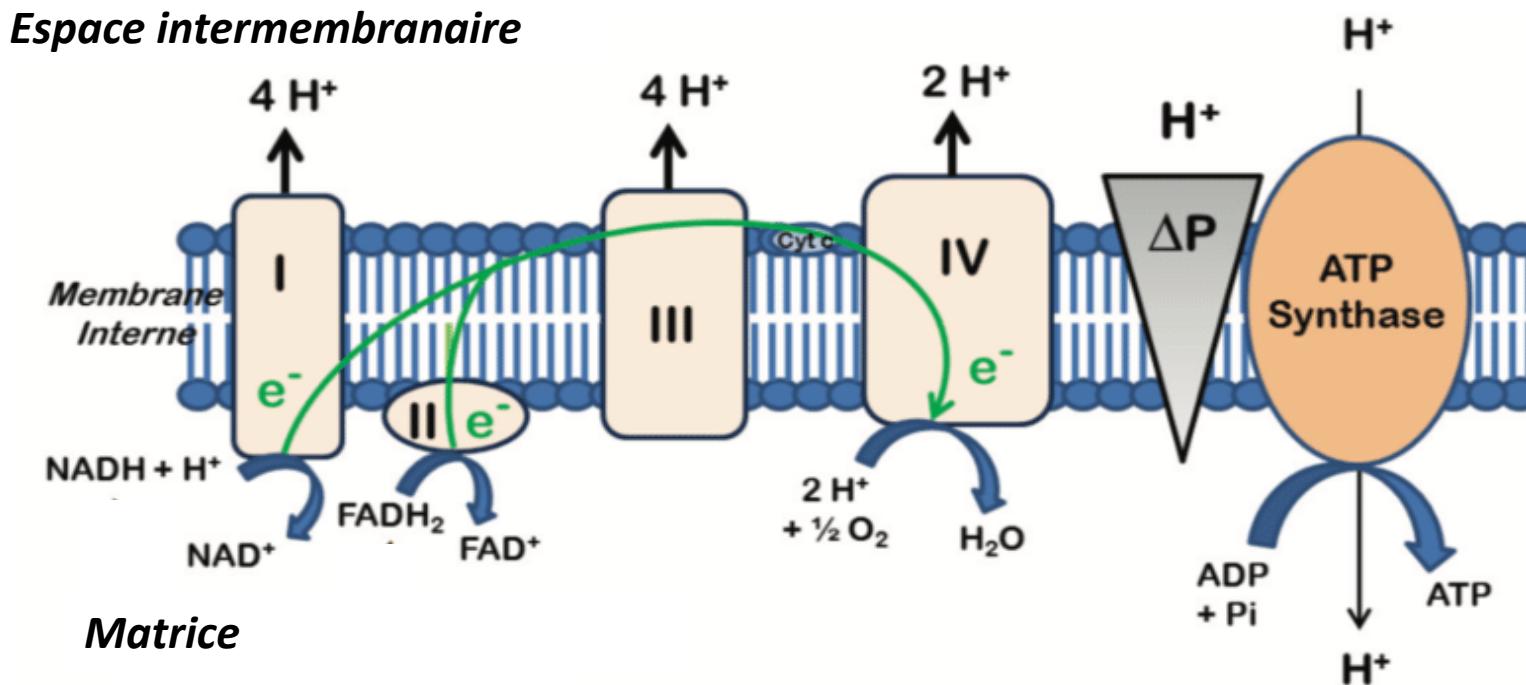
L'énergie libre de cette oxydation $\Delta G'^0 = -52,6 \text{ kcal/mol}$

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



La chaîne d'oxydoréduction

I/ Généralités

II/ La chaîne d'oxydoreduction

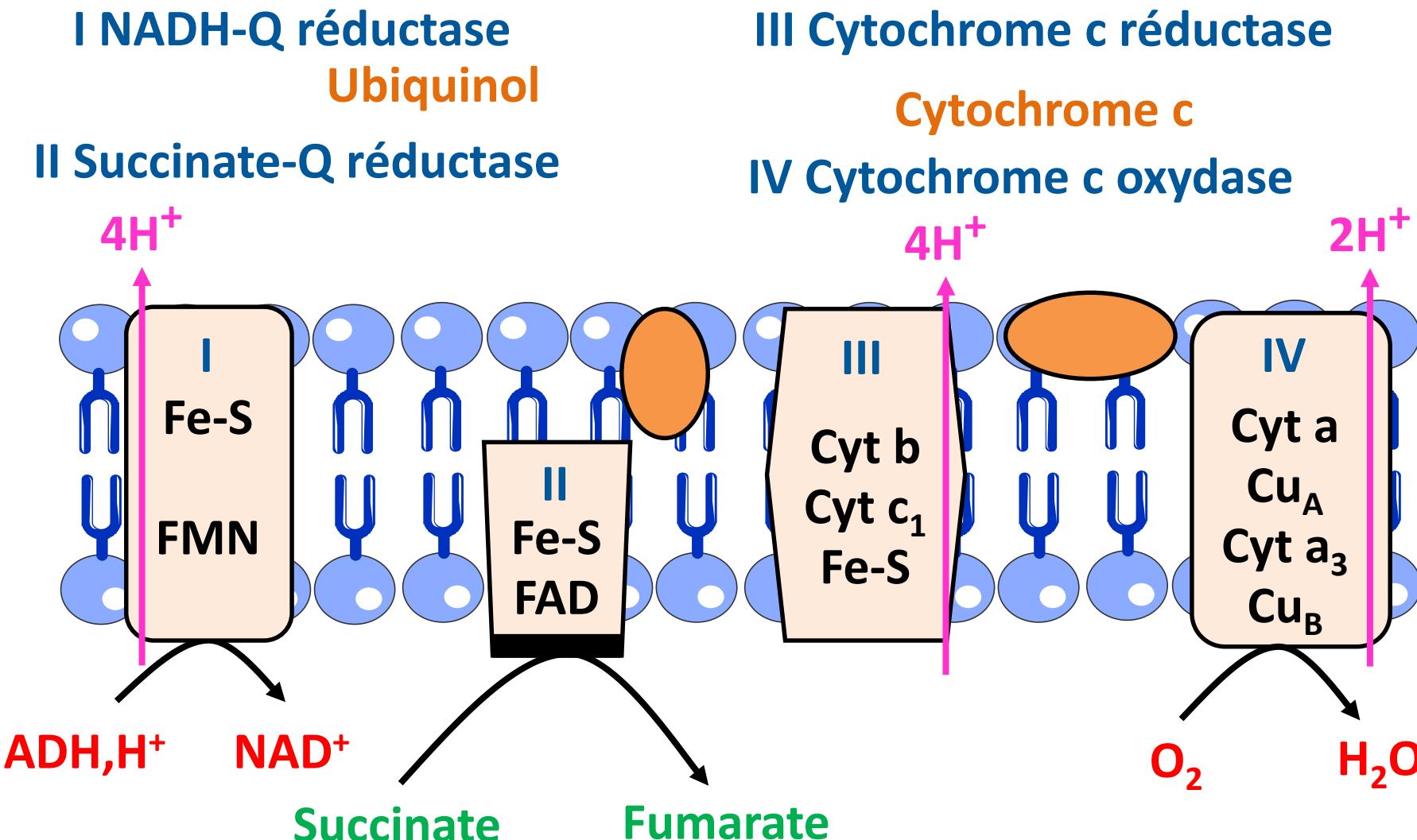
III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux

V/ Bilan énergétique

VI/ Les inhibiteurs

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



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**

I NADH-Q réductase

**Masse
(kDA)**

850

**Sous-
unités**

25

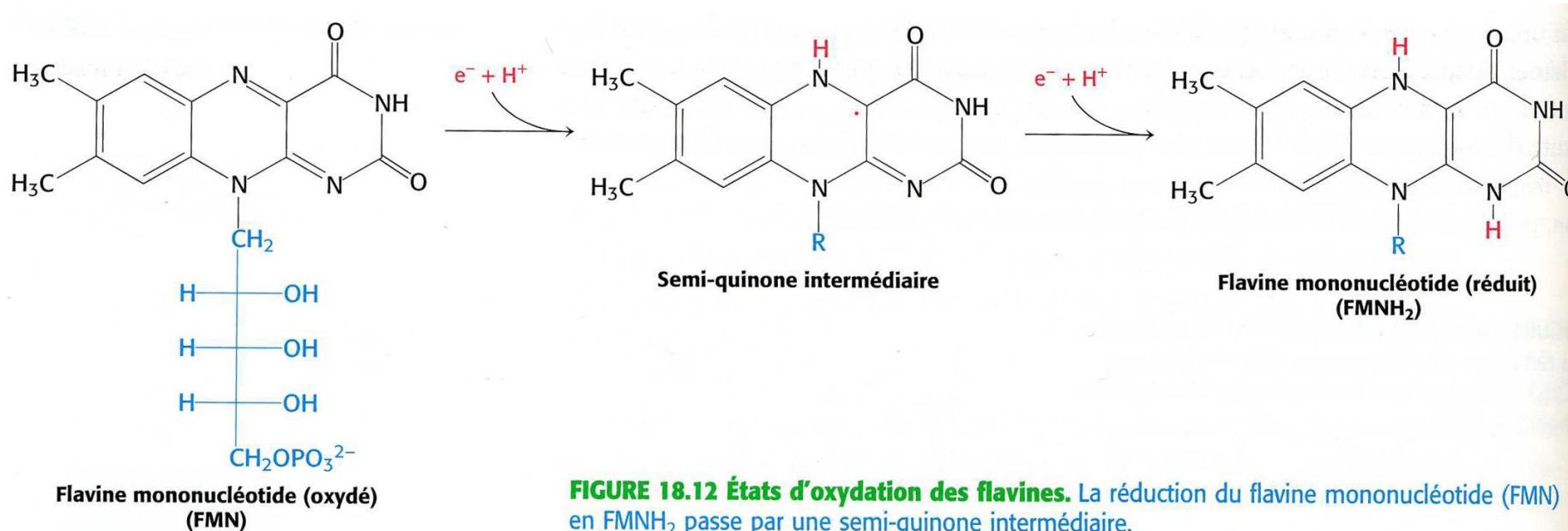
**Groupes
prosthetiques**

FMN, Fe-S

- Les différentes étapes du transfert

- Complexe I NADH-Q reductase

- 1er transfert : FMN

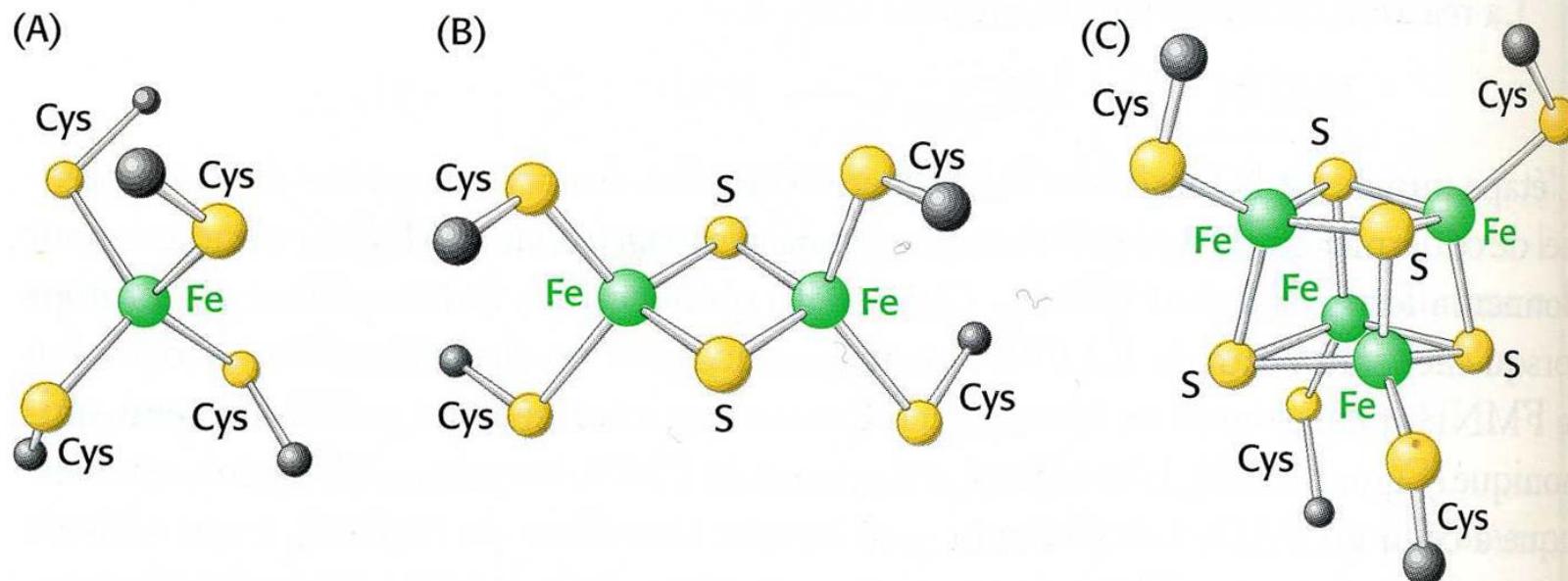


- **Les différentes étapes du transfert**

- Complexe I NADH-Q reductase

- 1er transfert : FMN
 - 2ème transfert Protéine Fe-S (à fer non héminique)

