

CHAPITRE

2

L'OBTENTION D'ÉNERGIE CELLULAIRE PAR CHIMIOTROPHIE

Les organismes chimiotrophes ont comme source d'électron et l'énergie des molécules inorganiques (chimiolithotrophes) ou organiques (chimiorganotrophes). L'obtention d'énergie et de pouvoir réducteur utilisable par la cellule passe par deux procédés de conversion :

- **le couplage chimique** : des réactions catalysées par des enzymes permettent de transférer des électrons ou des groupements à fort potentiel énergétique comme le phosphate sur des groupements redox (NADH, NADPH, FADH₂) ou sur des NTP, porteurs de groupements phosphates.
- **le couplage chimio-osmotique** : les électrons sont transportés depuis un donneur d'électron (groupement redox (comme le NADH), une molécule organique ou une molécule inorganique) à travers une chaîne de transport d'électron. Ce transport entraîne la formation d'un gradient de proton. Ce gradient de proton permet une synthèse d'ATP par l'ATP synthase. Chez les chimiolithotrophes, le transport d'électrons peut permettre aussi de fabriquer du pouvoir réducteur utilisable par la cellule.

Les chimiolithotrophes sont souvent à la base du réseau trophique dans des milieux dépourvus de lumière. Ils sont autotrophes pour le carbone et tirent leur énergie de la matière inorganique. Les chimio-organotrophes sont soit des prédateurs dans les réseaux trophiques soit des décomposeurs. Dans ce chapitre, nous allons voir les deux types trophiques du point de vue de l'obtention de l'énergie utilisable pour la synthèse de molécules organiques.

I. Chimioorganotrophie : Obtention d'énergie par couplage chimique au sein de voies spécifiques de chaque type de macromolécules

La chimio-organotrophie est l'utilisation de la matière organique comme source d'énergie, d'électron et de carbone. C'est le métabolisme des animaux, des protozoaires et de nombreux procaryotes. Nous allons voir ici les voies principales du catabolisme et de l'anabolisme communes à la plupart des espèces.

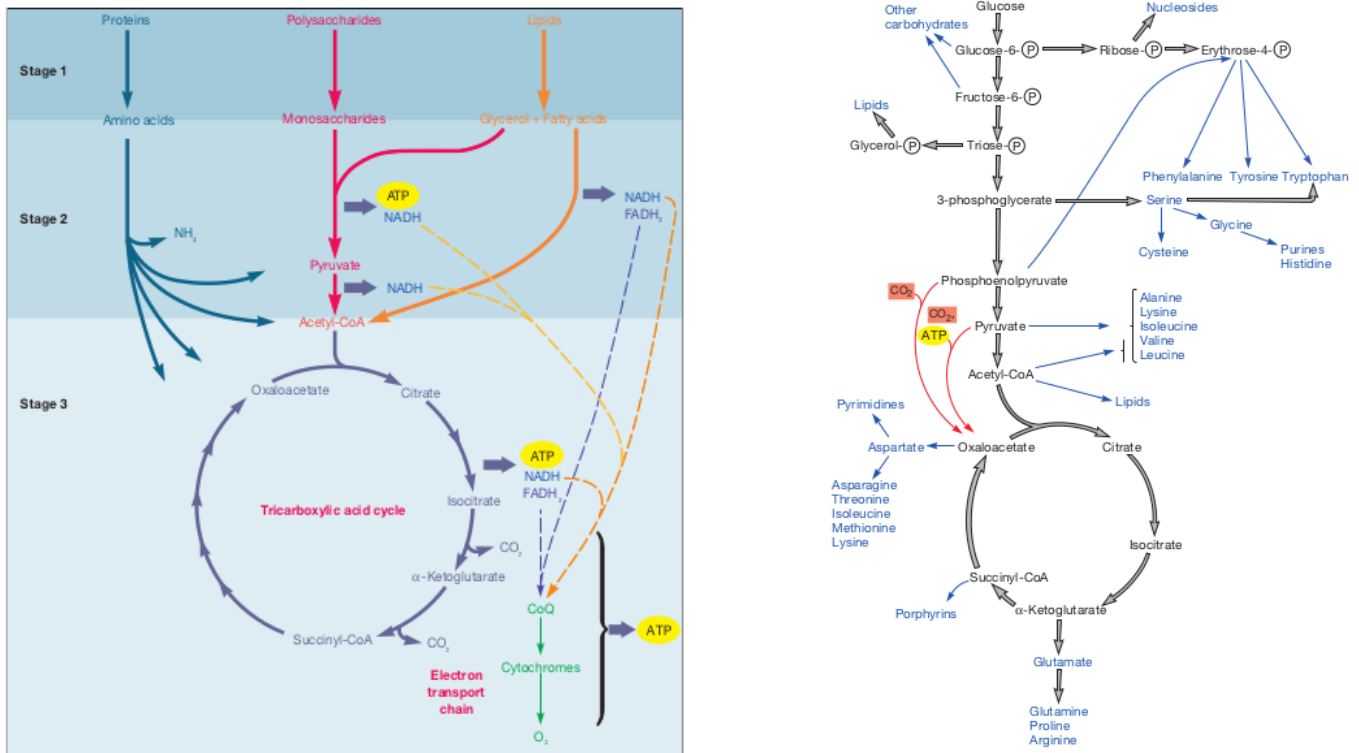


FIGURE 2.1 – Voie Cataboliques (ici seule le devenir en respiration aérobie est présentée) et voies anaboliques [6]

L'oxydation de la matière organique entraîne la production d'intermédiaires qui entrent dans le cycle de Krebs. Certains électrons sont stockés dans la molécule de NADH. Le rapport des concentrations en co-enzymes réduits et co-enzymes oxydés que se soit NADH/NAD NAPH/NADP ou FADH₂/FAD doivent rester constants dans la cellule de façon à maintenir la balance redox et éviter des réduction ou oxydations inappropriées des molécules. Contrairement au NADPH, le NADH et le FADH₂ ne sont pas des sources d'énergie pour la biosynthèse des molécules. Les électrons stockés sont utiliser pour la synthèse d'ATP dans la chaîne respiratoire. La respiration est le transfert des électrons vers une molécule inorganique externe à l'organisme.

A. Voies de dégradation des sucres

Trois voies de dégradation des sucres peuvent avoir lieu en parallèle selon les espèces.

- **La voie d'Embden-Meyerhof ou glycolyse** est présente chez tous les chimio-organotrophes.
- **La voie des pentoses phosphates** existe chez les micro-organismes et chez les pluricellulaires. Sa particularité est de fournir des sucres à 5/7 carbones mais surtout du NADPH. Chez

les animaux, cette voie n'a lieu que dans le foie ou le rein de façon à fournir les voies de biosynthèse en NADPH.

- **La voie d'Entner-Doudoroff** : est utilisée par les microorganismes du sol *Pseudomonas*, *Rhizobium*, *Azotobacter*, and *Agrobacterium*, et quelques autres bactéries gram négatives. De rares bactéries gram-positives ont cette voie comme la bactéries intestinale *Enterococcus faecalis*.

Les trois voies sont décrites dans cette partie. La glycolyse doit être connue parfaitement. Les autres voies seul le principe et les produits doivent être connus.

1 Glycolyse - Voie d'Emden-Meyerhof

La voie principale de dégradation des sucres dans le cytoplasme est la glycolyse. Le support de la glycolyse peut être le glucose ou d'autres sucres présents dans la circulation sanguine ou alors le glucose-6-P issu du glycogène cellulaire. La glycolyse transforme le glucose (ou le Glucose-6-P) en pyruvate et comprend deux phases (figure 2.2) :

- Une phase d'activation des nutriments qui nécessite l'utilisation d'ATP : une fois pour donner du Glucose-6-P et une fois pour donner du F1,6BP. Cette phase permet de déstabiliser les sucres afin de baisser l'énergie d'activation nécessaire à la rupture des liaisons.
- Une phase de production d'énergie qui permet de produire quatre ATP et 2 NADH.

Chaque étape est catalysée par une enzyme. Les enzymes indiquées ici sont les enzymes des cellules animales (sauf foie et rein). De petites variations peuvent être observées selon les organes et les besoins de régulation.

Bilan de la glycolyse :



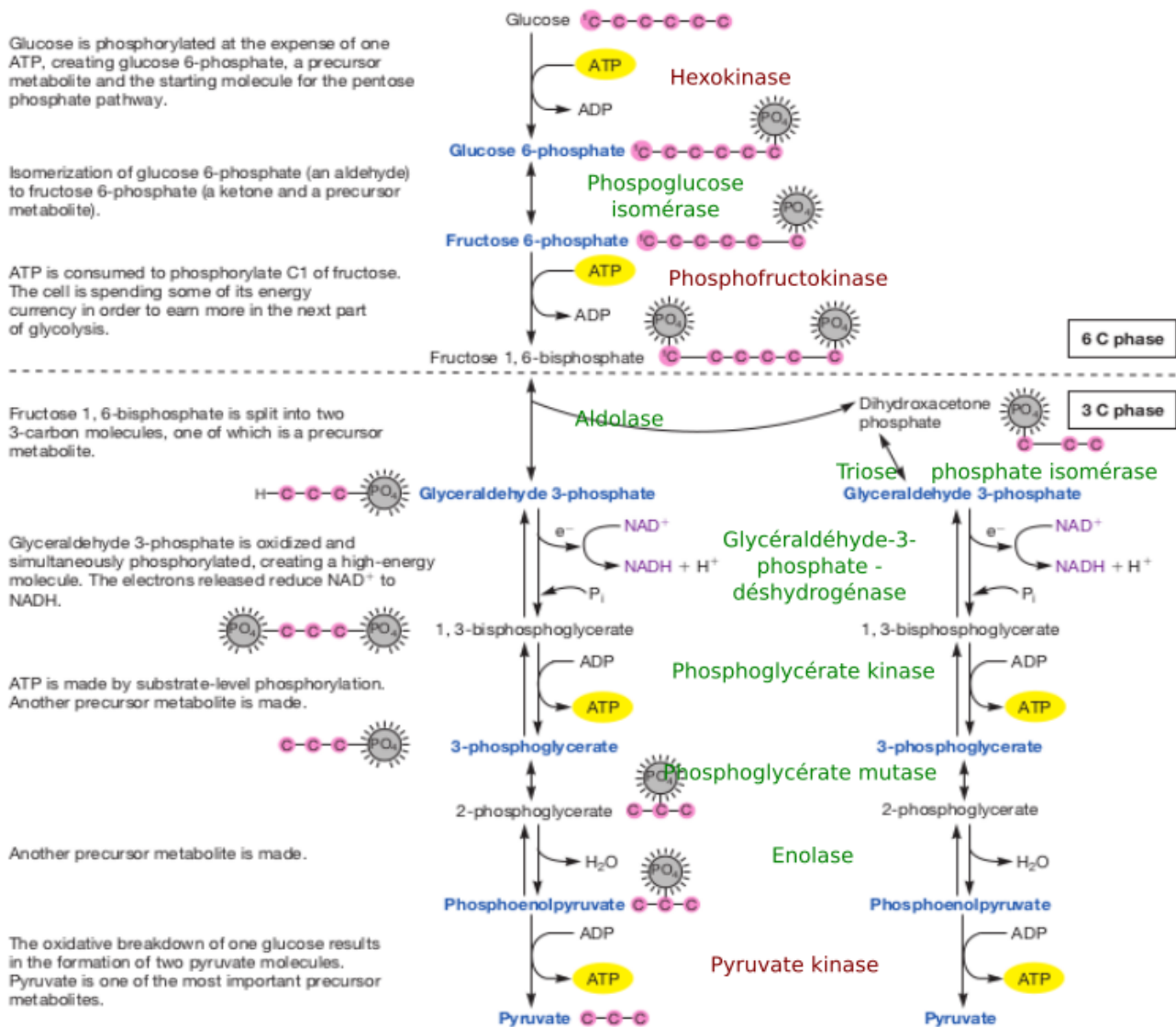


FIGURE 2.2 – Voie de la glycolyse [6]

2 Voies des pentoses phosphates

Le NADPH est formé par l'oxydation du G6P par cette voie appelée voie des pentoses phosphates ou shunt des hexoses monophosphates ou voie du phosphogluconate. Les tissus qui assurent la biosynthèse des acides gras et du cholestérol (foie, glandes mammaires, tissus adipeux, surrénales) sont riches en enzymes de cette voie (30 pour cent de la dégradation du glucose dans le foie).