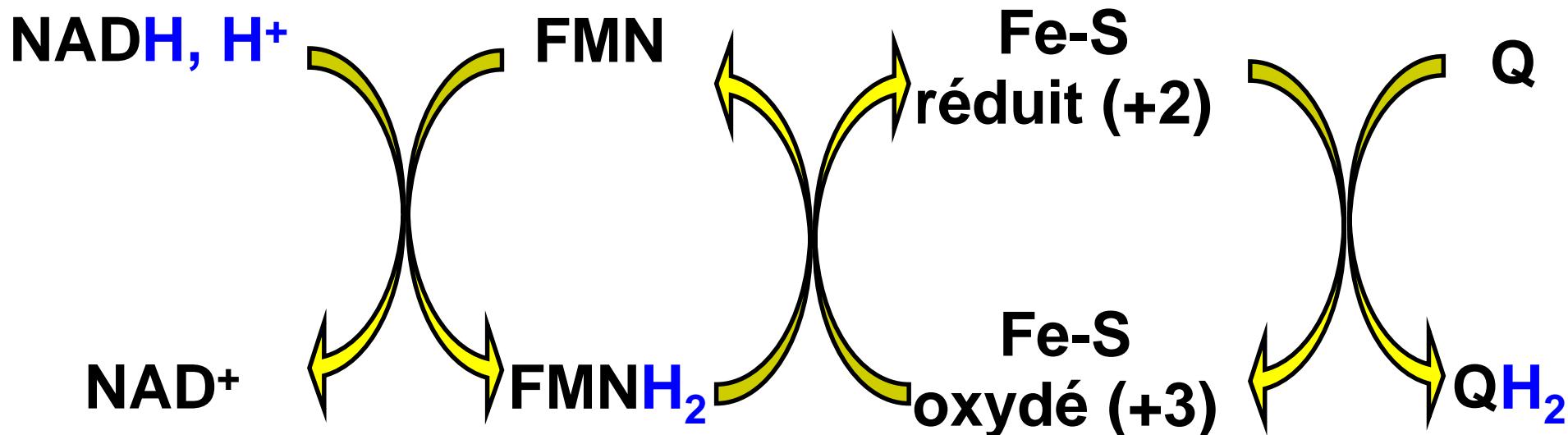
Un seul atome de fer est coordonné tétraédriquement aux groupements sulfhydryles de 4 résidus Cys

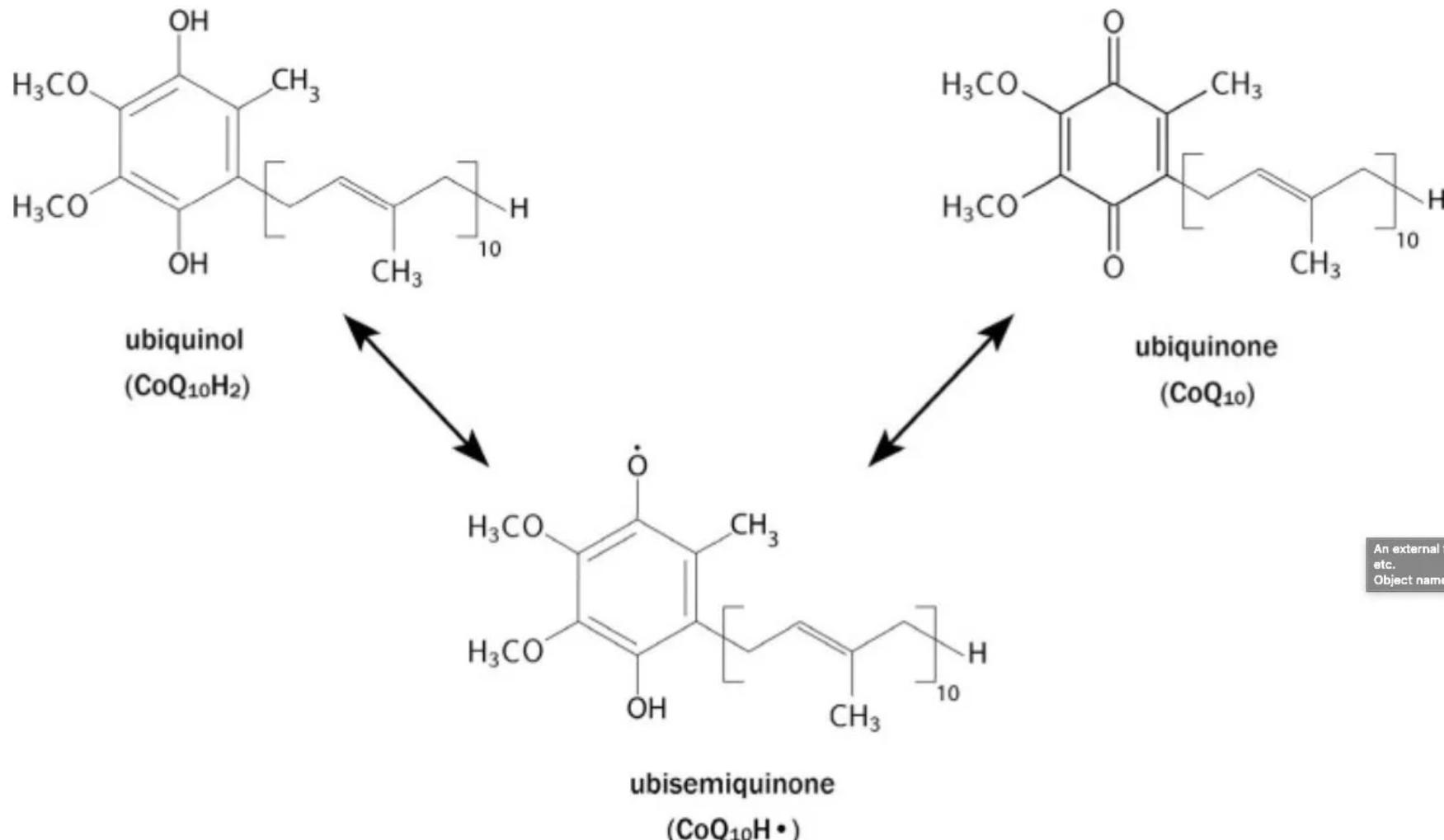


- **Les différentes étapes du transfert**

- **Complexe I NADH-Q reductase**

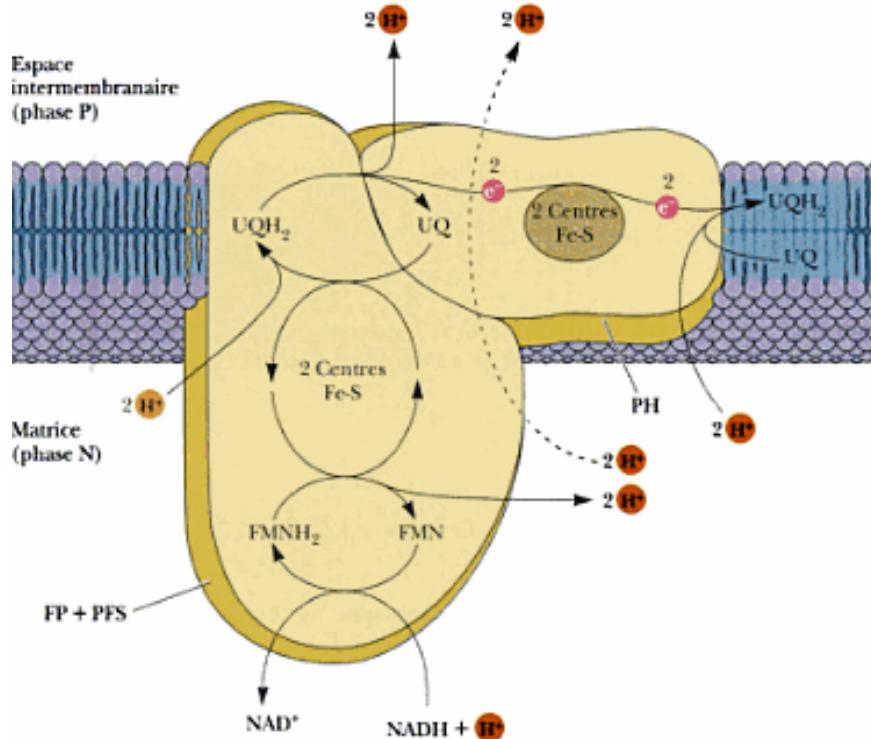
- 1er transfert : FMN
 - 2ème transfert Protéine Fe-S (à fer non héminique)
 - Transfert vers l'ubiquinone ou coenzyme Q





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

La chaîne d'oxydoréduction

I/ Généralités

II/ La chaîne d'oxydoreduction

III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux

V/ Bilan énergétique

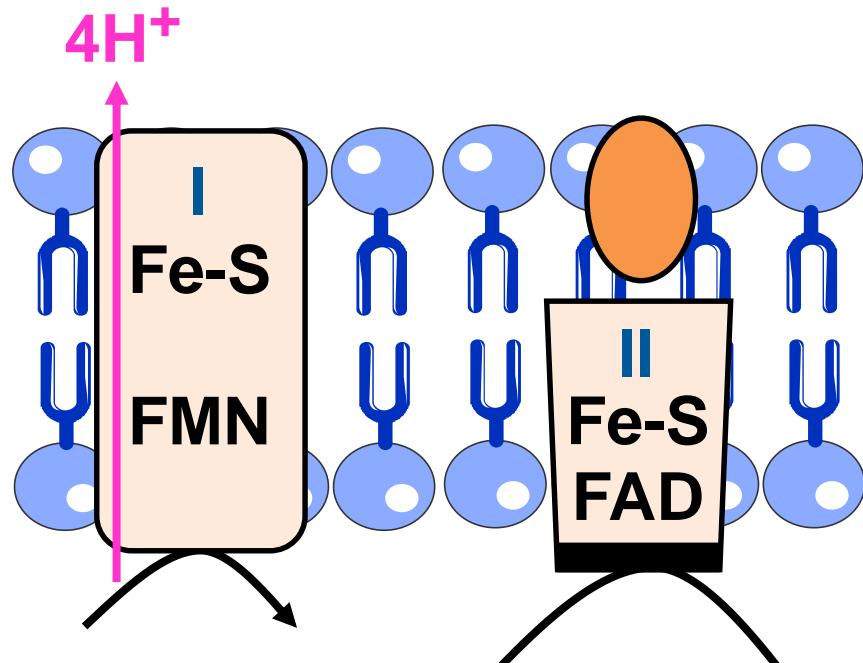
VI/ Les inhibiteurs

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

I NADH-Q réductase

Ubiquinol

II Succinate-Q réductase



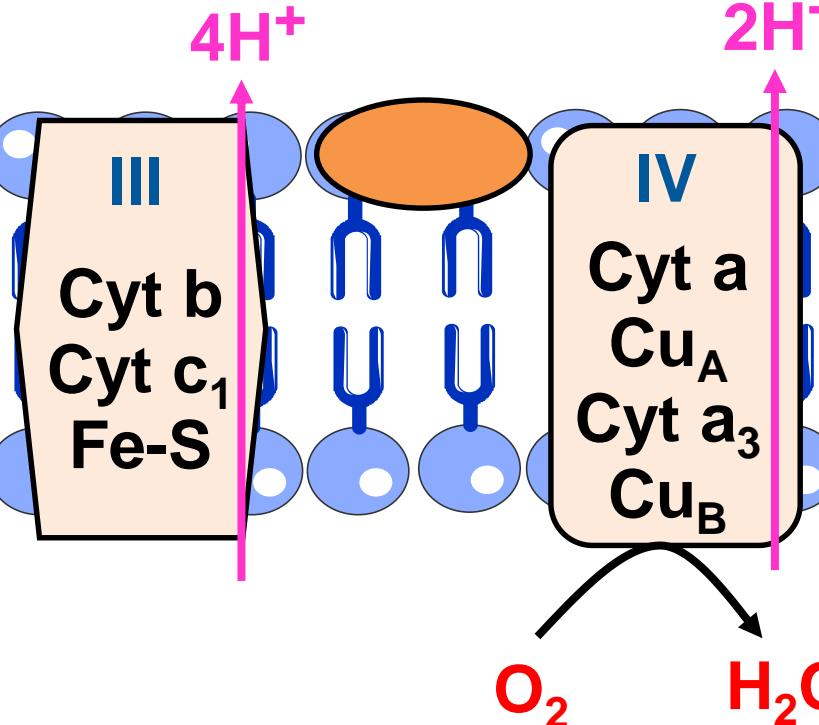
III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

IV Cytochrome c oxydase

4H⁺

2H⁺



NADH, H⁺

NAD⁺

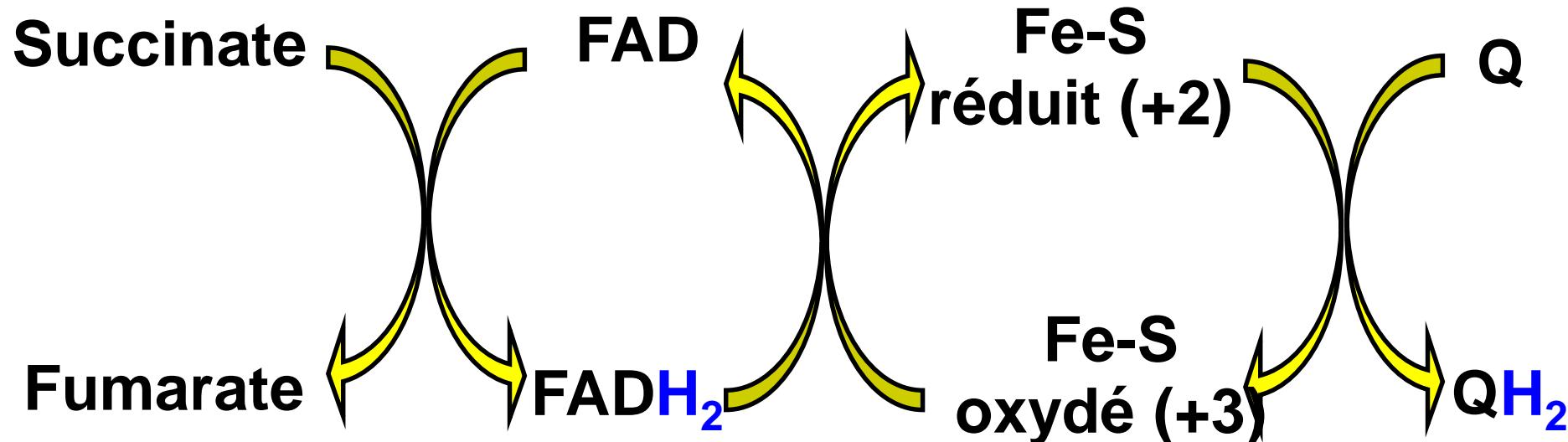
Succinate

Fumarate

- **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



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	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			
IV Cytochrome c oxydase	160	8	Hème a Hème a ₃ Cu_A et Cu_B

La chaîne d'oxydoréduction

I/ Généralités

II/ La chaîne d'oxydoreduction

III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux

V/ Bilan énergétique

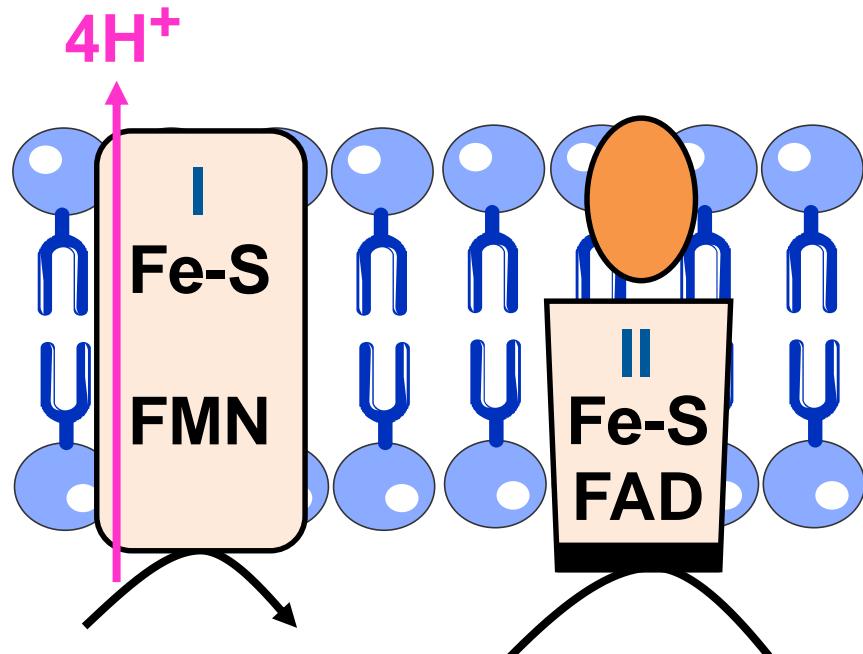
VI/ Les inhibiteurs

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

I NADH-Q réductase

Ubiquinol

II Succinate-Q réductase



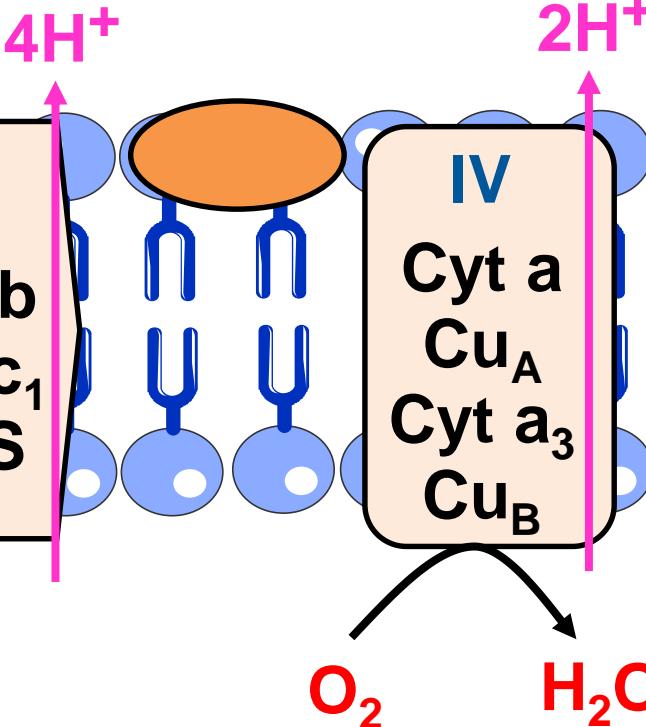
Succinate

Fumarate

III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

IV Cytochrome c oxydase



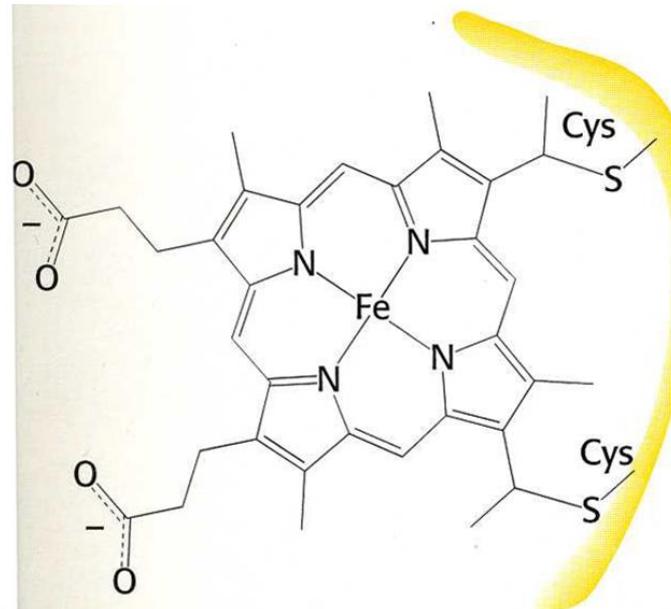
O₂

H₂O

- **Les différentes étapes du transfert**

- **Cytochrome c réductase (III)**

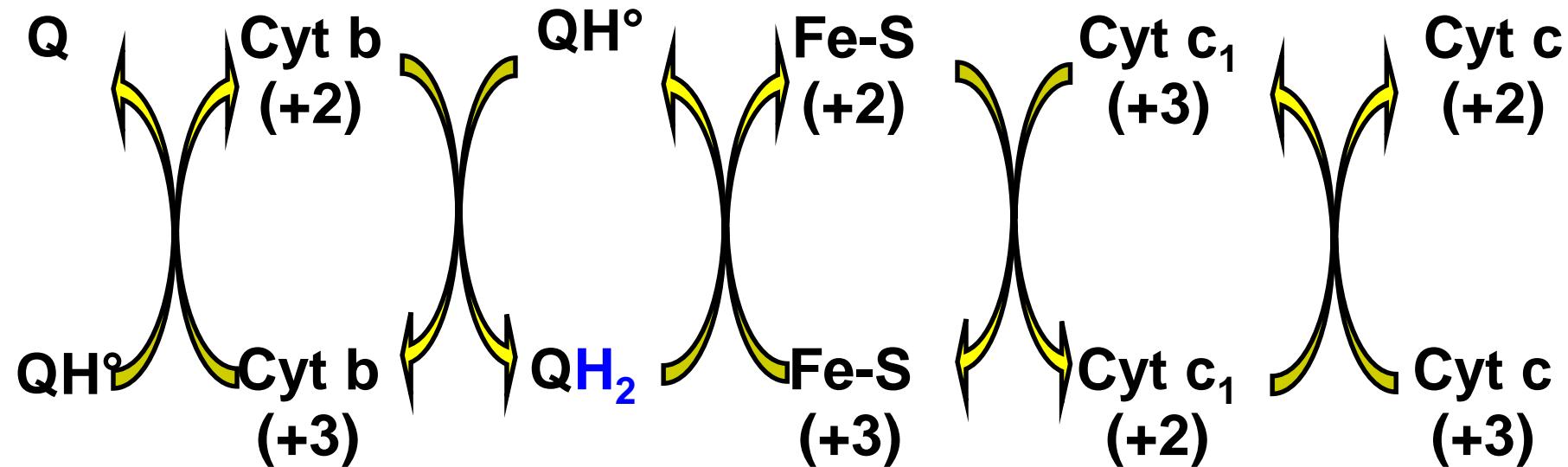
- Protéine de transfert d'électrons qui contient un groupement prosthétique héminique
 - Pour les cytochromes b, c1 et c, protoporphyrine IX avec le fer est lié par covalence au –SH de 2 cystéines.