Il existe néanmoins trois phases :

1. Des réactions d'oxydation qui donnent du NADPH et du Ru5P
$$3G6P + 6NADP^+ + 3H_2O \rightleftharpoons 6NADPH + 6H^+ + 3CO_2 + 3Ru5P$$
2. Des réactions d'isomérisation et d'épimérisation qui transforment le ribulose-5-P en 2-xylulose-5-P et en Ribose-5-P
3. Une série de formations et de ruptures de liaisons qui transforment ces deux produits en deux Fructose-6-P et un glycéraldéhyde-3-P.

Les deux dernières phases sont parfaitement réversibles et les intermédiaires métaboliques peuvent être utilisés pour des voies de biosynthèse. La production de fructose-6-P et de glycéraldéhyde-3-P sera alors plus faible.

Bilan de la voie des pentoses :



3 La voie d'Entner-Doudoroff

La voie d'Entner-Doudoroff commence avec les mêmes réactions que la voie des pentoses puis bifurque pour former à glycéraldéhyde-3-phosphate qui est transformé par la voie de la glycolyse. Cela mène à la formation d'un ATP, un NADPH et un NADH par glucose.[6].

Bilan de la voie d'Entner-Doudoroff :



4 La fermentation

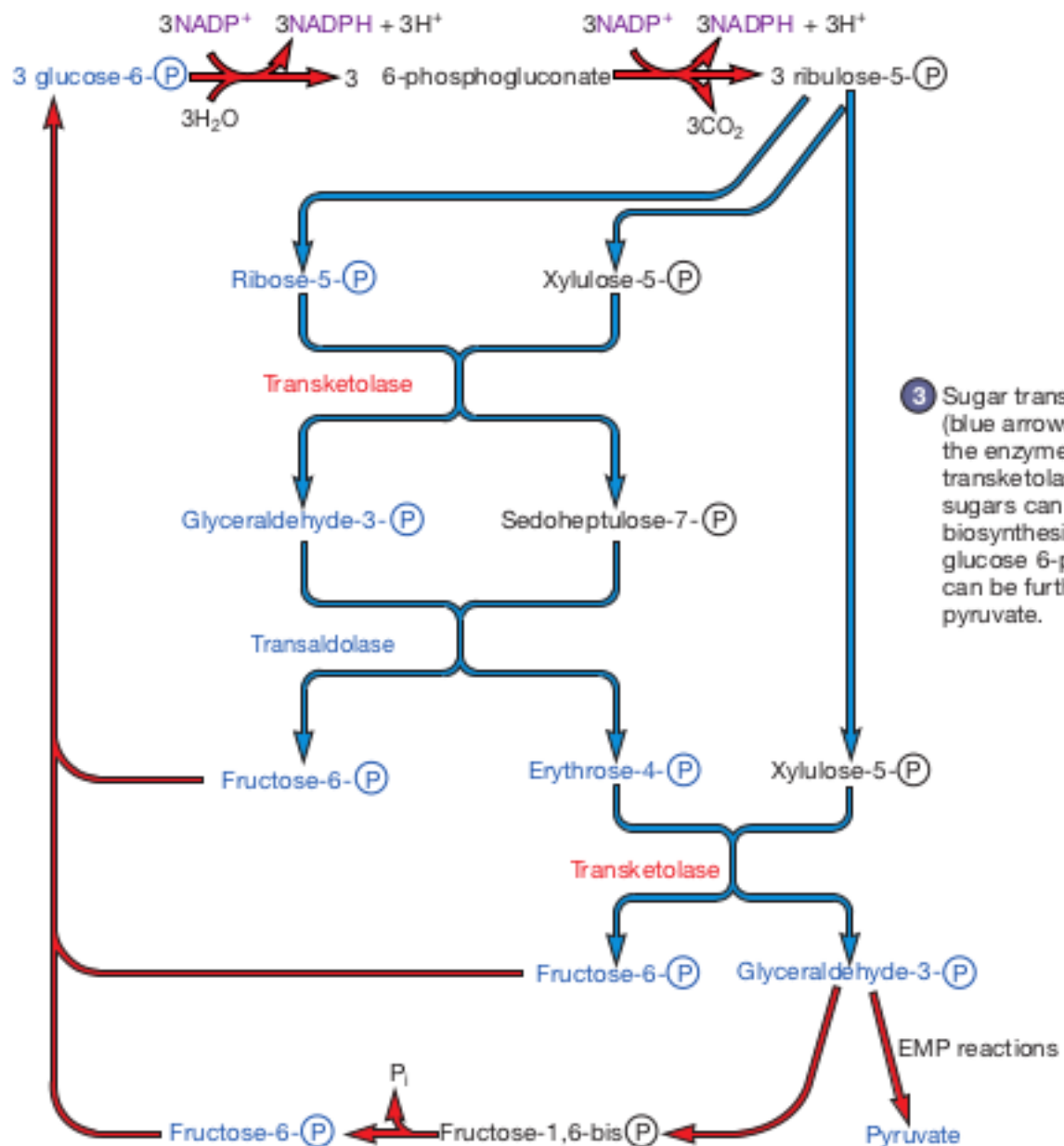
Malgré l'efficacité de la respiration, certaines espèces ne possèdent pas de chaîne respiratoire ou alors l'absence d'accepteur la rend peu efficace. Il est alors nécessaire de stocker les électrons des NADH synthétisés dans les étapes précédentes afin de ne pas mettre en danger la balance redox de la cellule. La fermentation est un métabolisme dans lequel l'accepteur final d'électron est endogène à l'organisme.

Les animaux réalisent une fermentation lactique. Les électrons du NADH sont transférés au pyruvate pour donner de l'acide lactique. Si la fermentation produit moins d'ATP par glucose (2 uniquement), il n'est pas toujours vrai qu'elle est moins efficace. Les cellules musculaires contiennent cent fois plus d'enzymes de la glycolyse que de chaînes de transport d'électron. La glycolyse anaérobie est mobilisée dans les premiers moments de l'exercice physique, quand le muscle manque d'oxygène, et est extrêmement rapide pour fournir de l'énergie. Néanmoins, l'accumulation de lactate bloque la glycolyse. L'oxygénation correcte du muscle permet ensuite le passage vers la respiration.

Chez les micro-organismes, il existe de nombreux types de fermentation (figure 2.5).

1 Glucose 6-phosphate, an intermediate of the Embden-Meyerhof pathway and a precursor metabolite, is oxidized. The reaction provides reducing power in the form of NADPH.

2 6-Phosphogluconate is oxidized and decarboxylated. This produces CO₂ and more reducing power in the form of NADPH.



3 Sugar transformation reactions (blue arrows) are catalyzed by the enzymes transaldolase and transketolase. Some of the sugars can be used in biosynthesis or to regenerate glucose 6-phosphate. They also can be further catabolized to pyruvate.

FIGURE 2.3 – Voie des pentoses phosphates [6]

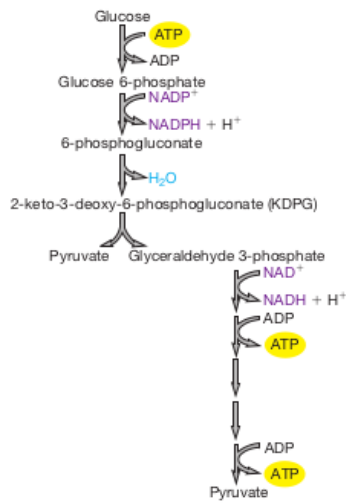


FIGURE 2.4 – Voie d'Entner-Doudoroff [6]

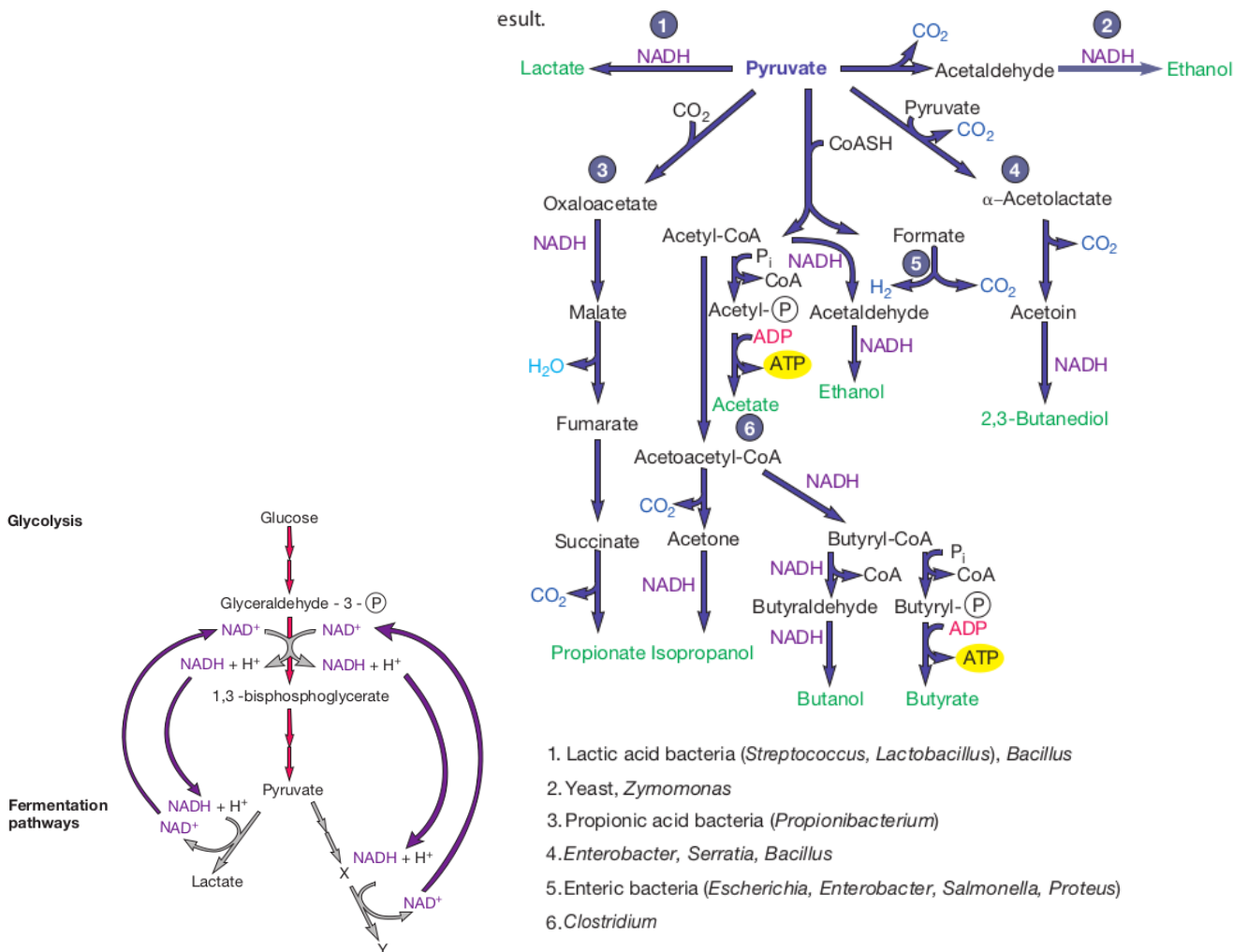


FIGURE 2.5 – La fermentation [6]

B. Voies de dégradation des lipides en Acétyl-coA

Les lipides constituent un vaste groupe moléculaire. Quelque soit la forme des réserves ou des nutriments, la molécule énergétique est l'acide gras. Chez les eucaryotes la dégradation des acides gras a lieu dans la mitochondrie.

1 Activation et transport dans la mitochondrie

La membrane externe contient des porines, protéines transmembranaires formant de véritables pores. Leur sélectivité et leur spécificité ne sont pas encore bien connues. Le canal anionique VDAC (voltage-dépendant anion channel) est considéré comme la voie principale de passage des métabolites à travers la membrane externe. Ce canal est constitué d'une protéine de 31 kDa adoptant une structure de tonneau, ressemblant ainsi aux porines de la membrane externe des bactéries (figure 17). Ce pore a un diamètre interne de 2,5 nm qui permettrait donc le libre passage des acides gras, du pyruvate, des acides aminés et de nucléotides (figure 2.7).

Comme pour le glucose, les acides gras doivent être activés avant d'être dégradés. Ils ne sont pas phosphorylés mais un coenzyme-A est ajouté sur la fonction carboxyle *via* une liaison thioester très énergétique par l'acyl-coA-synthétase (thiokinase). Cette activation a lieu dans le cytosol puis les acides gras sont transportés dans la mitochondrie par la carnitine carrier protein. Cette protéine transporte non pas un acyl-coA mais un acyl-Carnitine contre une carnitine. Dans le cytosol comme dans la mitochondrie, le groupement coA peut être échangé avec la carnitine grâce à des palmitoyl-transférase. Ce procédé complexe assure de conserver deux pool de HS-CoA différents : un séquestré dans la mitochondrie et le second séquestré dans le cytosol (figure 2.7).

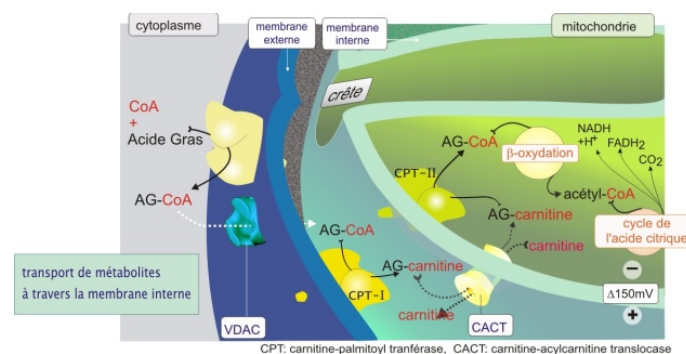


FIGURE 2.6 – Activation et transport [1],[3][4]

2 β -oxydation

Dans la mitochondrie, les acyl-coA sont alors pris en charge par une enzyme membranaire appelée l'acyl-coA-déshydrogénase et par un complexe enzymatique (FOM chez *E.coli* et TFP chez *H.sapiens*). Cette dernière est probablement assemblée en tunnel et associée à la membrane interne mitochondriale. Pour mieux comprendre les termes, l'appellation "complexe multienzymatique" est expliquée dans un encart du chapitre suivant.

La voie de dégradation des acides gras dans la mitochondrie est appelée β -oxydation des acides gras car c'est le carbone en β de la fonction acide carboxylique qui est oxydé ce qui libère des unités à deux carbones : des acétyl-coA.

Les acides gras sont dégradés selon un mécanisme cyclique qui fait intervenir quatre réactions catalysées par quatre activités enzymatiques [5] :

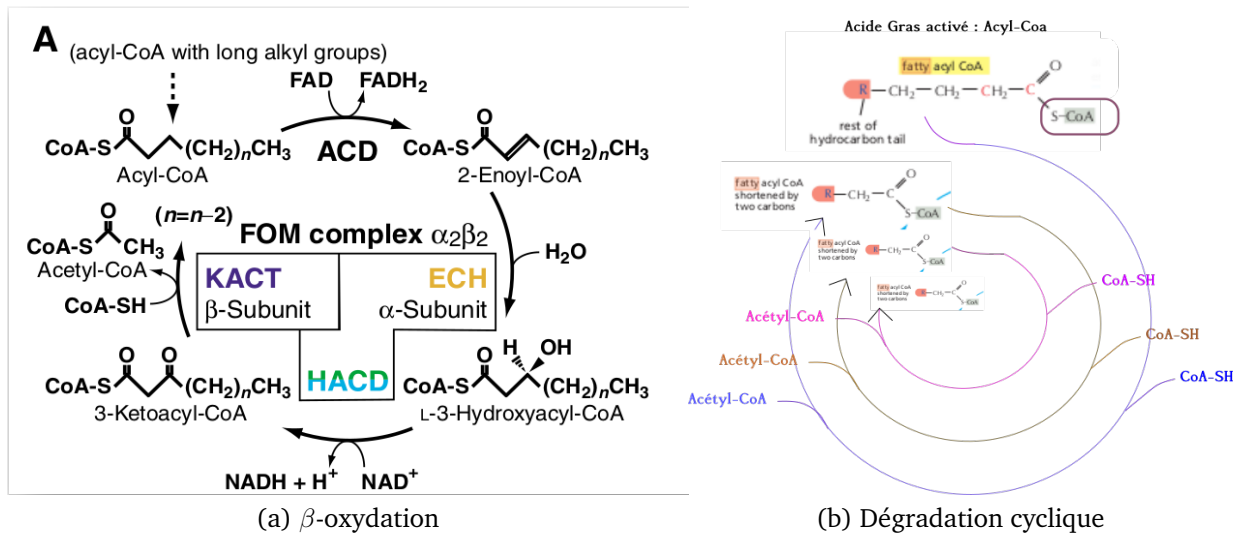


FIGURE 2.7 – Dégradation des acides gras [1],[3]

- **Réaction 1 : Déshydrogénation** : Formation d'une double liaison trans entre les carbones β et α assurée par une acyl-coA déshydrogénase qui contient un FAD comme co-enzyme
- **Réaction 2 : Hydratation** : de la double liaison par une enoyl-coA-hydratase qui donne un 3-L-hydroxyacyl-coA
- **Réaction 3 : Déshydrogénation** : par une 3-L-hydroxyacyl-coA déshydrogénase NAD^+ -dépendante pour former un β -cetoacyl-coA et un NADH. Les trois premières réactions rappellent les réactions de l'acide citrique qui transforment le succinate en oxaloacétate.
- **Réaction 4 : Thiolyse** : rupture de la liaison $C_\alpha - C_\beta$ catalysée par la β -cetoacyl-coA thiolase (ou simplement thiolase) pour donner un acétyl-coA et un nouvel acyl-coA avec deux carbones en moins.

Deux atomes de carbones ont donc été enlevés sous forme d'Acétyl-coA, un $NADH$ et un $FADH_2$ qui peuvent alimenter la chaîne respiratoire ont été réduits. Le nouvel acyl-coA ($C = 2n - 2$) retourne au début du cycle. Pour un acide gras saturé à $C = 2n$, seront donc formés n acétyl-coA, n $NADH$ et n $FADH_2$.

C. Voies de dégradation des protéines

Les protéines ne constituent une source d'énergie importante. Elles sont dégradées dans la cellule au sein d'un complexe appelé protéasome. Les protéines endommagées sont détectées et marquées avec une chaîne d'ubiquitine puis dirigées vers ce complexe (RAB32).

La dégradation des acides aminés passe par des réactions permettant de supprimer les groupements azotés soit par transfert de groupement sur une autre molécule (transamination) soit par oxydation et libération de NH_4^+ (désamination oxydative). Le NH_4^+ est éliminé dans le cycle de l'urée. Une fois libérés de leur groupement azote les acides aminés deviennent des acides cétoniques qui peuvent rejoindre les voies mitochondriales [5].

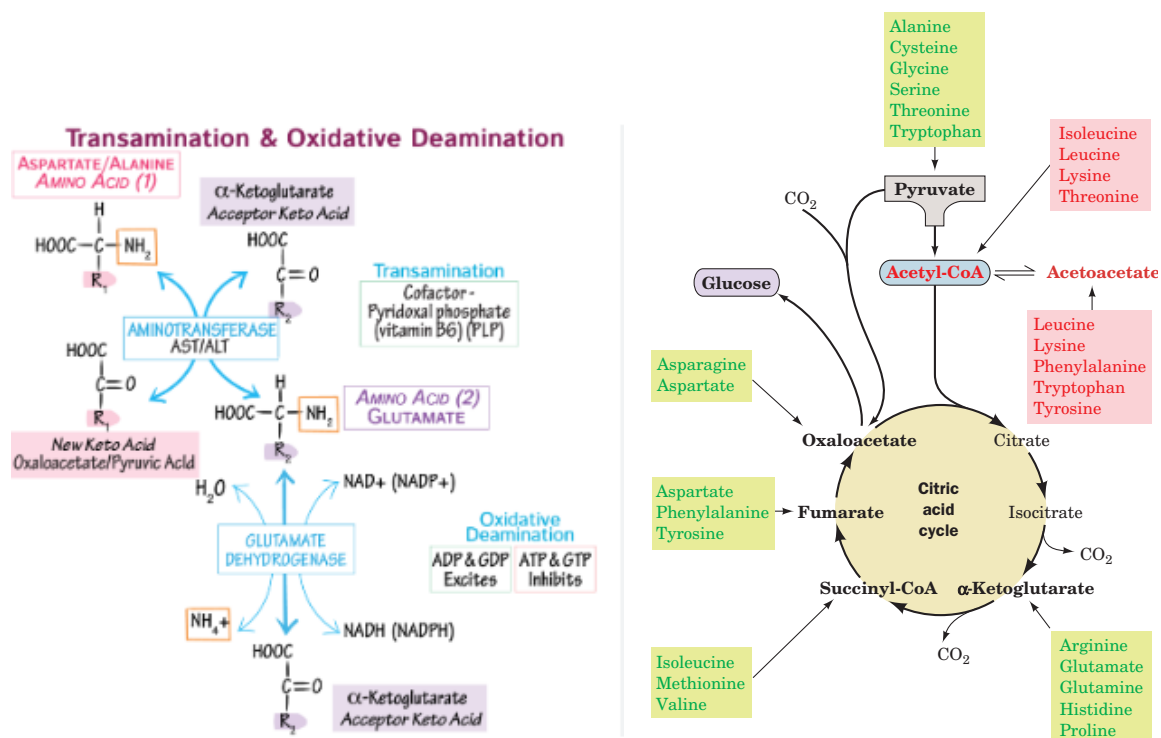


FIGURE 2.8 – Le devenir des acides aminés[5]

L'ensemble des molécules sont donc dégradés en un nombre très réduits d'intermédiaires : Acétyl-CoA et pyruvate principalement. Ces intermédiaires sont pris en charge dans la mitochondrie.

Schéma bilan 1 : Voies de dégradations spécifiques des sucres et des lipides et obtention d'énergie

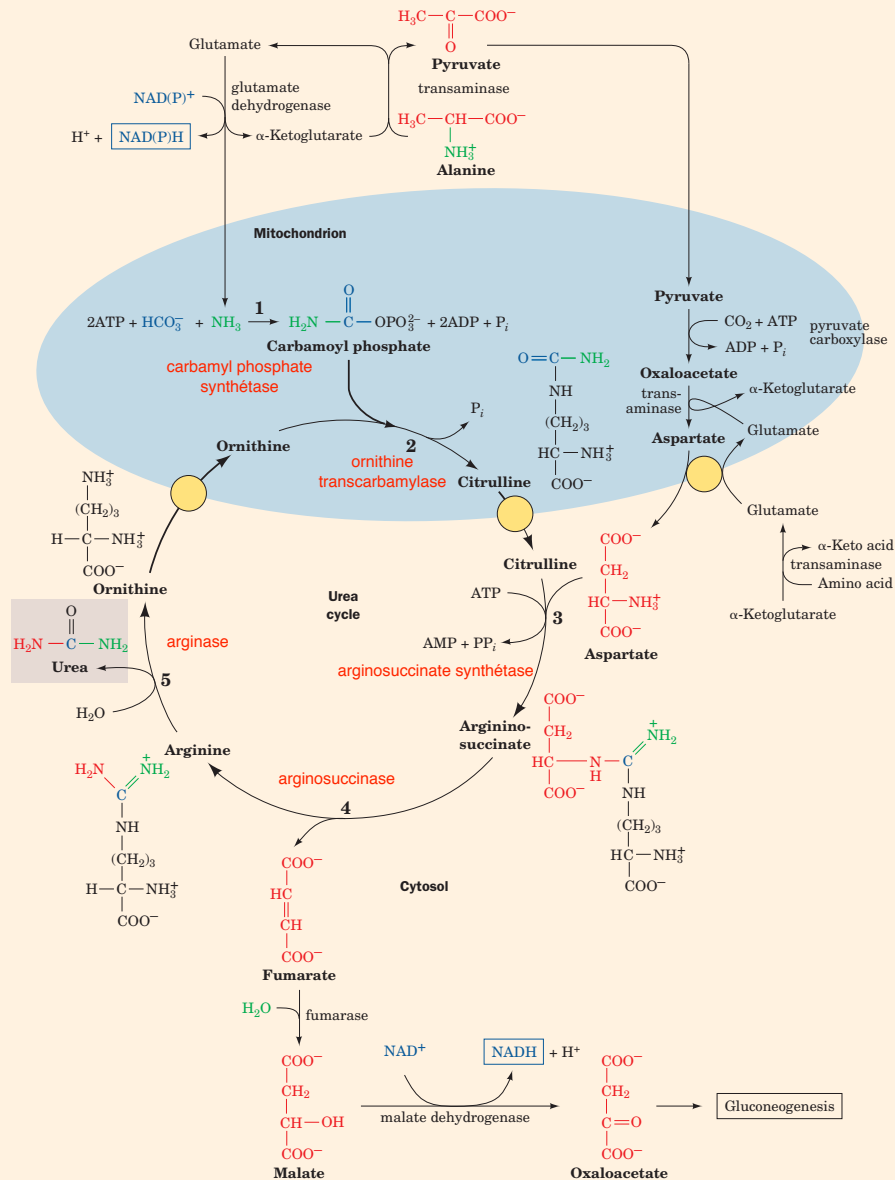
Réaliser un schéma bilan sur les voies de dégradation spécifique des sucres et des lipides en détaillant la voie de la glycolyse et de la *beta*-oxydation et en réalisant le bilan énergétique de chaque voie.