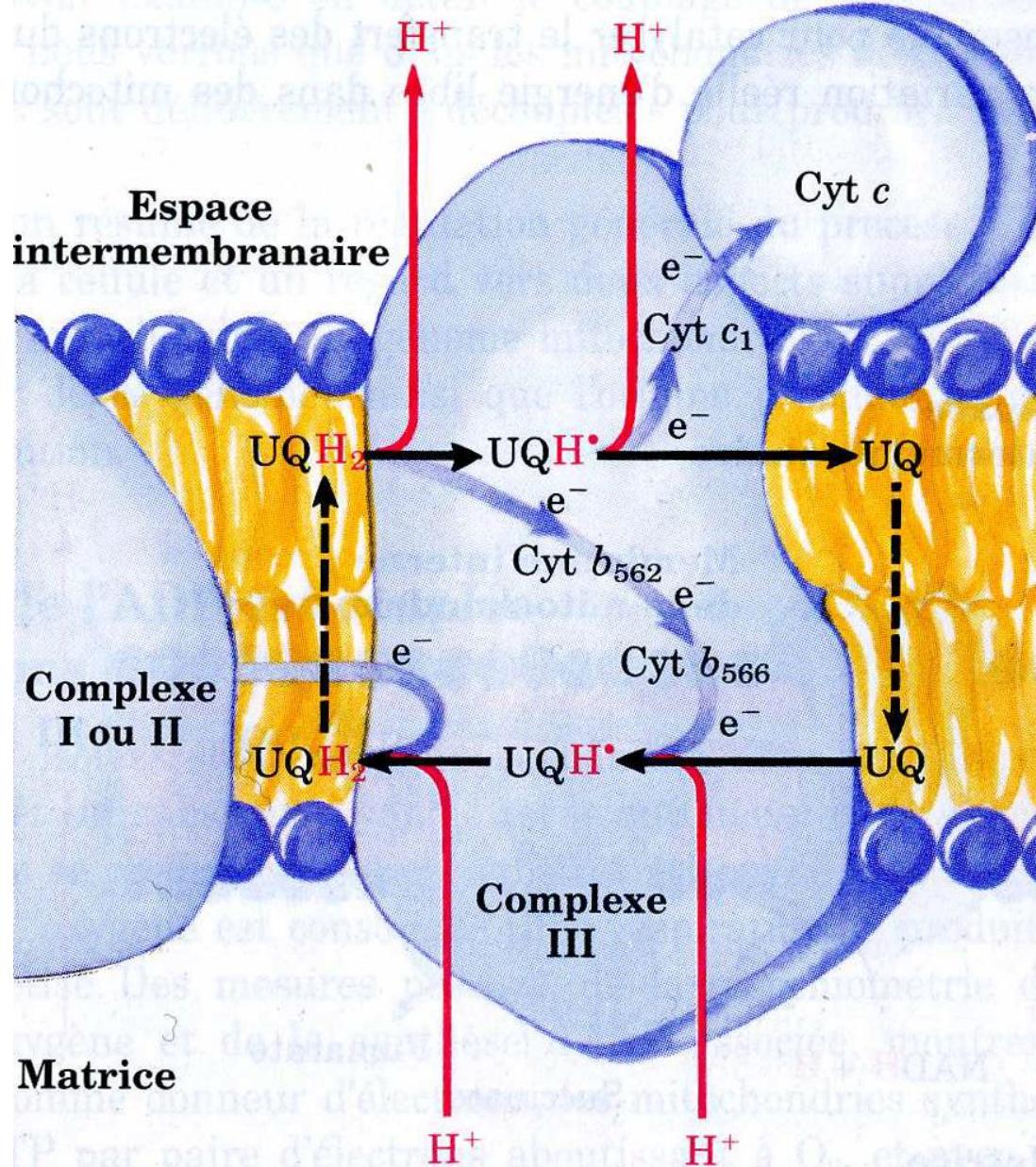


- Les différentes étapes du transfert

- 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.





La chaîne d'oxydoréduction

I/ Généralités

II/ La chaîne d'oxydoreduction

III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux

V/ Bilan énergétique

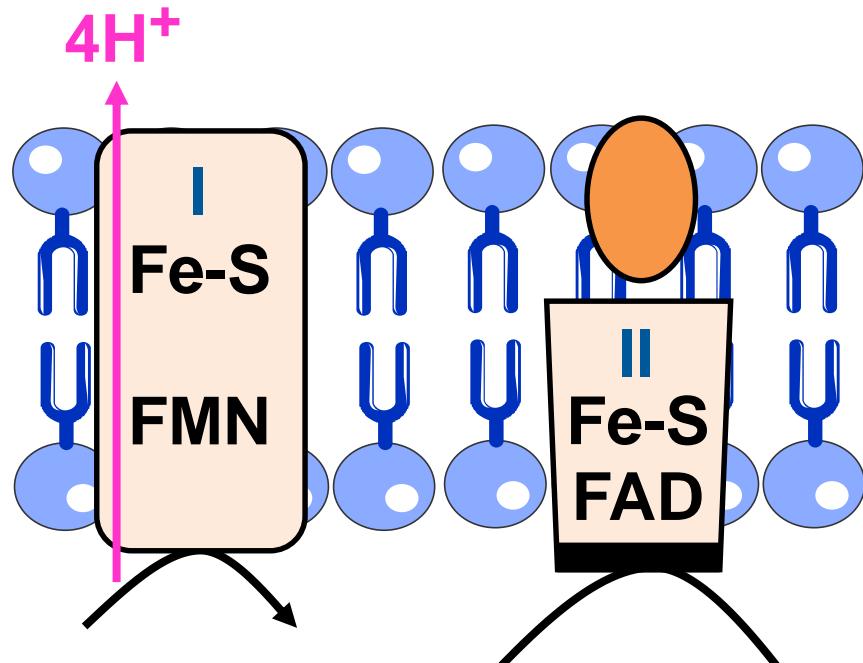
VI/ Les inhibiteurs

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

I NADH-Q réductase

Ubiquinol

II Succinate-Q réductase



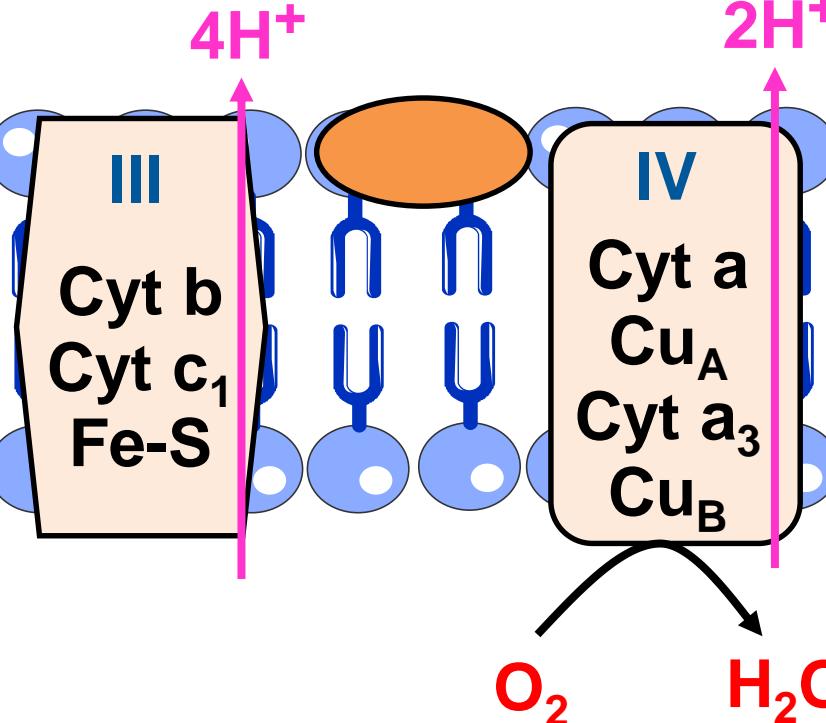
III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

IV Cytochrome c oxydase

4H⁺

2H⁺



NADH, H⁺

NAD⁺

Succinate

Fumarate

- **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

La chaîne d'oxydoréduction

I/ Généralités

II/ La chaîne d'oxydoreduction

III/ La phosphorylation

IV/ Les transporteurs mitochondriaux

V/ Bilan énergétique

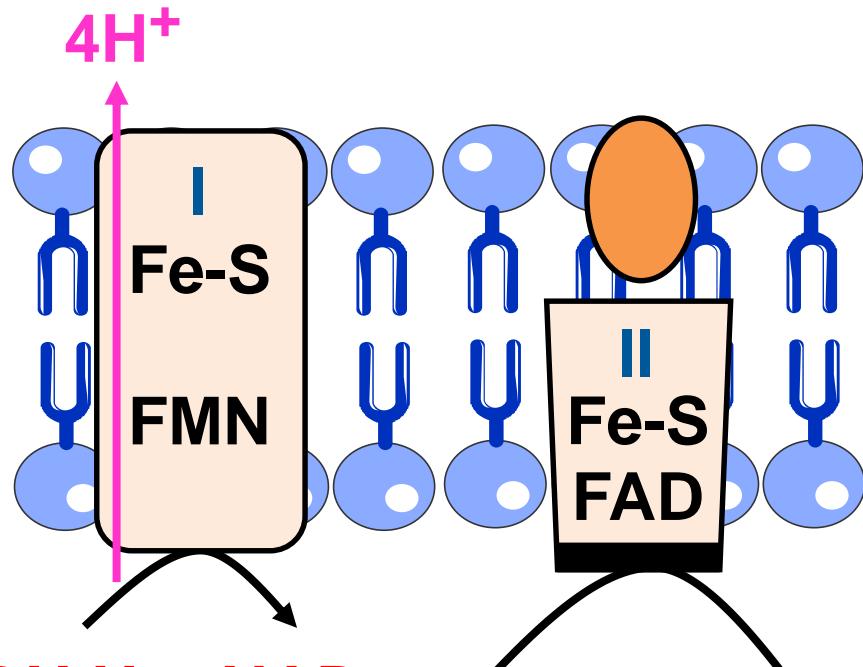
VI/ Les inhibiteurs

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

I NADH-Q réductase

Ubiquinol

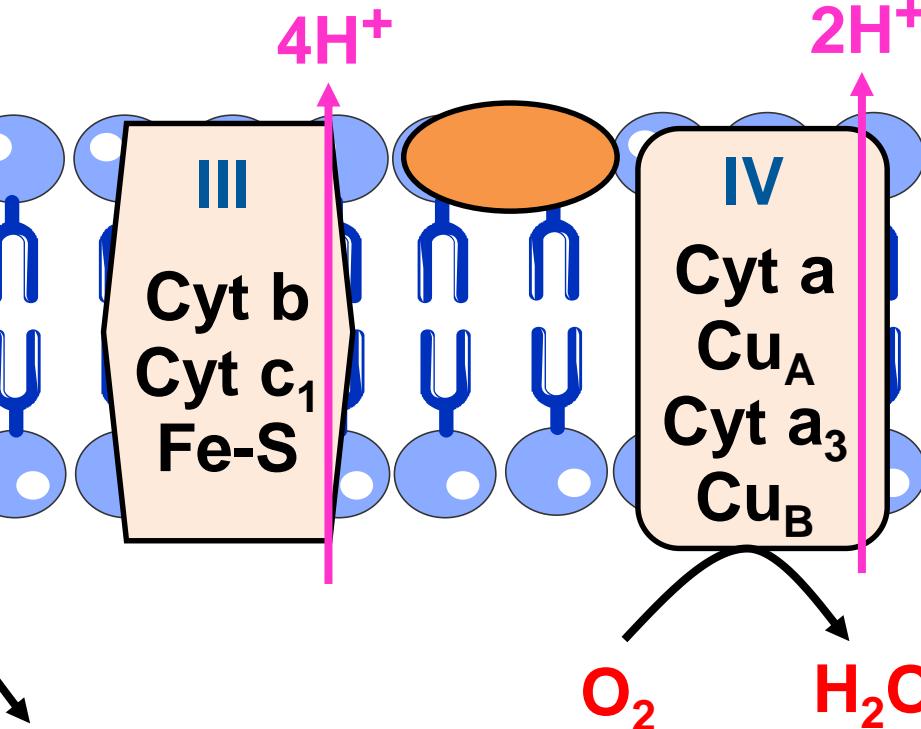
II Succinate-Q réductase



III Cytochrome c réductase

Cytochrome c

IV Cytochrome c oxydase



La chaine d'oxydoréduction

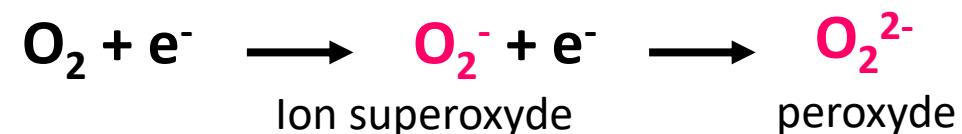
- **Les différentes étapes du transfert**

■ Cytochrome c oxydase (CIV)

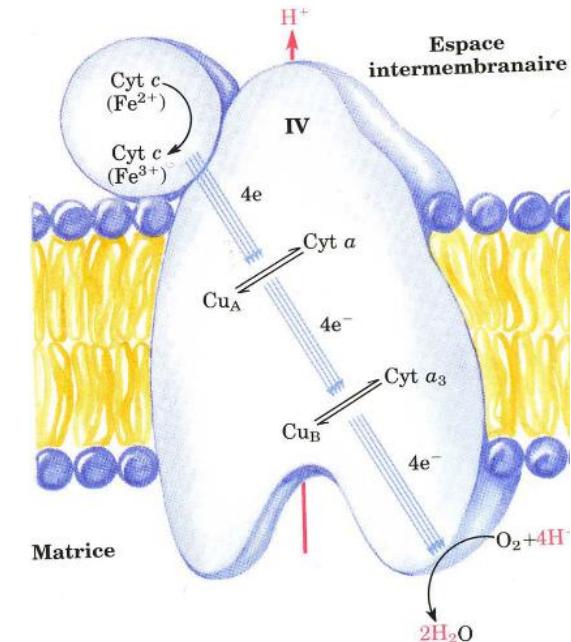


4 électrons sont canalisés vers O_2 pour le réduire totalement en H_2O et, de façon concomitante, pour pomper des protons de la matrice vers la face cytosolique de la membrane mitochondriale interne