USEFULL FACT : L'ÉLIMINATION DE L'AZOTE UN DÉFI EN MILIEU TERRESTRE ET AÉRIEN

L'azote doit pouvoir être éliminé par l'organisme. L'ammoniac est une espèce chimique toxique et a besoin de beaucoup d'eau pour être éliminé. Chez les animaux, l'élimination de l'azote varie selon l'environnement dans lequel évolue l'espèce :

- **Espèces ammoniotéliques** : se sont des espèces aquatiques qui ne risquent pas de grosses pertes en eau. Dans ce cas, l'ammoniac est éliminé directement dans de grandes quantité d'eau
- **Espèces uricotéliques** : se sont des espèces du milieu terrestre et aérien qui rencontrent une problématique de conservation de l'eau. Elles ne peuvent donc pas diluer les produits azotés dans de trop grandes quantité d'eau. Elles synthétisent de l'acide urique.
- **Espèces uréotéliques** : se sont des espèces du milieu terrestre et aérien qui rencontrent une problématique de conservation de l'eau. Elles ne peuvent donc pas diluer les produits azotés dans de trop grandes quantité d'eau. Elles synthétisent de l'urée.

Le cycle de l'urée est qui permet l'élimination de l'azote est présenté ci-dessous.



II. Chimioorganotrophie : Obtention d'énergie par des voies communes à tous les nutriments par couplage chimique et couplage chimio-osmotique

A. Transport des molécules dans la mitochondrie

Suite aux réactions dans le cytosol, certaines molécules doivent rejoindre la mitochondrie pour compléter leur oxydation. D'autres molécules doivent sortir de la mitochondrie comme l'ATP par exemple. Nous avons vu précédemment que la traversée de la membrane externe se fait essentiellement via une porine. Beaucoup de molécules traversent la membrane interne via des systèmes d'antiports ou de symports qui utilisent l'énergie du gradient de proton (2.9).

A travers l'exemple de l'entrée des acides gras, nous avons vu que le transport peut être complexe afin de maintenir des pool de Co-enzyme A séparés entre la mitochondrie et le cycle de Krebs. C'est le cas également pour les co-enzymes NADH. La molécule en elle-même n'est pas transportée. C'est une suite de réactions d'oxydo-réduction et le transport d'intermédiaires métaboliques qui permettent à partir d'un NADH du cytosol de réduire un NAD⁺ de la mitochondrie ou un FAD (2.9).

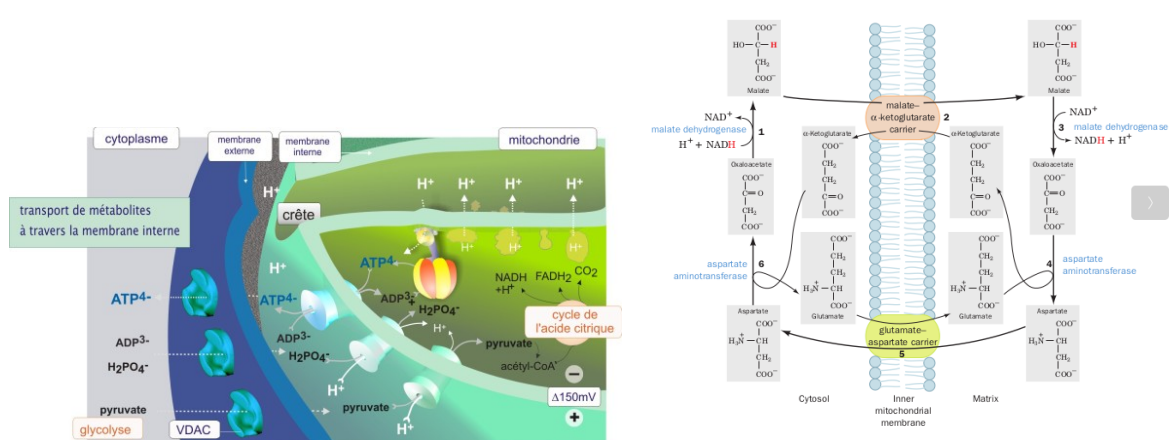


FIGURE 2.9 – Transport des molécules vers la mitochondrie [5] [4]

B. Le cycle de Krebs permet de terminer l'oxydation et de fournir du pouvoir réducteur

Le cycle de l'acide citrique encore appelé cycle de Krebs est une suite de réactions qui oxydent le groupe acétyl de l'acétyl-coA en deux molécules de CO_2 selon un processus permettant de récupérer l'énergie libre disponible sous la forme de trois NADH, un GTP et un $FADH_2$. Il est composé de 10 réactions assurées par 8 enzymes [5] :

- La première réaction est la condensation de l'acétyl-CoA et de l'oxaloacétate par la citrate synthase : bilan carbones : $2C + 4C \rightarrow 6C$
- Les deux réactions suivantes sont assurées par l'aconitase. Elles permettent de transformer le

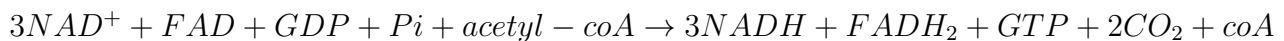
citrate, un alcool tertiaire, en un isomère plus facile à oxyder : l'isocitrate, un alcool secondaire.

- La réaction suivante, assurée par l'isocitrate déshydrogénase permet une décarboxylation oxydative c'est-à-dire l'oxydation du substrat et la perte d'un CO_2 . Cela est réalisé en deux étapes par l'enzyme : d'abord le substrat est oxydé en oxalosuccinate et l'énergie libre est récupérée sous la forme d'un NADH (couplage) puis l'oxalosuccinate est décarboxylé en α -cétoglutarate.
- Ensuite, vient la décarboxylation oxydative par l' α -cétoglutarate deshydrogénase qui transforme l' α -cétoglutarate en une molécule plus oxydée le succinyl-coA avec perte d'un CO_2 et production d'un NADH de façon à récupérer l'énergie libre de l'oxydation sous forme de pouvoir réducteur.

A ce stade la première partie du cycle est terminée : on peut considérer que l'oxydation de l'acétyl-coA est terminée. Il est intéressant de noter que les deux carbones perdus ne sont pas ceux de l'acétyl-coA qui vient d'entrer dans le cycle. Les deux carbones perdus appartenait à l'oxaloacétate. La fin du cycle va consister à régénérer l'oxaloacétate [5].

- La succinyl-coA-synthétase va transformer le succinyl-coA en succinate. L'énergie de la liaison thio-ester est conservée par la synthèse d'un GTP (liaison phosphodiester).
- La succinate déshydrogénase catalyse l'oxydation de la simple liaison centrale en double liaison et, si cette oxydation ne libère pas suffisamment d'énergie pour réduire un NAD^+ , elle permet néanmoins de réduire un FAD en $FADH_2$.
- La fumarase catalyse une hydratation de la double liaison pour former du malate
- Enfin, la Malate Deshydrogénase oxyde l'alcool secondaire du malate en cétone pour former l'oxaloacétate. Cette oxydation est couplée à la réduction d'un NAD^+ en NADH.

a. bilan du cycle de krebs

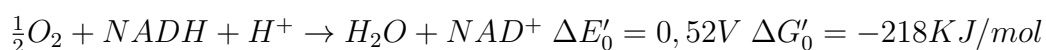
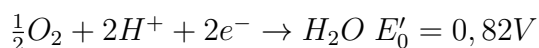


LE CYCLE DE L'ACIDE CITRIQUE FONCTIONNE DE FAÇON CATALYTIQUE CAR L'OXALOACÉTATE EST RÉGÉNÉRÉ EN FIN DE CYCLE (TOUT COMME UN ENZYME EST RÉGÉNÉRÉ EN FIN DE RÉACTION). UN NOMBRE INFINI DE GROUPES ACÉTYLS PEUVENT DONC ÊTRE OXYDÉS PAR UNE SEULE MOLÉCULE D'OXALOACÉTATE [5].

C. Respiration aérobie

1 Comment peut-on transporter des électrons ?

Le phénomène à l'origine de cette chaîne respiratoire est le transfert des électrons du NADH vers l'oxygène moléculaire à travers une chaîne de transfert d'électrons. Cette chaîne se compose de couples redox dont les potentiels sont intermédiaires entre les potentiels des deux demi-réactions redox :



Chaque étape permet de stocker de l'énergie de cette réaction redox favorable plutôt que de dissiper l'énergie sous forme de chaleur comme dans le cas de la réaction de formation d'eau à partir

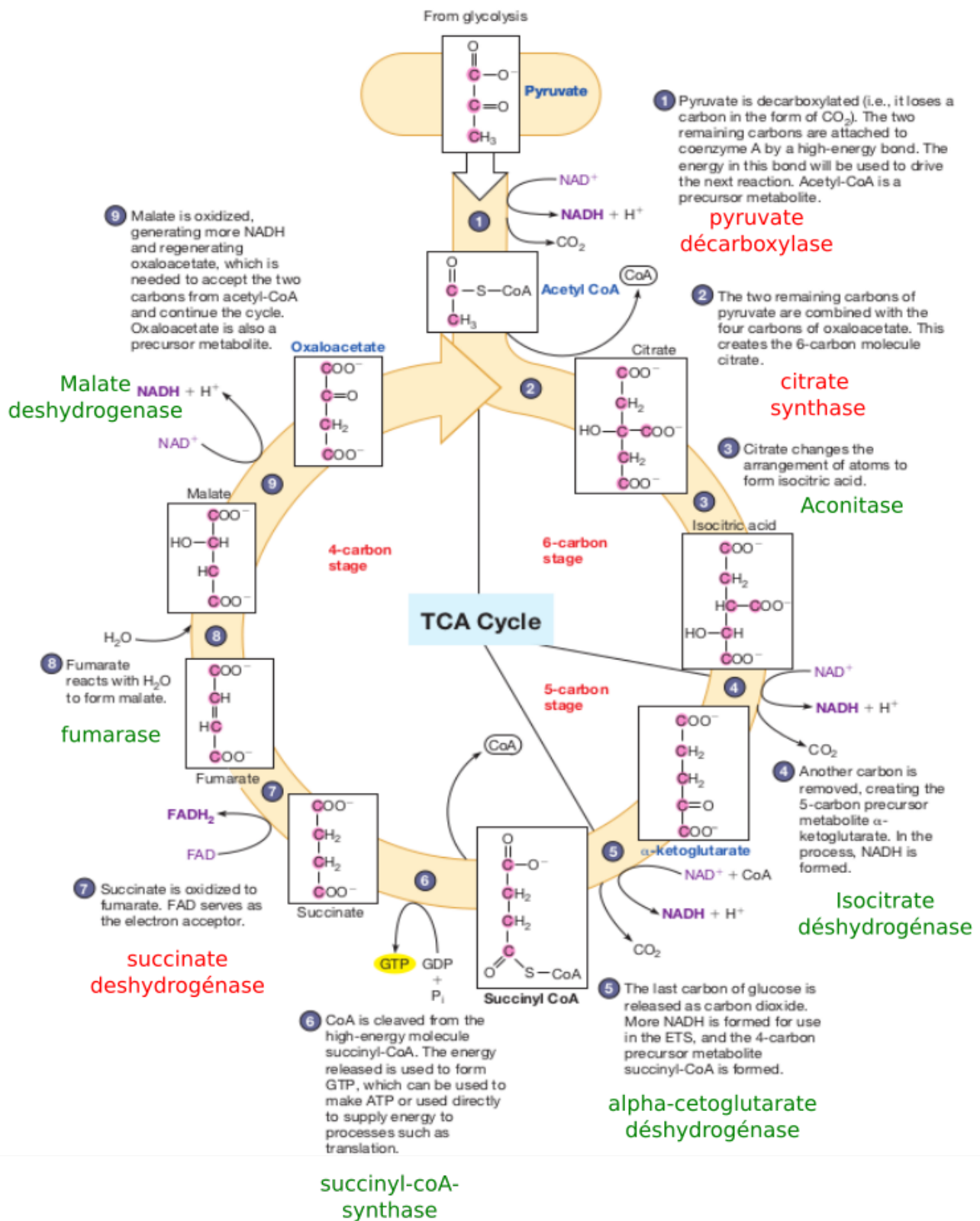


FIGURE 2.10 – Cycle de Krebs [6]

d'hydrogène et d'oxygène par combustion (figure 2.11). Bien que la chimie générale dicte pour cette réaction un transfert d'hydrogène vers l'oxygène, la chaîne respiratoire présente pour originalité de séparer en un transfert d'un électron et d'un ion H^+ . Cela est possible car l'atome d'hydrogène peut être facilement séparer en proton et électron. L'électron peut ensuite être transféré

vers une molécule qui n'accepte que les électrons, alors que le proton reste en solution aqueuse. Par le même raisonnement, si un électron seul est transféré à une molécule ayant une forte affinité pour l'hydrogène alors un atome d'hydrogène sera automatiquement capté par cette molécule [5].

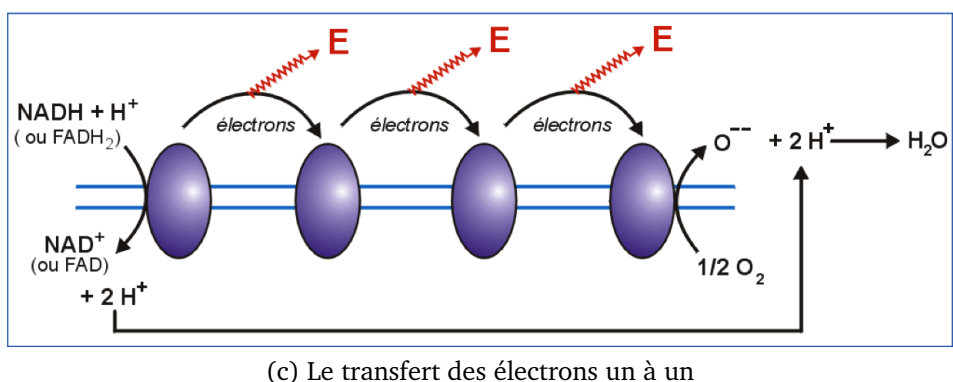
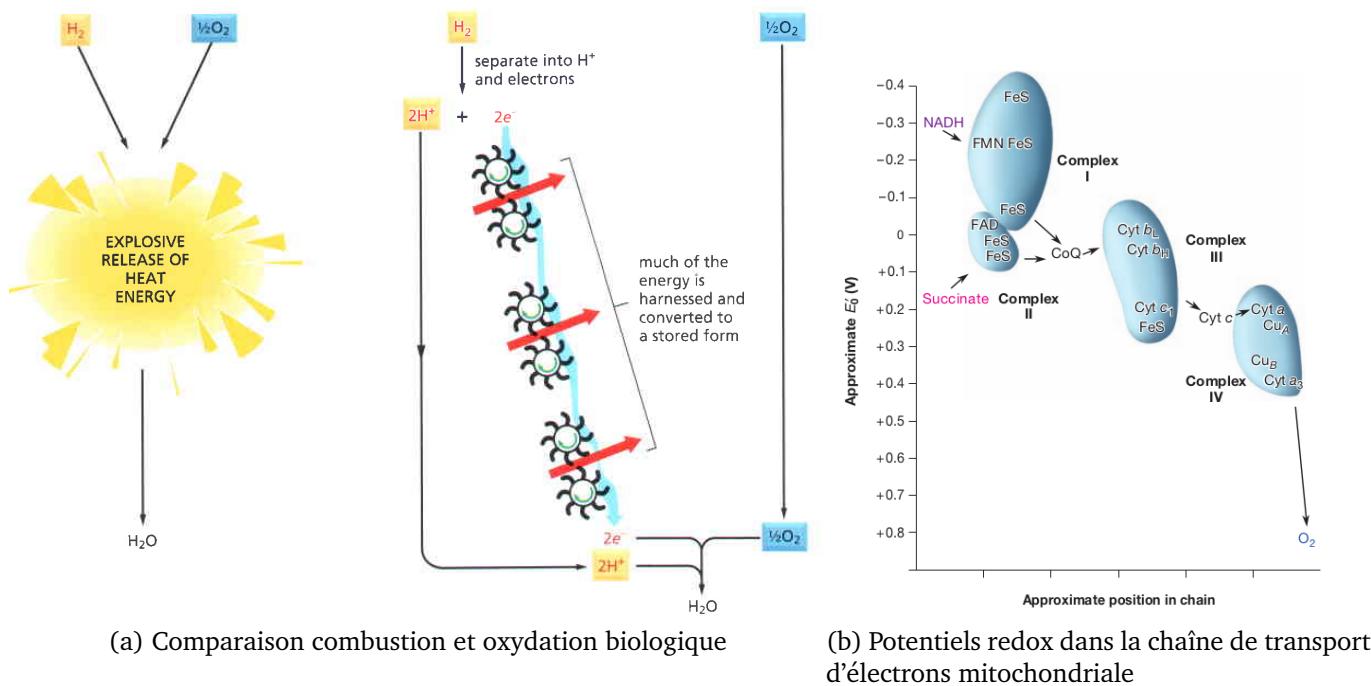


FIGURE 2.11 – Principe de la chaîne de transfert d'électrons [1]

Les électrons peuvent ainsi être transférés aux transporteurs d'électrons de la chaîne. A chaque étape, ils tombent à un niveau d'énergie inférieur jusqu'à ce qu'ils atteignent l'accepteur final : O_2 . Cet oxygène prélève quatre électrons sur la chaîne de transport et quatre protons dans la solution aqueuse pour former deux molécules d'eau [5].

La chaîne respiratoire eucaryote mitochondriale est composée de quatre complexes protéiques et deux petites molécules : un cytochrome c et un coenzyme Q selon la séquence suivante [5] :

- un complexe qui reçoit les électrons et les transfère au co-enzyme Q
 - Le complexe I (NADH-Coenzyme Q réductase) : Il fixe le NADH et les électrons sont transférés dans ses différents centres redox jusqu'au co-enzyme Q.
 - Le complexe II (Succinate-Coenzyme Q réductase) : c'est l'enzyme appelée succinate déshydrogénase dans le cycle de krebs. Elle transfère les électrons du succinate vers un FAD puis vers ses autres centres redox jusqu'au co-enzyme Q.

- Le co-enzyme Q est une molécule mobile dans la membrane de nature lipidique qui est réduite sous forme de co-enzyme QH_2 par les complexes I et II. Il transfère les électrons recueillis au complexe III.
- Le complexe III (Coenzyme-Q Cytochrome c réductase ou complexe bc1) récupère les électrons du co-enzyme Q pour les transférer au cytochrome b
- Le cytochrome b est une molécule mobile qui transfère les électrons du complexe III au complexe IV.
- le complexe IV (Cytochrome c Oxydase) possède des centres redox spécifiques qui permettent d'accumuler 4 électrons afin de les transférer à un oxygène moléculaire.

En comparaison, la chaîne respiratoire bactérienne semble plus simple. Elle est située dans la membrane plasmique. Cette chaîne ne contient que deux complexes : le complexe qui accepte les électrons du NADH et les transfère au co-enzyme Q suivi d'un complexe qui transfère les électrons du co-enzyme Q vers l'oxygène moléculaire. Une des particulière d'*E.coli* est d'avoir une chaîne respiratoire "à choix". Dans de faibles conditions d'aération ou en phase stationnaire, elle n'utilise pas le même complexe final qu'en phase de forte aération ou en phase exponentielle [6].

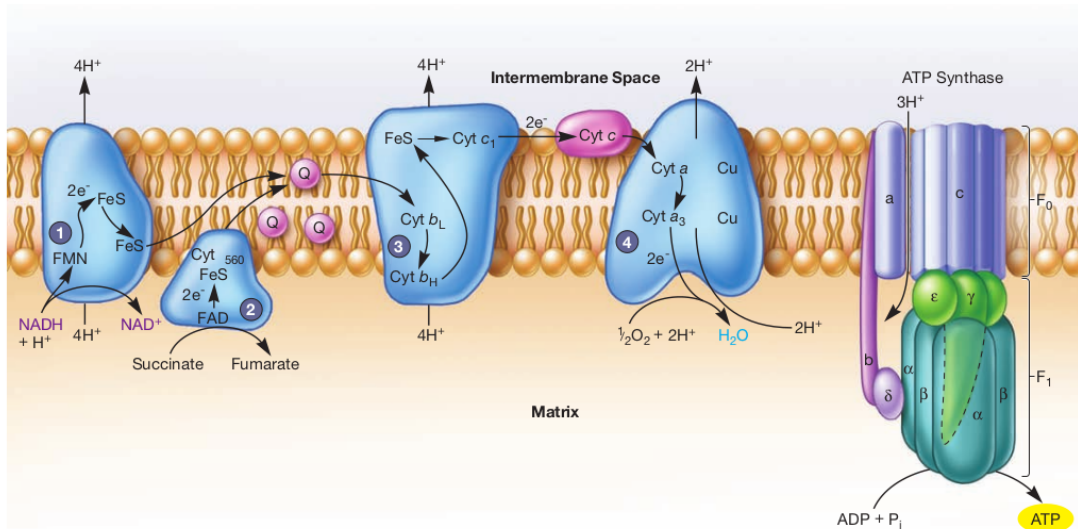
2 Conversion réactions redox en gradient H+

L'énergie du transfert d'électron doit être stockée afin d'être utilisable par la cellule. La chaîne de transfert d'électron est membranaire et cette propriété permet de stocker l'énergie sous forme de gradient électrochimique c'est à dire en accumulant une molécule d'un côté de la membrane. Chez les procaryotes, la membrane considérée est la membrane plasmique qui donne sur deux espaces : l'espace périplasmique et le cytoplasme. Dans ce cas, le transfert des électrons entraîne l'accumulation de protons du côté périplasmique. Chez les eucaryotes, la membrane est la membrane interne mitochondriale qui donne sur deux espaces : l'espace intermembranaire et la matrice. Dans ce cas, le transfert des électrons entraîne l'accumulation de protons dans l'espace intermembranaire [6].