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**



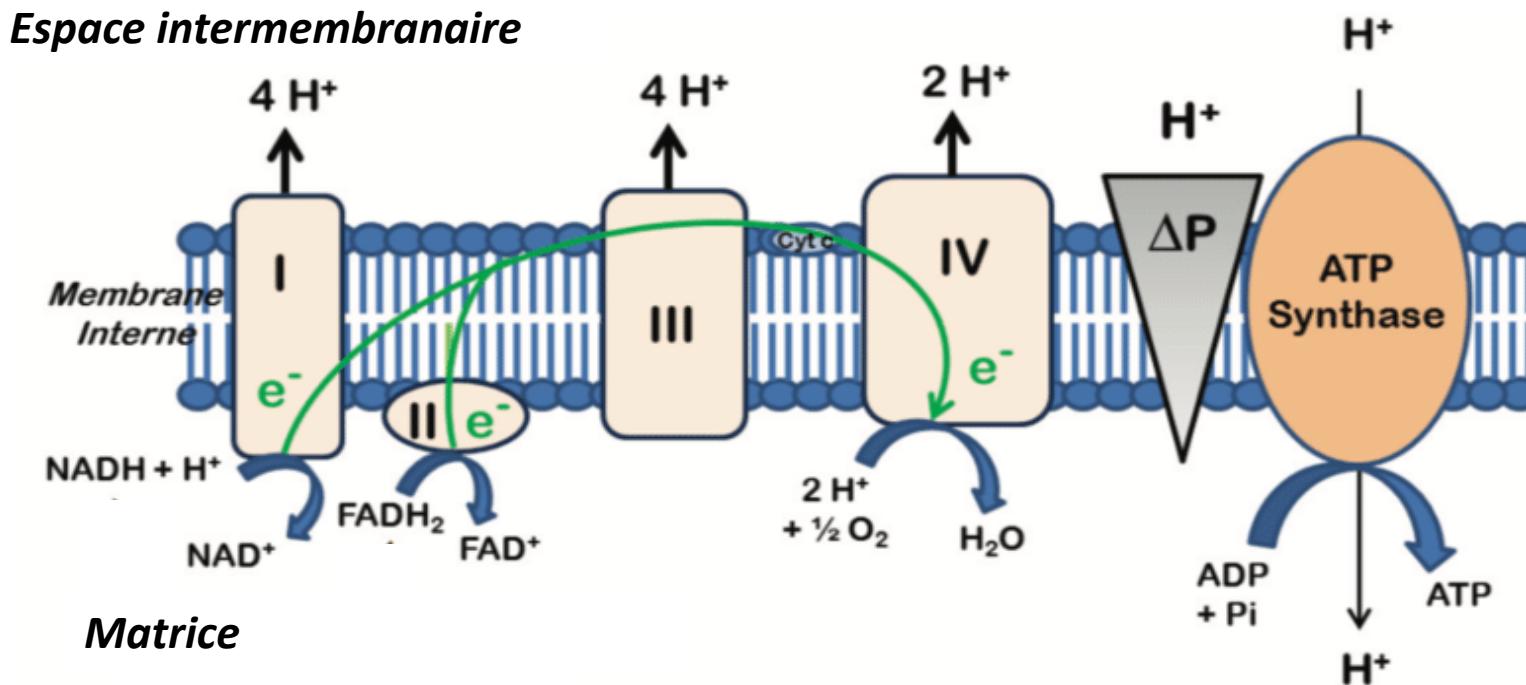
2 H⁺ sont conduits dans l'espace intermembranaire



- 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



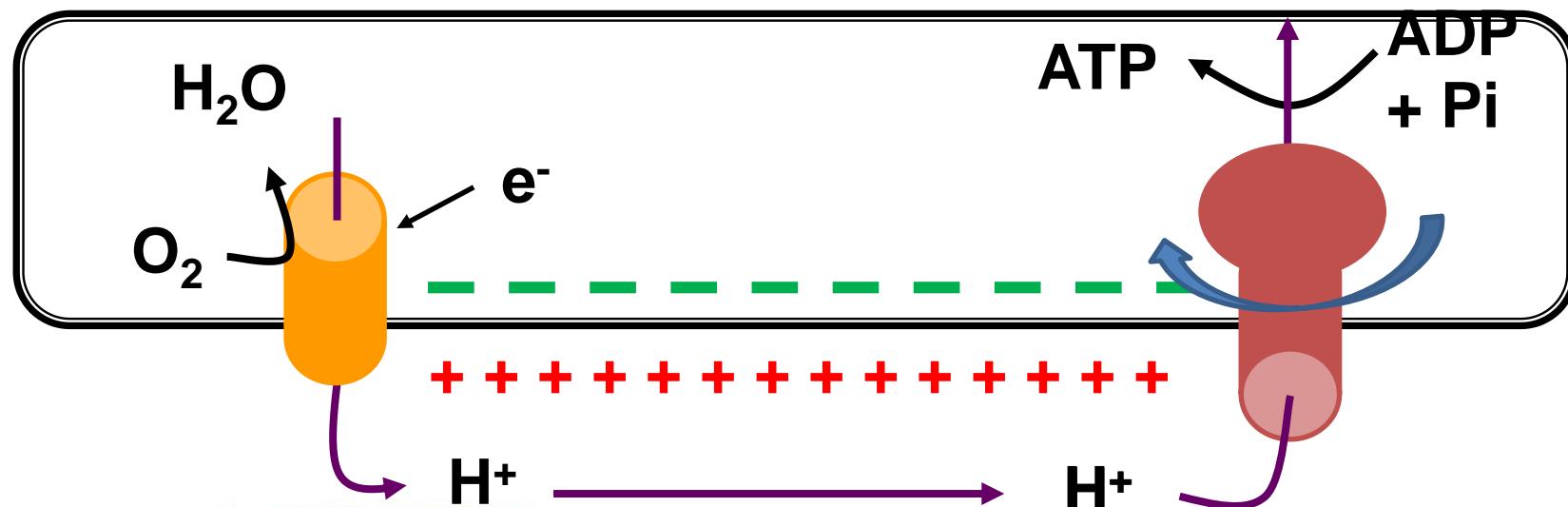
Flux d' e^- du NADH vers O_2 : processus **exergonique**



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 chaines polypeptidiques

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

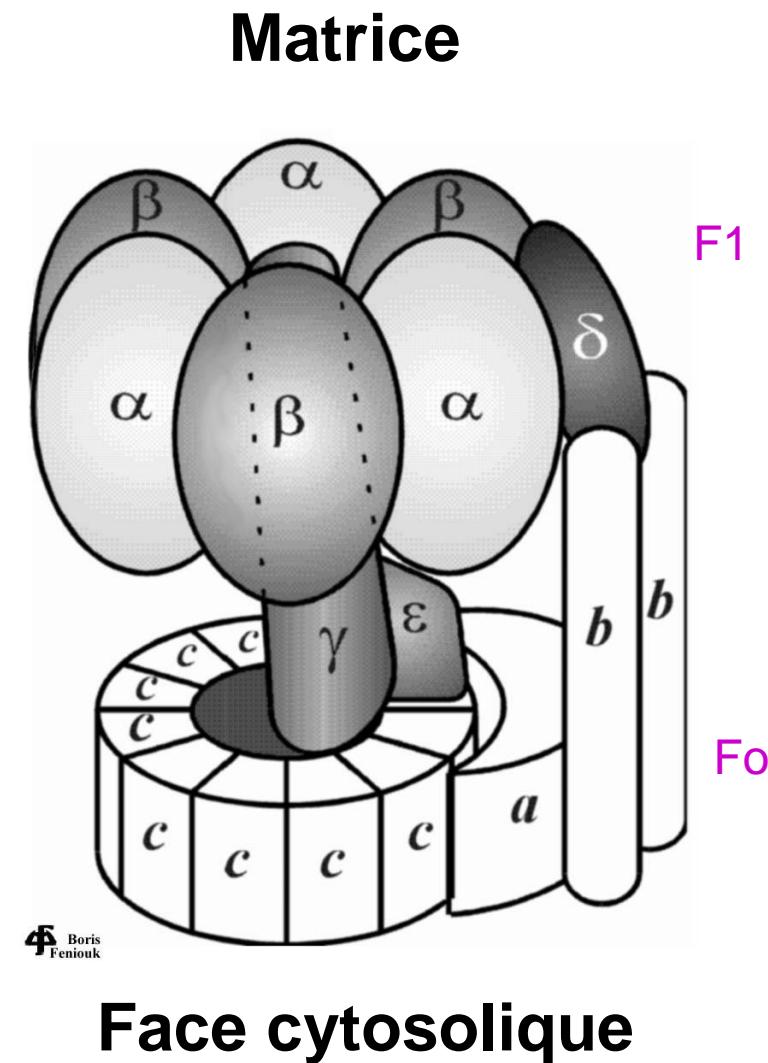
Tige centrale : ϵ et γ

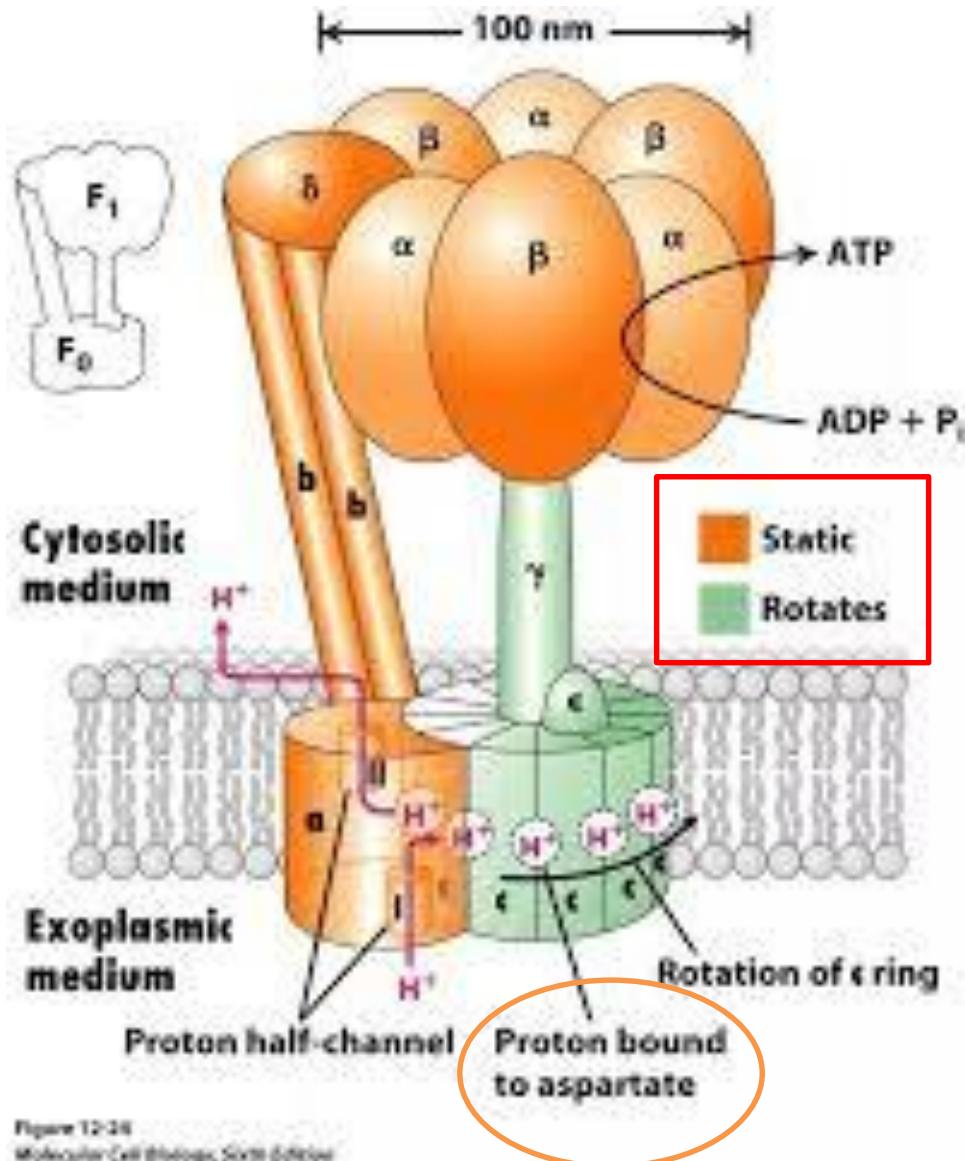
γ rompt la symétrie de l'hexamère $\alpha_3\beta_3$