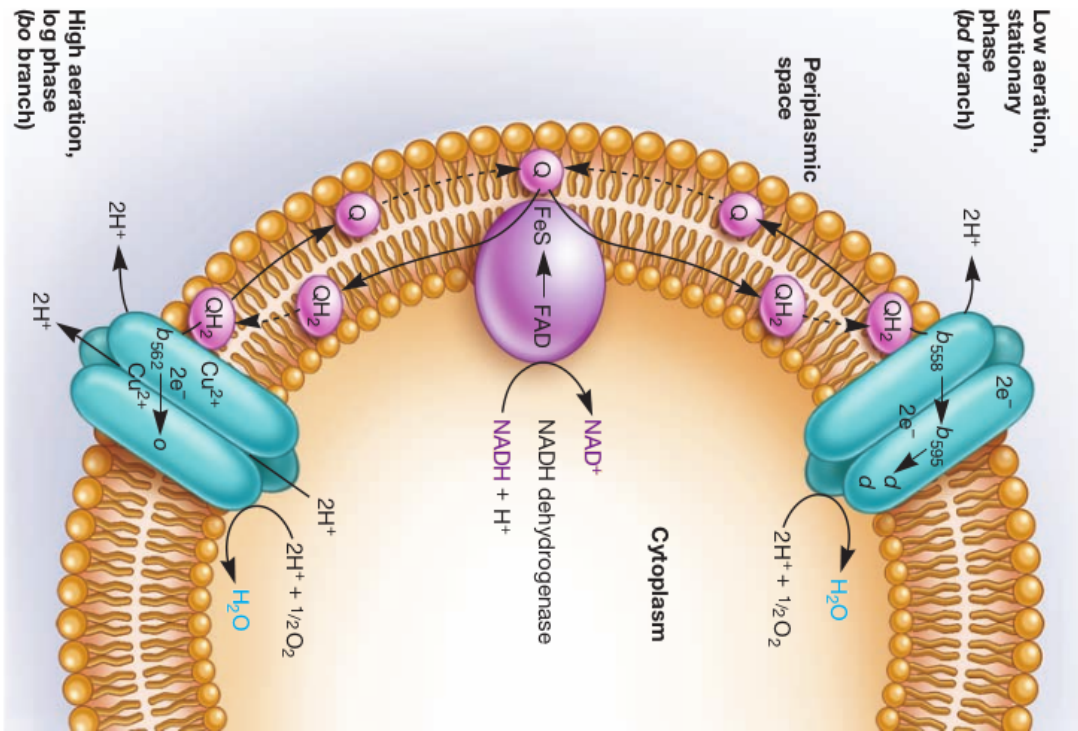
Le transfert de protons se fait par deux phénomènes chimiques bien distincts [5] :

- **le transfert des électrons entraîne un changement de conformation** du complexe et l'ouverture d'un canal à proton qui permet le passage forcé des protons. C'est le cas des complexes I et IV de la chaîne mitochondriale qui transfèrent respectivement 4 et 2 protons ainsi que le cas du complexe terminal "forte aération" de la chaîne de *E.coli* pour deux protons.
- **le transfert des électrons est dû à l'alternance entre des couples redox qui ne prennent en charge que des électrons et ceux qui prennent en charge électrons et protons.** C'est ce qui se passe au niveau du co-enzyme Q quand il transfère ses électrons au complexe III de la chaîne mitochondriale ou au complexe terminal de *E.coli*. Les protons sont prélevés de côté matrice ou cytoplasmique lors de la réduction du co-enzyme Q puis relargué côté périplasmique ou intermembranaire lors de l'oxydation du coenzyme Q. Dans la mitochondrie, une astuce assez complexe au niveau du complexe III permet de transférer 4 protons pour un seul coenzyme Q oxydé (C'est le cycle Q).

Enfin, pour la chaîne mitochondriale, nous avons 10 protons transférés par NADH et 6 protons transférés par FADH₂. Pour la chaîne d'*E.coli*, nous avons 2 protons transférés en faible aération pour un NADH et 4 protons en forte aération. Cette comparaison montre qu'en multipliant les intermédiaires redox et en complexifiant la chaîne, il y a un stockage d'énergie plus important.



(a) La chaîne de transport d'électrons mitochondriale



(b) La chaîne de transport d'électrons de *E.coli*

FIGURE 2.12 – Comparaison des chaînes respiratoires mitochondriales eucaryotes et de la chaîne respiratoire de la bactérie *E.coli*. [6]

3 Conversion énergie du gradient de H⁺ en ATP

La gradient de proton formé est utilisé comme sources d'énergie par plusieurs systèmes (transport des protéines, transport des nutriments par exemple) mais ici nous allons nous concentrer sur l'utilisation pour la synthèse d'ATP. L'ATP synthase est une protéine transmembranaire qui dissipe le gradient de proton en transportant ceux ci de l'espace intermembranaire ou périplasmique vers l'espace matricielle ou cytoplasmique. Le transport de trois protons fournit l'énergie nécessaire pour la synthèse d'un ATP (2.12).

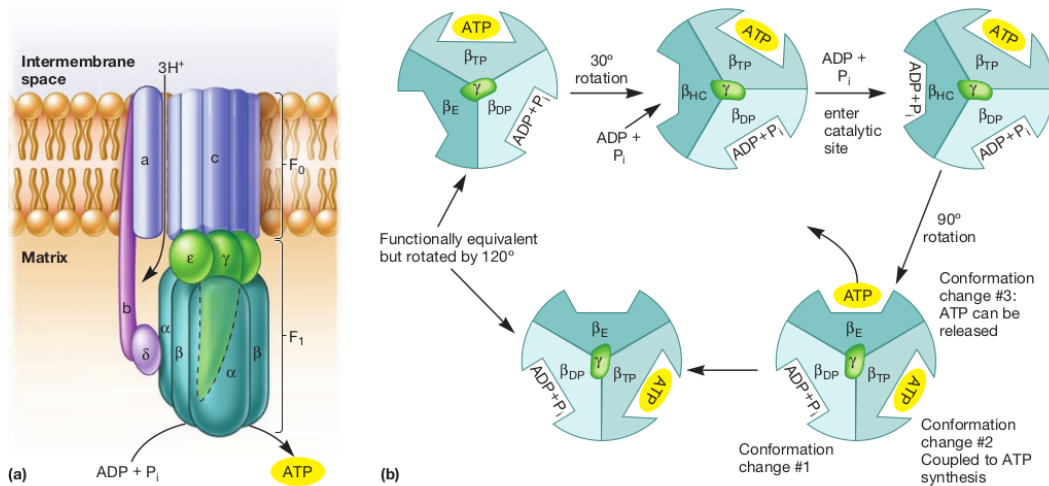


FIGURE 2.13 – ATP synthase mitochondriale a. Structure b. fonctionnement du couplage [6]

La force protonomotrice est exploitée par l'ATP synthase pour synthétiser de l'ATP. Cette protéine possède différentes appellations : proton-translocating ATP synthase, F1-F0 ATPase, complexe V et F-type H^+ ATPase.

Structure :

L'ATP synthase (figure 2.14) est la structure la plus complexe de la membrane interne mitochondriale : elle présente deux structures et différentes sous-unités. Les images de microscopie électronique montrent une molécule en forme de champignon qui garnit la face interne (matricielle/cytoplasmique) de la membrane. Elle est formée de deux sous unités fonctionnelles : F_0 et F_1 et un pied [5].

F_0 (50 Angström de hauteur) est une protéine insoluble dans l'eau, transmembranaire, composée de 10 à 15 sous-unités différentes selon les espèces avec un canal pour le transport des protons. La sous-unité F_0 de *E.coli* contient trois types de sous-unités transmembranaires a, b et c avec la stoechiométrie : $a_1b_2c_{12}$. Dans la mitochondrie, des sous-unités supplémentaires sont identifiables comme d, F6 et OSCP [5].

F_1 (400 kDa, 100 Angström de hauteur et de largeur) est une protéine membranaire périphérique soluble dans l'eau, composée de 5 types de sous-unités (3 sous-unités α , 3 sous-unités β , 1 γ 1 δ 1 ϵ). La tête de F_1 est formée de l'alternance des sous-unités α et β (553 et 528 résidus). Même si la structure de l'arrangement des sous-unités α et β suggèrent une symétrie autour d'un axe central, en réalité toutes les sous-unités ne portent pas le même nucléotides : α_{TP} et β_{TP} portent un ATP ; α_{DP} et β_{DP} portent un ADP ; α_E et β_E ne portent rien [5].

Mécanisme :

M. Boyer a suggéré que le changement de conformation des sites était dû à la rotation de l'anneau $\alpha_3\beta_3$ par rapport aux autres sous-unités de F_1 . Cette protéine serait formée par un système rotor (formé par l'anneau transmembranaire c de F_0 et les sous-unités associées γ et ϵ) stator (formé par $\alpha_3\beta_3$ et les protéines accessoires restantes). Le bras périphérique semblerait avoir pour rôle de maintenir $\alpha_3\beta_3$ pendant que la sous-unité γ tourne à l'intérieur. Cela a été montré par une expérience astucieuse de Masamitsu Futai qui a utilisé des techniques développées par Kazuhiko Kinosita Jr. et Masasuke Yoshida. La F_0 - F_1 ATPase est fixée tête en bas à un support grâce à des queues histidine qui ont une très forte affinité pour le nickel. Une queue d'actine fluorescente est

associée à l'anneau c de F0 et le déplacement de la queue d'actine est mesurée. La rotation se fait dans le sens des aiguilles d'une montre ce qui permet à la sous-unité γ d'interagir de la forme O vers L puis vers T. Il a pu être montré également que cette protéine pouvait fonctionner dans les deux sens [5].

L'énergie de rotation est fournie par les protons : le premier proton entre dans une cavité de la sous-unité a de F0 de façon à remplir le premier site des sous-unité c, ceci déclenche une rotation d'une sous-unité. Le second proton remplit la sous-unité suivante : et ce jusqu'à ce que le premier proton atteigne un autre canal de a qui l'éjecte vers l'extérieur. Une rotation complète nécessite 12 protons (12 sous-unités c chez *E.coli*), Chaque rotation complète permet de former trois ATP (chaque couple $\alpha \beta$ change de conformation pour un tiers de rotation). On fabrique donc un ATP pour quatre protons. Ce ratio dépend des espèces et du nombre de sous-unités c [5].

4 Bilan énergétique

Bilan chaîne respiratoire : Il faut trois protons pour faire un ATP. Un NADH permet de transporter $10H^+$ donc de synthétiser 3 ATP. Un $FADH_2$ permet de ne synthétiser que 2 ATP.

Bilan du cycle de Krebs + chaîne respiratoire : un pyruvate permet 4 NADH donc 12 ATP ; un $FADH_2$ donc deux ATPs et un GTP convertible en un ATP. Un pyruvate permet donc de synthétiser 15 ATP.

Bilan de la glycolyse + du cycle de Krebs + de la chaîne respiratoire : La glycolyse synthétise à partir d'un glucose : deux ATP, deux NADH donc 6 ATP, deux pyruvates donc 30 ATP.

Un glucose permet la synthèse de 38 ATP.

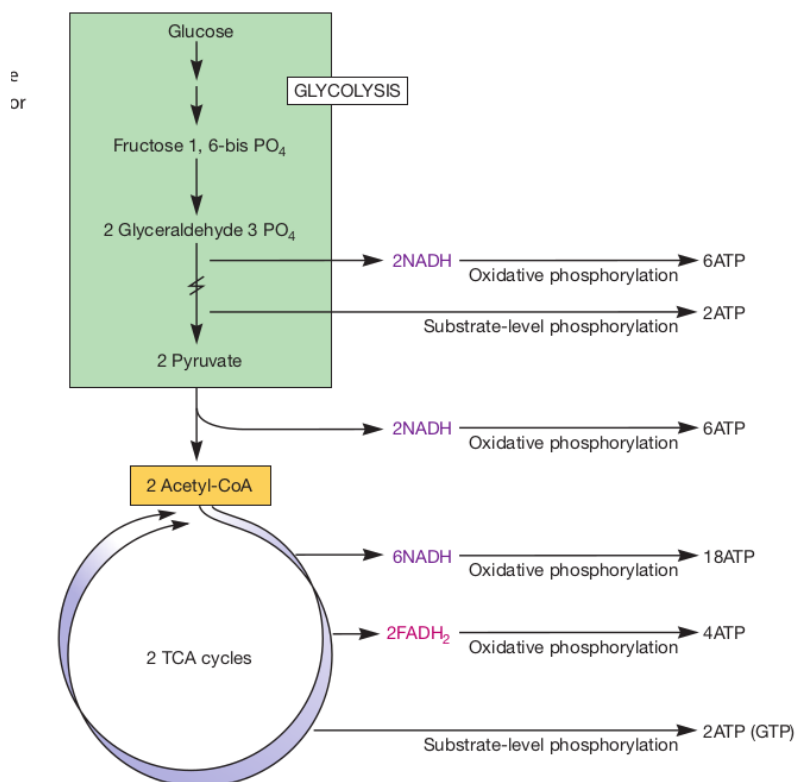


FIGURE 2.14 – Bilan maximal de la respiration aérobie [6]

Schéma bilan 2 : Voies mitochondriales communes

Réaliser un schéma bilan sur les voies mitochondriales et leurs bilan énergétiques en détaillant le cycle de krebs et la respiration cellulaire chez les eucaryotes.

D. Respiration anaérobie

La respiration anaérobie a lieu chez de nombreuses bactéries et archaé qui possèdent des chaînes respiratoires dont l'accepteur final n'est pas la molécule de di-oxygène mais une autre molécule inorganique (figure 2.15). Les accepteurs sont aussi variés que la composition des écosystème anaérobies. Certaines espèces possèdent même les deux types de chaînes et les utilisent selon la disponibilité en accepteur final d'électron dans le milieu . Sur le principe, le métabolisme fonctionne de façon équivalente : le transfert d'électrons entraîne un transfert de protons et le gradient de proton permet la synthèse d'ATP [6] .

Table 9.1	Some Electron Acceptors Used in Respiration		
	Electron Acceptor	Reduced Products	Examples of Microorganisms
Aerobic	O ₂	H ₂ O	All aerobic bacteria, fungi, and protists
Anaerobic	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻	Enteric bacteria
	NO ₃ ⁻	NO ₂ ⁻ , N ₂ O, N ₂	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , and <i>Paracoccus</i>
	SO ₄ ²⁻	H ₂ S	<i>Desulfovibrio</i> and <i>Desulfotomaculum</i>
	CO ₂	CH ₄	All methanogens and acetogens
	S ⁰	H ₂ S	<i>Desulfuromonas</i> and <i>Thermoproteus</i>
	Fe ³⁺	Fe ²⁺	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i> , and <i>Geobacter</i>
	HAsO ₄ ²⁻	HAsO ₂	<i>Bacillus</i> , <i>Desulfotomaculum</i> , <i>Sulfurospirillum</i>
	SeO ₄ ²⁻	Se, HSeO ₃ ⁻	<i>Aeromonas</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Thauera</i>
	Fumarate	Succinate	<i>Wolinella</i>

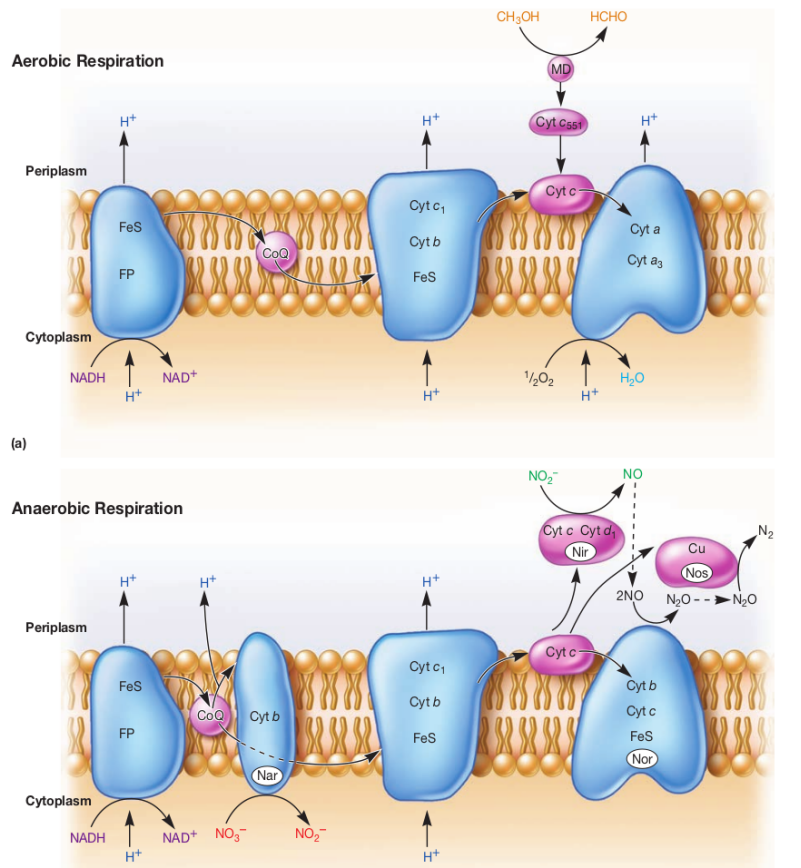


FIGURE 2.15 – La respiration anaérobie [6]

Chez *Paracoccus dénitrificans*, la respiration peut être aérobie ou anaérobie. La chaîne de respiration des nitrates (figure 2.15) est une chaîne très complexe. Les électrons transférés peuvent permettre la réduction du nitrate en nitrite mais aussi des nitrites en monoxyde d'azote puis en azote atmosphérique. Cela dépend du complexe qui prend en charge les électrons. Ces bactéries sont très exploitées dans l'assainissement des eaux usées chargées en nitrates [6] .

Toutes ces respirations anaérobies participent aux cycles géochimiques des éléments vus au chapitre 1.

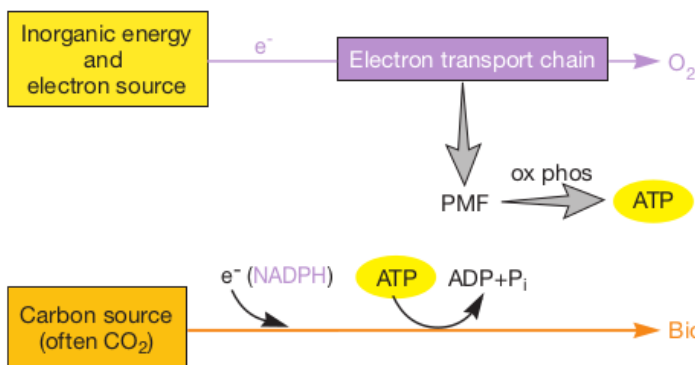
Schéma bilan 3 : Respiration aérobie versus respiration anaérobie

Réaliser un schéma bilan comparant les voies respiratoires aérobie et anaérobies

III. La chimiolithotrophie

A. Principe et diversité

La chimiolithotrophie est un trophisme retrouvé chez les bactéries et les *archae*. Les chimiolithotrophes alimentent une chaîne de transport redox avec des électrons obtenus depuis une molécule inorganique (le donneur) jusqu'à une autre molécules inorganique (l'accepteur) avec un potentiel redox plus élevé. Ce transfert l'électron permet de créer un gradient de proton qui fournit l'énergie nécessaire à l'ATP synthase pour synthétiser de l'ATP. Le transfert l'électron peut permettre aussi de fabriquer des molécules à fort potentiel redox comme le NADPH. L'ATP et le potentiel réducteur permettent la synthèse de molécule organiques le plus souvent à partir de CO_2 (figure 2.16). Les donneurs d'électrons peuvent être le plus couramment l'hydrogène, les composés azotés réduits, les composés soufrés réduits ou les ions ferreux (Fe^{2+}). Le plus souvent l'accepteur d'électron et l'oxygène mais cela peut être aussi les sulfates ou les nitrates (figure 2.16) [6].



(a) Vue générale de la chimiolithotrophies

Reaction	ΔG° (kcal/mole) ^a
$H_2 + 1/2 O_2 \longrightarrow H_2O$	-56.6
$NO_2^- + 1/2 O_2 \longrightarrow NO_3^-$	-17.4
$NH_4^+ + 1 1/2 O_2 \longrightarrow NO_2^- + H_2O + 2H^+$	-65.0
$S^0 + 1 1/2 O_2 + H_2O \longrightarrow H_2SO_4$	-118.5
$S_2O_3^{2-} + 2O_2 + H_2O \longrightarrow 2SO_4^{2-} + 2H^+$	-223.7
$2Fe^{2+} + 2H^+ + 1/2 O_2 \longrightarrow 2Fe^{3+} + H_2O$	-11.2

^aThe ΔG° for complete oxidation of glucose to CO_2 is -686 kcal/mole. A kcal is equivalent to 4.184kJ.

(b) Énergie transfert d'électrons

Bacteria	Electron Donor	Electron Acceptor	Products
<i>Alcaligenes, Hydrogenophaga, and Pseudomonas spp.</i>	H_2	O_2	H_2O
<i>Nitrobacter</i>	NO_2^-	O_2	NO_3^-, H_2O
<i>Nitrosomonas</i>	NH_4^+	O_2	NO_2^-, H_2O
<i>Thiobacillus denitrificans</i>	S^0, H_2S	NO_3^-	SO_4^{2-}, N_2
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	Fe^{2+}, S^0, H_2S	O_2	Fe^{3+}, H_2O, H_2SO_4

(c) Exemples de chimiolithotrophes

FIGURE 2.16 – Principe de la chimiolithotrophie et diversité des couples redox[6]

L'oxydation des molécules inorganiques produit assez peu d'énergie car la différence de potentiel redox entre les donneurs d'électrons et les accepteurs d'électrons de la chaîne sont assez faibles (figure 2.16). Les chimiolithotrophes doivent donc oxyder de grandes quantités de matériel inorganique pour croître. Ceci est particulièrement vrai pour les chimiolithotrophes autotrophes pour le carbone. Pour chaque CO_2 fixé, il faut dépenser un ATP et deux $NADPH$. Du fait des forts besoins d'oxydation, ils ont un fort impact écologique [6].

Les espèces qui sont chimiolitho-hétérotrophes sont appelées mixotrophes.

B. L'oxydation de l'hydrogène

Le dihydrogène est une source d'énergie efficace pour la survie au long terme [2] :

- H_2 est présent dans tous les environnements et ceux même au travers des temps géologiques
- H_2 est une excellente source d'énergie et d'électron. Son potentiel redox standard (-414mV), il peut être utilisé pour réduire tous les accepteurs d'électrons et la réduction de l'oxygène ($H_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$) apporte une bonne quantité d'énergie (-276 KJ/mol)
- la consommation d' H_2 nécessite très peu de ressources cellulaires car c'est un gaz ; pas de transporteurs.

Les espèces capables d'oxyder H_2 possèdent une hydrogénase qui peut soit transférer les électrons à une chaîne de transport d'électron soit à un NADH. Le NADH peut lui même être le donneur d'électron d'une chaîne. Ces chaînes peuvent avoir comme accepteur d'électron : l'oxygène moléculaire, le Fe^{3+} , le soufre ou encore le monoxyde de carbone. Souvent ces micro-organismes utilisent l'oxydation des molécules organiques comme sources d'énergie comme les nutriments sont disponibles puis basculent selon les conditions sur l'utilisation de l'hydrogène. L'expression de l'hydrogénase permet une bascule rapide (figure2.17) [2].

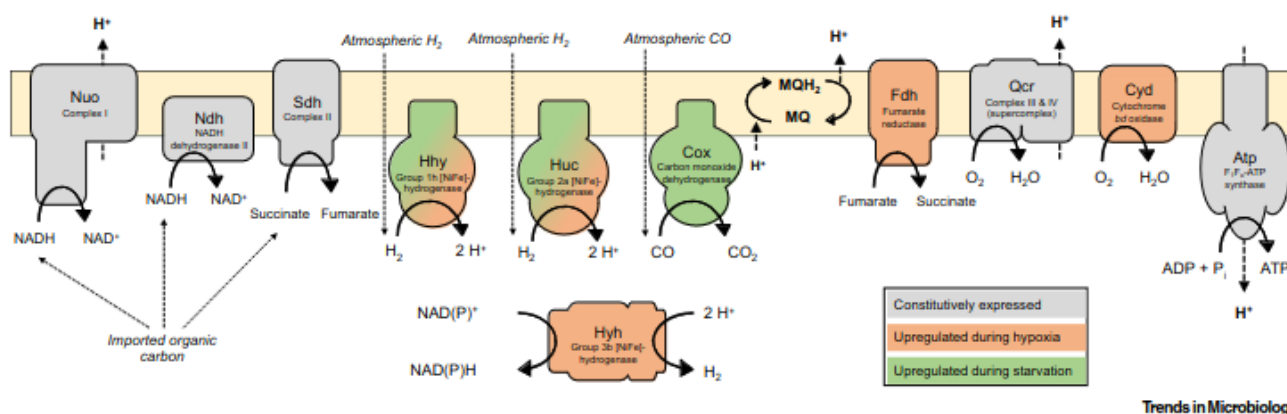


FIGURE 2.17 – **Modélage de la chaîne respiratoire d'une bactérie aérobique pour l'utilisation de l'hydrogène moléculaire.** La figure montre comment *Mycrobacterium smegmatis* change son métabolisme pour survivre en utilisant des sources d'électron organiques et inorganiques. Cette bactérie change également son type de métabolisme en passant de la respiration aérobique (incluant la respiration du H_2) vers la respiration du fumarate et la fermentation (qui produit du H_2) pendant l'hypoxie [2]

C. L'oxydation des composés azotés

Certaines bactéries utilisent les composés azotés comme source d'électron. Les plus étudiées sont des bactéries du sol et de l'eau responsables de la nitrification ($NH_4 \rightarrow NO_3^-$). La nitrification est un processus en deux étapes qui implique deux genres différents :

- L'ammonium est oxydé en nitrite par les *Nitrosomonas* : $NH_4^+ + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow NO_2^- + H_2O + 2H^+$
- Les nitrites sont oxydés en nitrate par le genre *Nitrobacter* : $NO_2^- + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow NO_3^-$.