δ

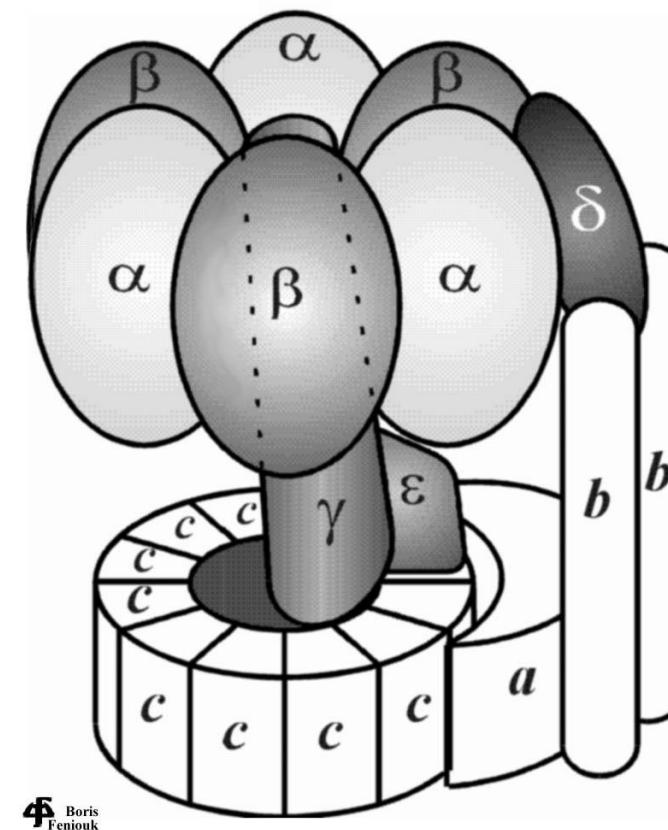
Fo, segment hydrophobe :

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

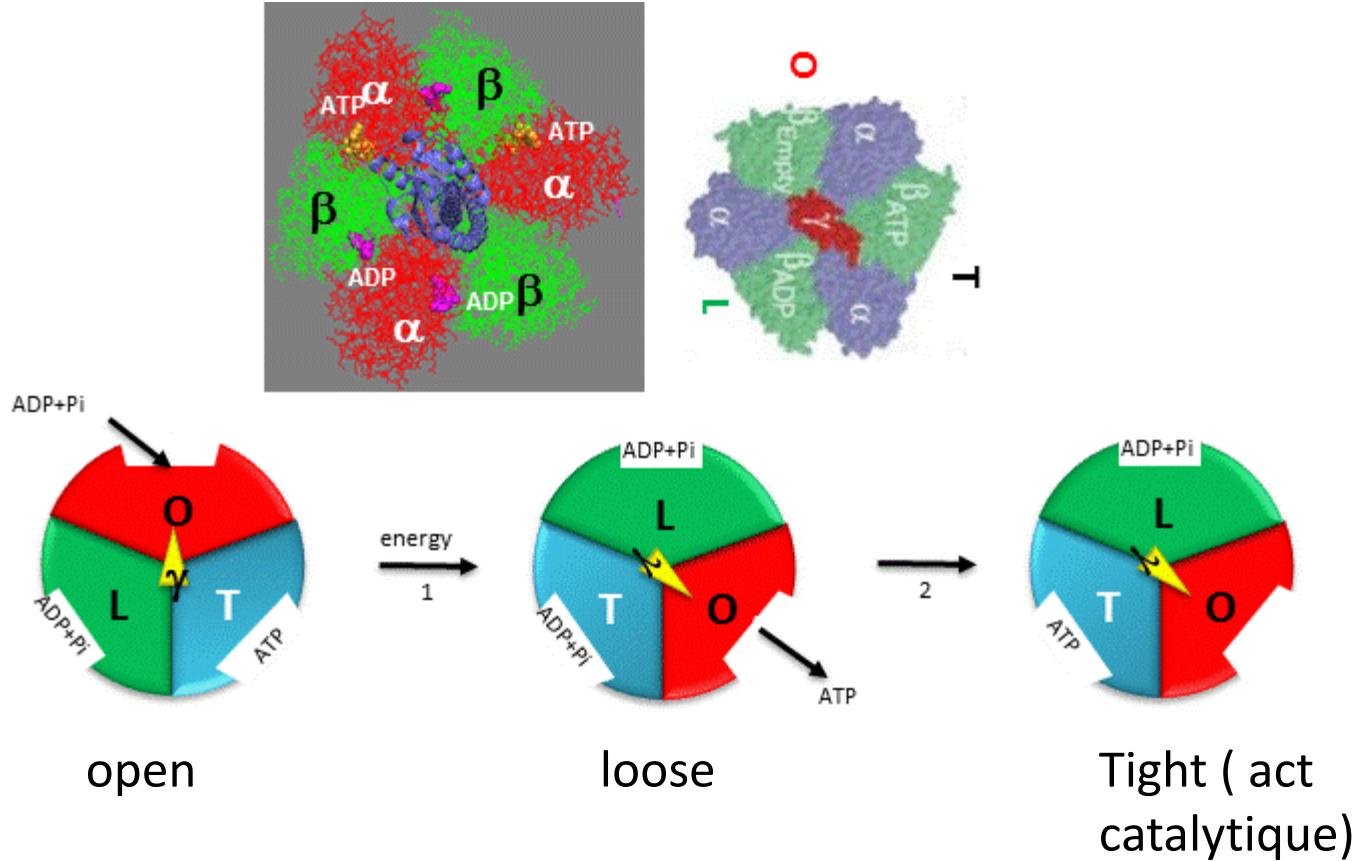




Matrice



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



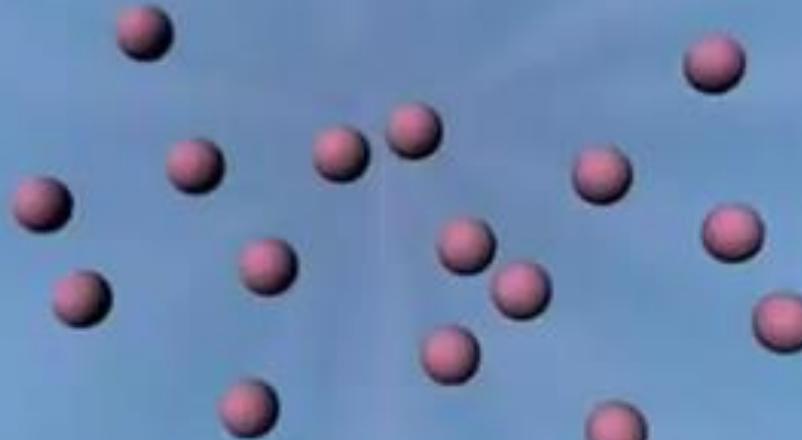
Pour aller plus loin

- <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=_5cIF5nICd8

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



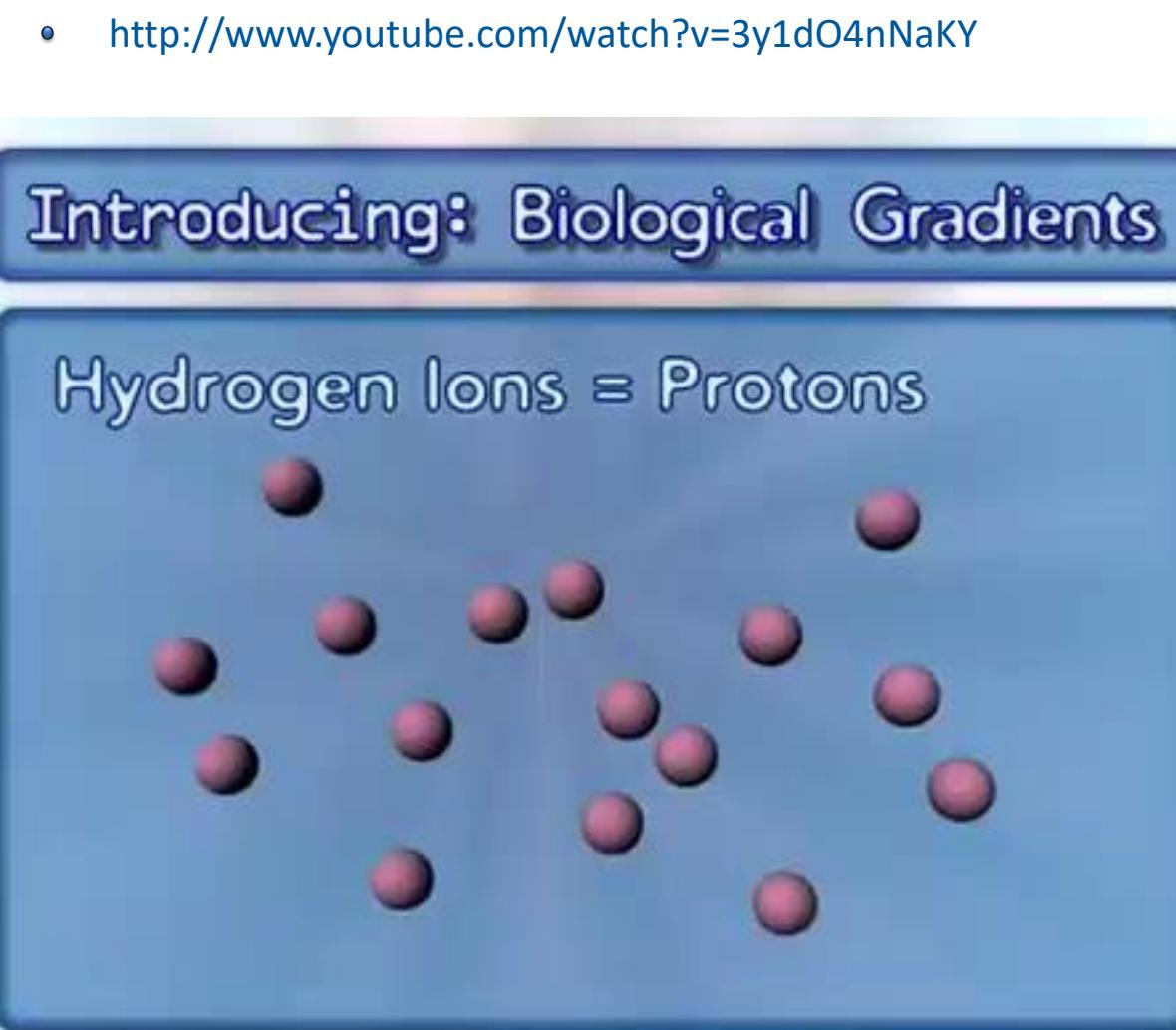
Pour aller plus loin

- <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=_5cI5nICd8

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



Pour aller plus loin

- <http://www.youtube.com/watch?v=xbJ0nbzt5Kw>
- <http://www.youtube.com/watch?v=3y1dO4nNaKY>



Introducing: Biological Gradients

Hydrogen Ions = Protons

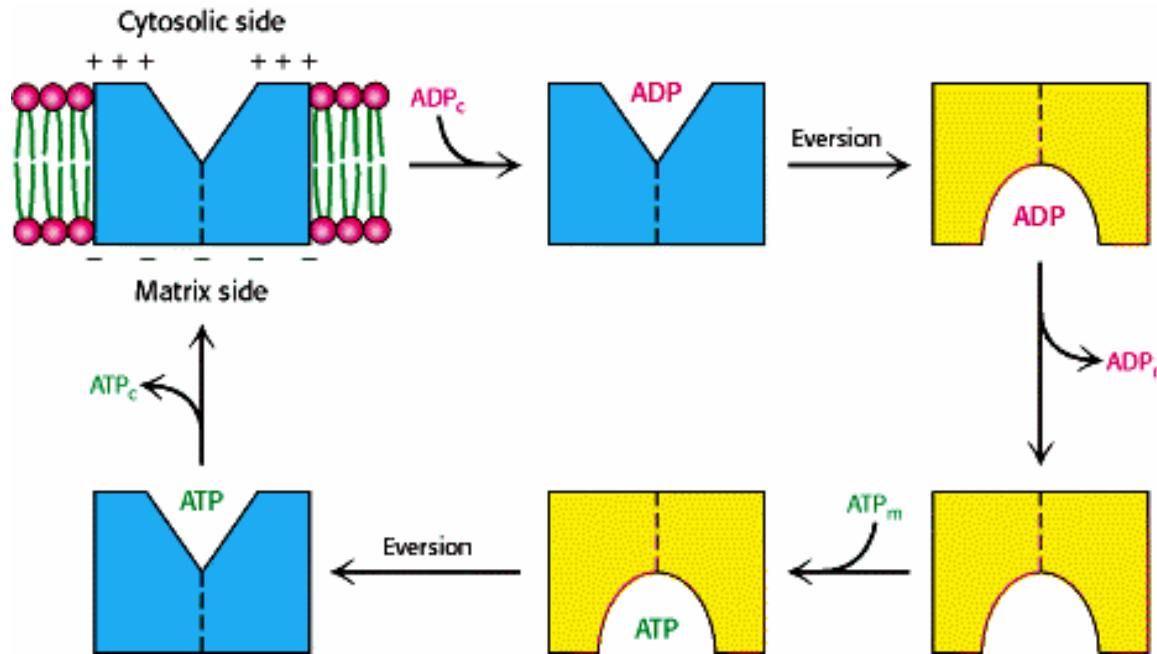
The diagram shows a collection of small, semi-transparent red spheres scattered across a light blue rectangular background. The spheres are more densely clustered in the center-right area, indicating a higher concentration of hydrogen ions or protons in that region, while they are more sparsely distributed towards the edges, indicating lower concentrations.