Une chaîne de transport des électrons permet de coupler les réactions rédox au transport de protons. Dans la chaîne de transports de protons de *Nitrobacter*, les électrons sont pris en charge dans la nitrite oxydase puis transférés au cytochrome C puis à la cytochrome aa3 oxydase qui transfère les électrons à l'oxygène moléculaire entraînant le transport de deux protons (figure 2.18). Les protons transportés sont pris en charge par l'ATP synthase. Comme il faut trois protons, pour synthétiser un ATP alors l'oxydation de 6 nitrates permettent la synthèse de 4 ATP [6].

La synthèse de pouvoir réducteur, nécessaire aux réactions de biosynthèse, ne semble pas pouvoir être obtenue par ces chaînes car les potentiels redox des couples azotés sont supérieurs au potentiel redox des couples $NADH/NAD^+$ et $NADPH/NADP^+$. En effet, les électrons se déplacent du couple avec le potentiel le plus faible vers le couple au potentiel redox le plus élevé. Les chimiolithotrophes qui utilisent les composés soufrés ont le même problème. Les deux types de micro-organismes ont résolu ce problème en réalisant un flux d'électron inverse qui remonte la chaîne de transport d'électrons. Dans ce cas le gradient de proton est utilisé pour permettre le transport des électrons dans le sens inverse et ainsi réduire les $NAD^+/NADP^+$ (figure 2.18). La production d'ATP et de pouvoir réducteur est assez inefficace mais le peu de compétition permet à ces espèces de se multiplier [6].

Vous pourrez noter qu'il n'y a pas d'exclusivité d'utilisation du $NADH/NADPH$ dans les voies de biosynthèse chez les chimiolithotrophes. Vous remarquerez également que les complexes de l'ensemble de la chaîne sont très proches de la chaîne respiratoire aérobie.

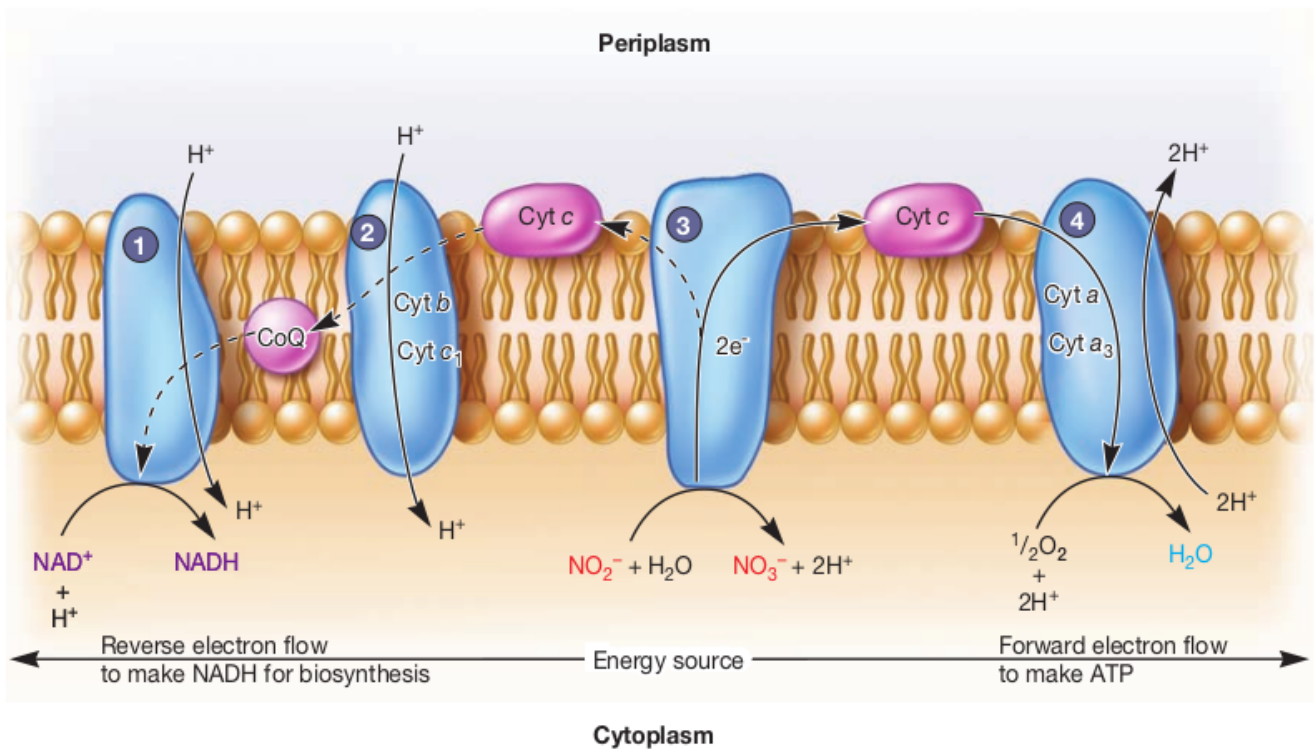


FIGURE 2.18 – **Les flux d'électrons chez *Nitrobacter*** Nitrobacter oxide les nitrites et réalise un transport d'électron normal pour générer une force protonmotrice permettant la synthèse d'ATP (à droite). Certains protons sont également utilisés pour forcé le flux d'électron dans le sens inverse du gradient redox vers le $NAD^+/NADP^+$ (gauche). Cytochrome C et 4 complexes impliqués : NADH-ubiquinone réductase (1) ubiquinol-cytochrome c réductase (2), nitrite oxydase (3) et cytochrome aa₃ oxidase (4)[6]

D. L'oxydation des composés soufrés

Le troisième groupe majeur de chimiolithotrophes sont les bactéries qui oxydent les composés soufrés. L'exemple le plus étudié est le métabolisme de *Thiobacillus* qui oxyde le soufre (S^0), le H_2S et le thiosulfate ($S_2O_3^{2-}$) et d'autres composés comme l'acide sulfurique. L'ATP est généré à la fois par phosphorylation oxydative et également par couplage chimique au niveau du substrat impliquant l'APS. L'APS est une molécule à haut niveau énergétique composée d'adénosine mono-phosphate et de sulfite (figure 2.19) [6].

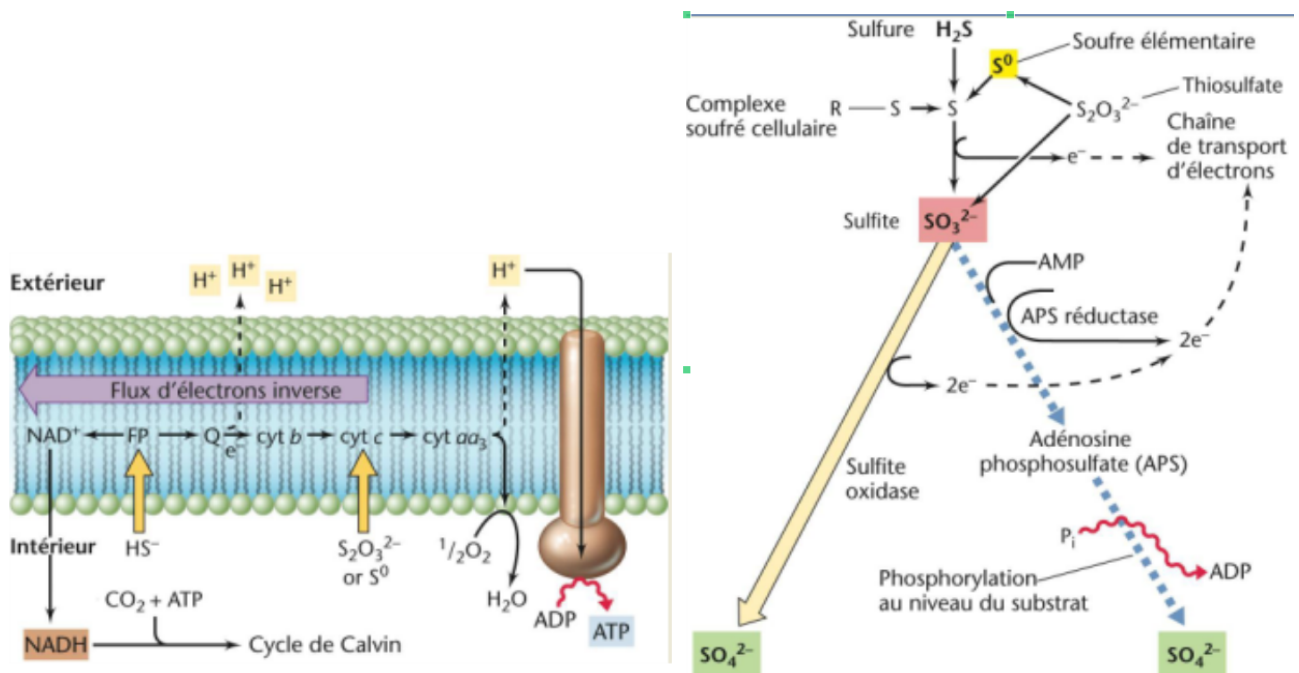


FIGURE 2.19 – Les flux d'électrons chez les bactéries Sulfo-oxydantes l'oxydation des composés azotés en sulfate entraîne un transport d'électron normal pour générer une force protomotrice permettant la synthèse d'ATP (à droite). Certains protons sont également utilisés pour forcé le flux d'électron dans le sens inverse du gradient redox vers le $NAD^+/NADP^+$ (gauche). Cette oxydation peut aussi entraîner la formation d'ATP par couplage chimique *via* l'APS [6]

Schéma bilan 4 : Chimiolithotrophie versus chimiorganotrophie

Réaliser un schéma bilan comparant l'obtention d'énergie à travers une chaîne de transport des électrons chez les chimiolithotrophes et chez les chimiorganotrophes. Des schémas détaillés de ces voies sont attendus.

USEFULL FACT : QUE-DOIS-JE APPRENDRE DANS CE COURS ? _____

- les définitions
- Les voies de la glycolyse, du cycle de krebs, la fermentation (schéma général),le cycle de Krebs, la chaîne respiratoire mitochondriale en détail (enzymes en rouge à connaître / en vert facultatif)
- Les autres voies : savoir où elles ont lieu, leurs produits
- les schémas avec le niveau de détail attendu pour chaque voie
- Les exercices associés au cours : des exercices du même type seront proposés

WHOLE BIBLIOGRAPHY

- [1] Bruce ALBERTS. *Molecular biology of the cell*. eng. Sixth edition. OCLC : 1082214404. Boca Raton, FL : CRC Press, an imprint of Garland Science, 2017. ISBN : 978-1-315-73536-8.
- [2] Chris GREENING, Zahra F. ISLAM et Sean K. BAY. "Hydrogen is a major lifeline for aerobic bacteria". eng. In : *Trends in Microbiology* 30.4 (avr. 2022), p. 330-337. ISSN : 1878-4380. DOI : 10.1016/j.tim.2021.08.004.
- [3] Momoyo ISHIKAWA et al. "Structural basis for channelling mechanism of a fatty acid beta-oxidation multienzyme complex". eng. In : *The EMBO journal* 23.14 (juill. 2004), p. 2745-2754. ISSN : 0261-4189. DOI : 10.1038/sj.emboj.7600298.
- [4] Gérard TRAMU et IJsbrand KRAMER. *Biologie Cellulaire université de bordeaux, 2013*. Unisciel.
- [5] Donald VOET et Judith G. VOET. *Biochemistry : international adaption*. eng. Fourth edition. New York, NY : Wiley, 2021. ISBN : 978-1-119-77064-0.
- [6] Joanne M. WILLEY et al. *Prescott, Harley, and Klein's microbiology*. 7th ed. OCLC : ocm71044581. New York : McGraw-Hill Higher Education, 2008. ISBN : 978-0-07-299291-5 978-0-07-330208-9.