https://www.youtube.com/watch?v=_5cIF5nICd8

<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

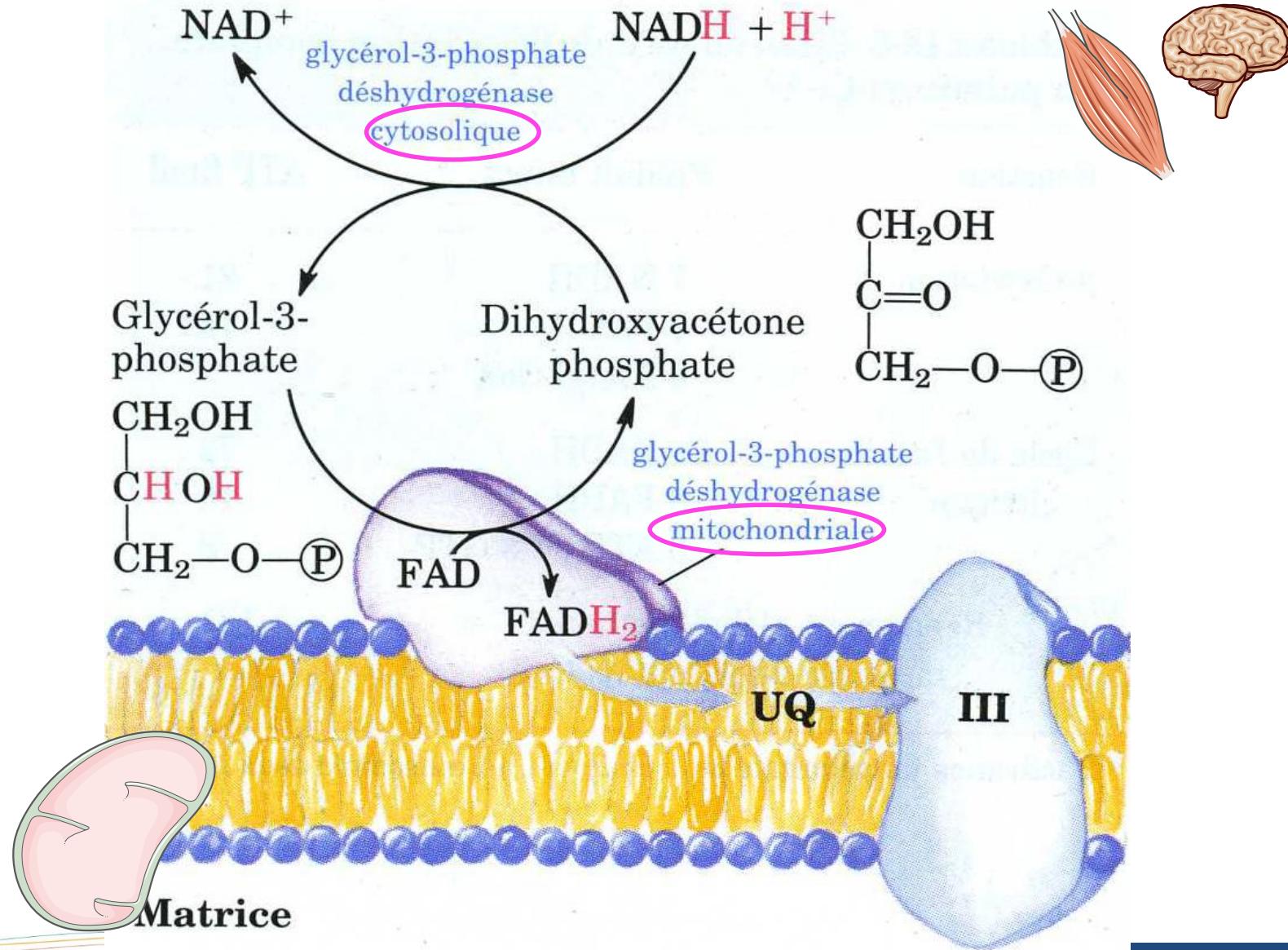
Transport du NADH cytosolique

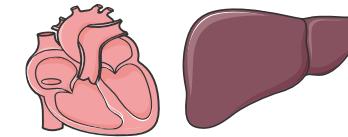
I/ Généralités
II/ La chaîne d'oxydoreduction
III/ La phosphorylation

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

Système glycérol-phosphate dans le muscle (foie)

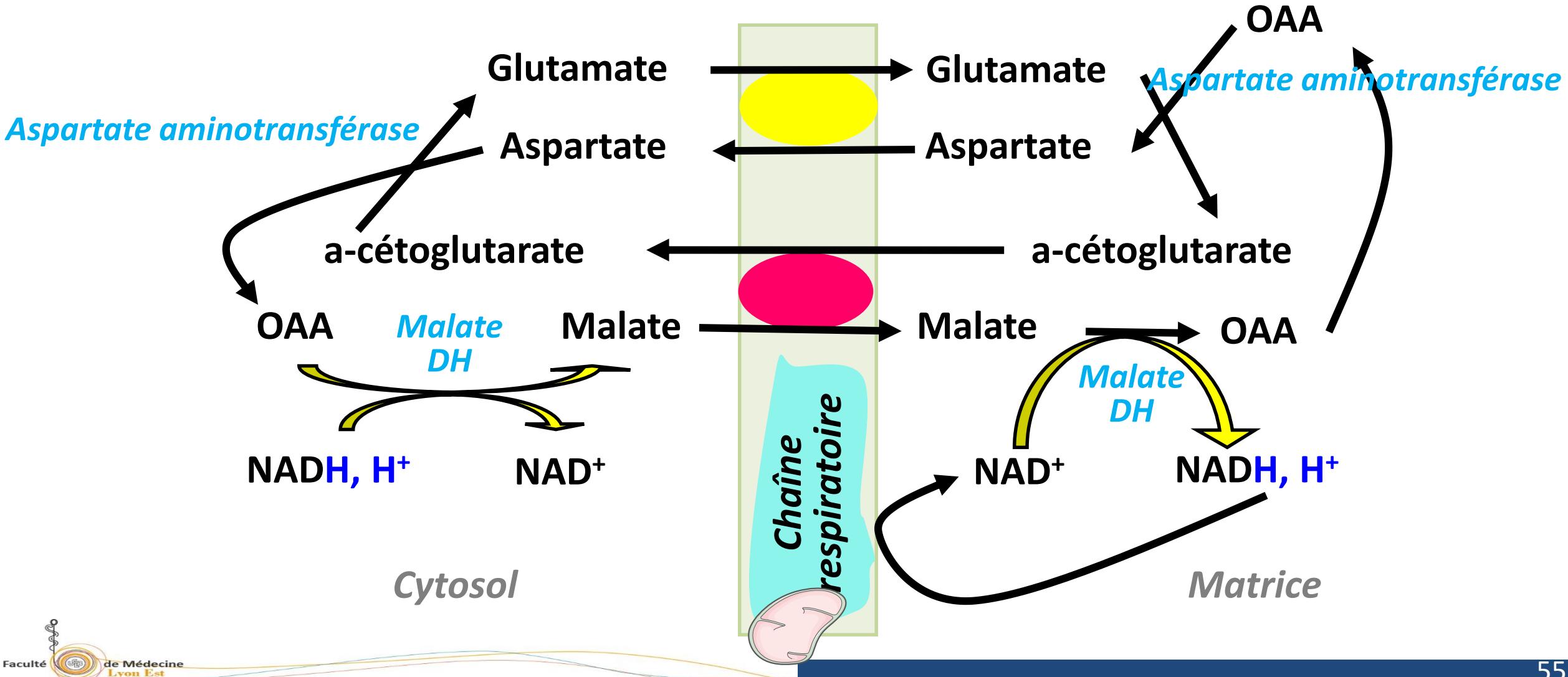
→ 2 ATP





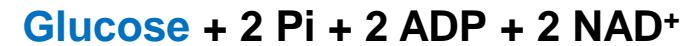
Système malate-aspartate (cœur-foie)

→ 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₊**
 - $4\text{H}^+(\text{Cl}) + 4\text{H}^+(\text{CIII}) + 2\text{H}^+(\text{CIV}) = 10\text{H}^+$
 - 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 4H₊ NADH-> 2,5ATP et FADH₂ ->1,5ATP)

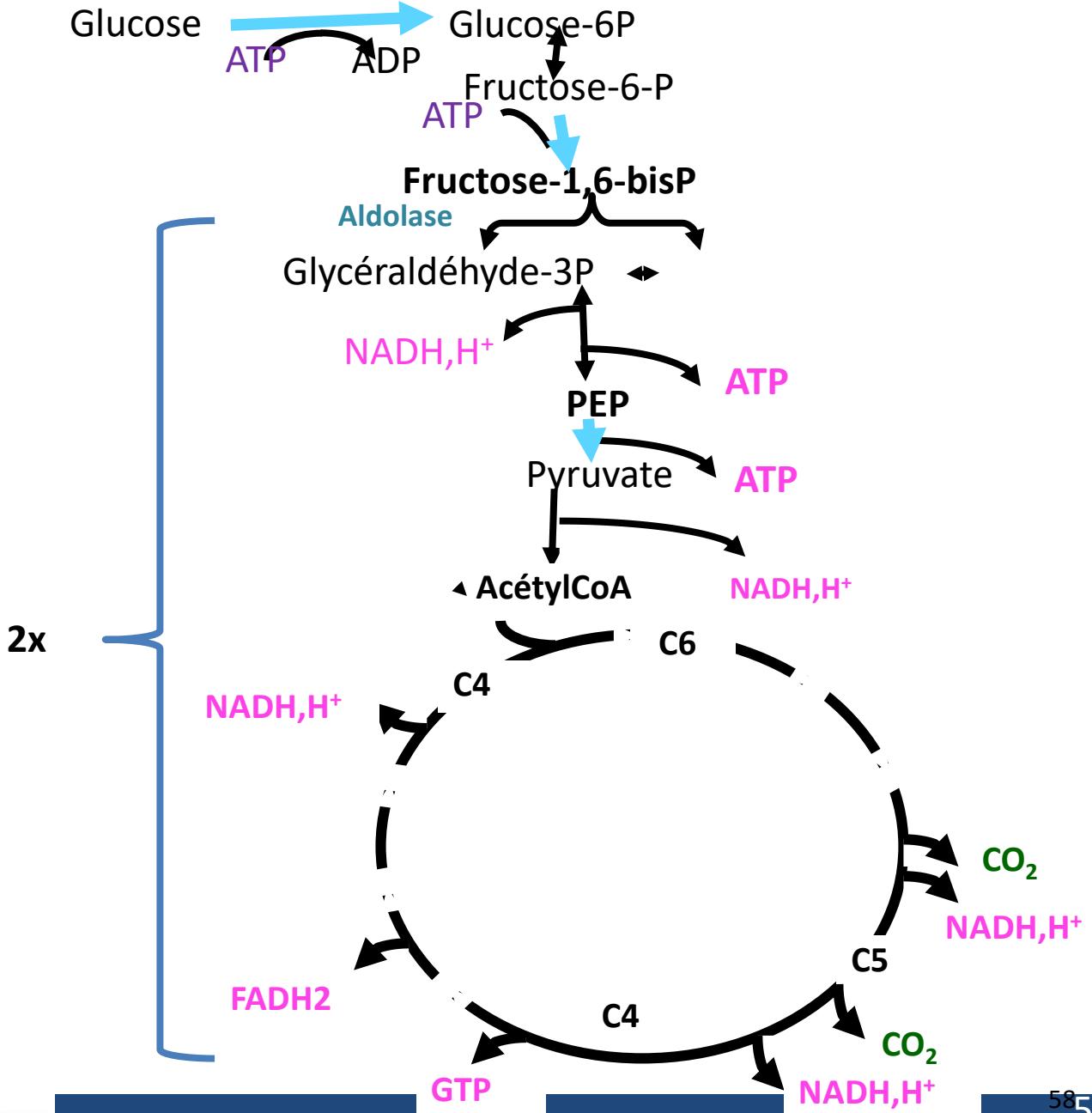


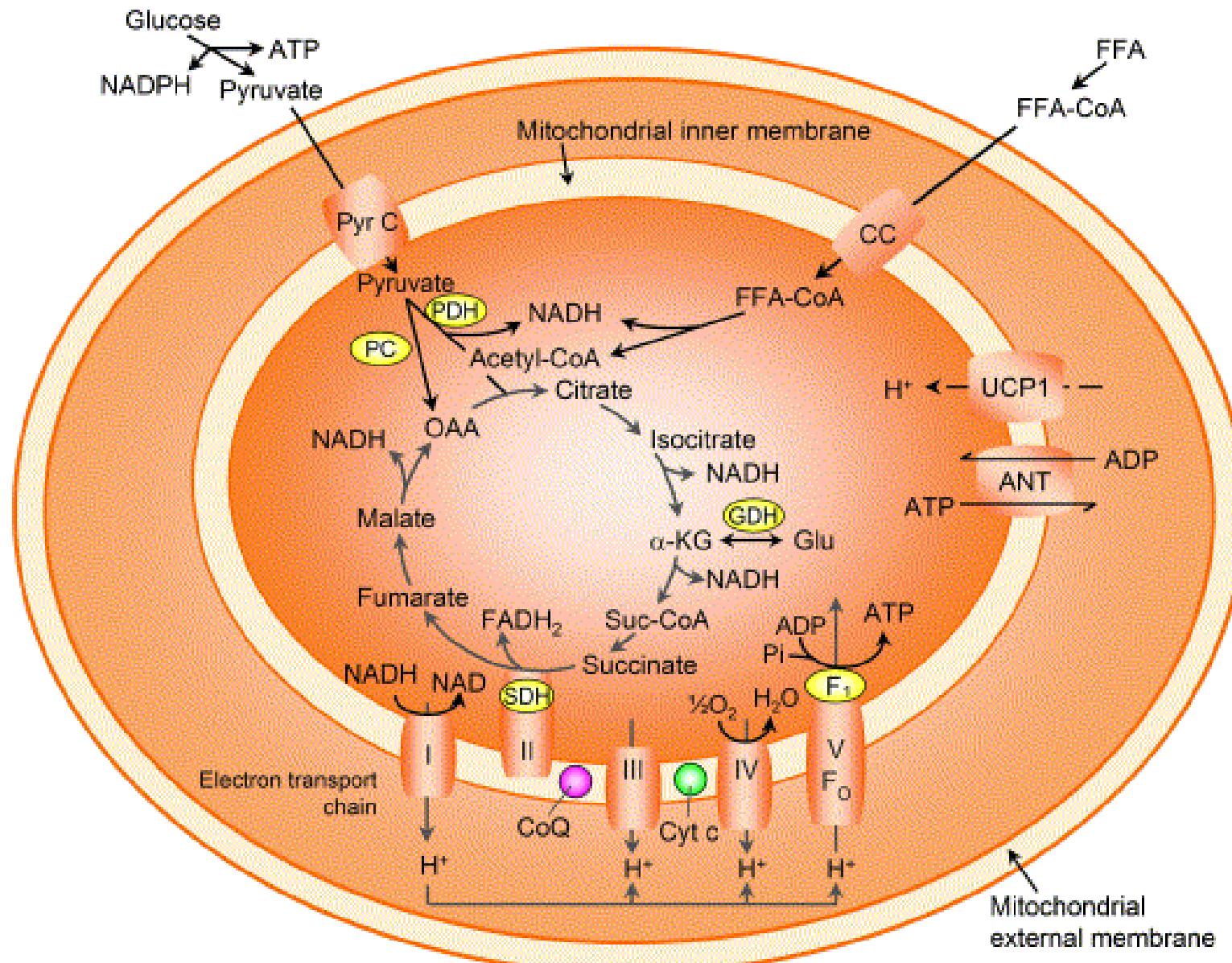
=4 ATP (navette glycerol phosphate)
=6 ATP (navette malate aspartate)

PDH: $\text{NADH}^*2 = 6 \text{ ATP}$

Krebs: $(3 \text{ NADH} + \text{FADH}_2 + 1 \text{ GTP})^*2$
 $12*2=24 \text{ ATP}$

=36 ATP 30ATP
38ATP 32ATP





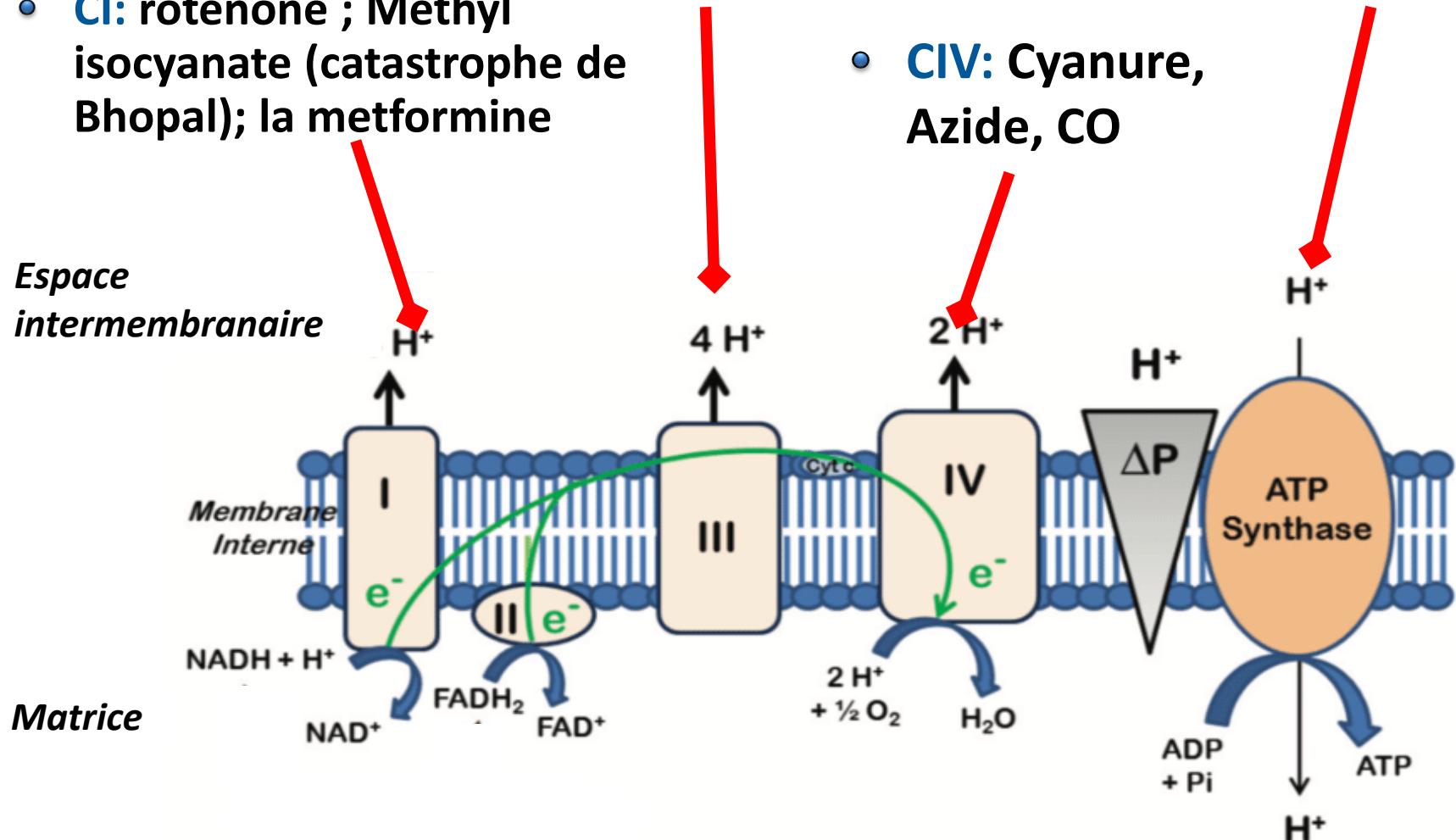
- I- Généralités
- II- La chaîne d'oxydo-reduction
- III- Les mécanismes de phosphorylation
- IV- Les transporteurs mitochondriaux
- V- Bilan énergétique
- VI- Les inhibiteurs

Inhibiteurs

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

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

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



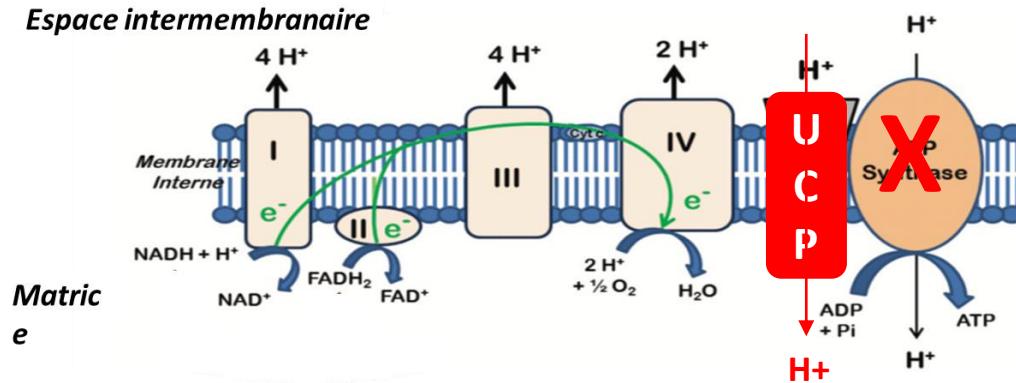
- **Découplant:**

- 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

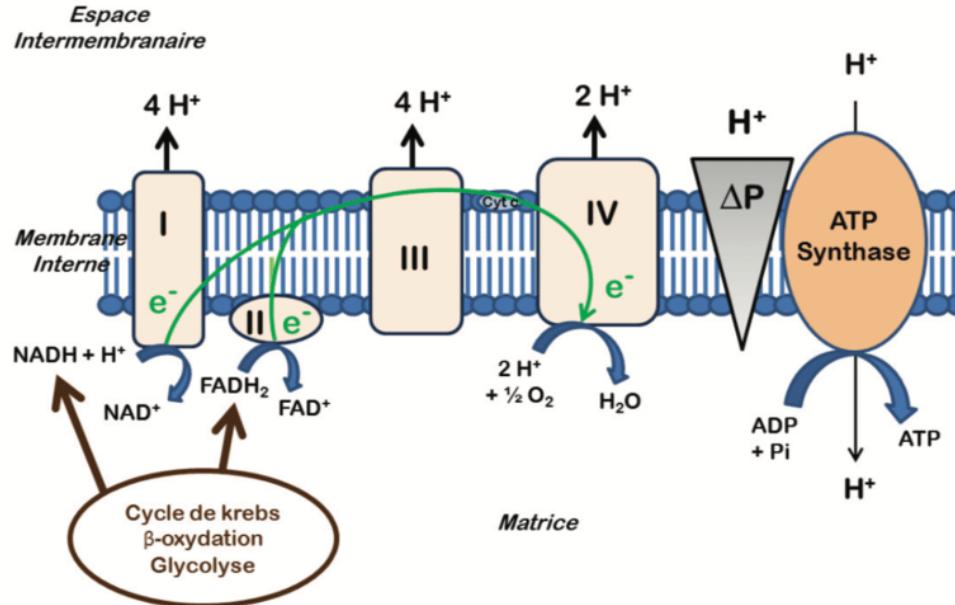
- substance chargée traversent MIM neutralise H+: dinitrophenol, CCCP, FCCP



- **ANT: atracyloside, acid bongrekique**

- 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) :
- O₂⁻ (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'O₂ (sinon mort cellulaire)