

Complément de Biochimie

Cours théorique de 20 heures

dispensé aux étudiants de 2^{ème} Biotechnique.

Examen en juin.

Sylviane Delannay



Objectifs de l'activité d'apprentissage.

Les objectifs de ce cours sont d'étudier les voies cataboliques génératrices d'énergie chez les animaux, les végétaux et les microorganismes et de maîtriser la coordination des voies du catabolisme et d'acquérir la connaissance des différents Règnes en exploitant leurs potentialités.

Contenu :

Bioénergie et catalyse biochimique

Métabolisme des principales biomolécules :
la glycolyse, le catabolisme des différents glucides,
la voie des pentoses phosphates ; la mobilisation de
l'acétyl CoA, le cycle de l'acide citrique, la chaîne
respiratoire : le transfert d'électrons et la
phosphorylation oxydative ; les systèmes de transport
des métabolites dans la mitochondrie ; le catabolisme
des lipides, la cétogénèse ; le catabolisme des protides;
la photosynthèse.



Objectifs de l'activité d'apprentissage.

Les objectifs de ce cours sont d'étudier les voies cataboliques génératrices d'énergie chez les animaux, les végétaux et les microorganismes et de maîtriser la coordination des voies du catabolisme et d'acquérir la connaissance des différents Règnes en exploitant leurs potentialités.

Contenu :

Bioénergie et catalyse biochimique

Métabolisme des principales biomolécules : la glycolyse, le catabolisme des différents glucides, la voie des pentoses phosphates ; la mobilisation de l'acétyl CoA, le cycle de l'acide citrique, la chaîne respiratoire : le transfert d'électrons et la phosphorylation oxydative ; les systèmes de transport des métabolites dans la mitochondrie ; le catabolisme des lipides, la cétogénèse ; le catabolisme des protides; la photosynthèse.

Schéma général des biotechnologies, découverte des différents Règnes (animal, végétal et monde microbien), approche des techniques d'ingénierie génétique et illustrations.



I - Introduction:

I - 1 Classifications des organismes vivants
et introduction au métabolisme

I - 2 Approche des différents cycles

I - 3 Rappel d'enzymologie

I - 4 Lois de la thermodynamique

I - 5 Composés contenant une liaison riche en
énergie et rôle des cofacteurs réduits

I - 1 Introduction: rappel classification des organismes vivants

Règne des Plantes (Méthaphytes)

Règne des animaux (Métazoaires)

Règne des Protistes:

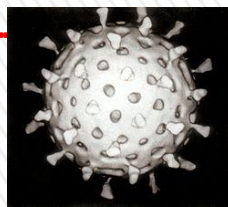
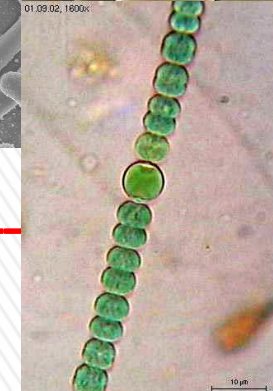
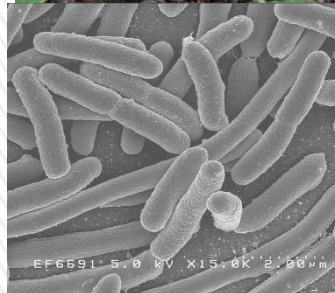
- Algues (sauf Algues bleu-vert);
- Protozoaires ; Protophytes;

Règne des Mycètes (Champignons)

Règne des Procaryotes

- Algues bleu-vert;
- Bactéries.

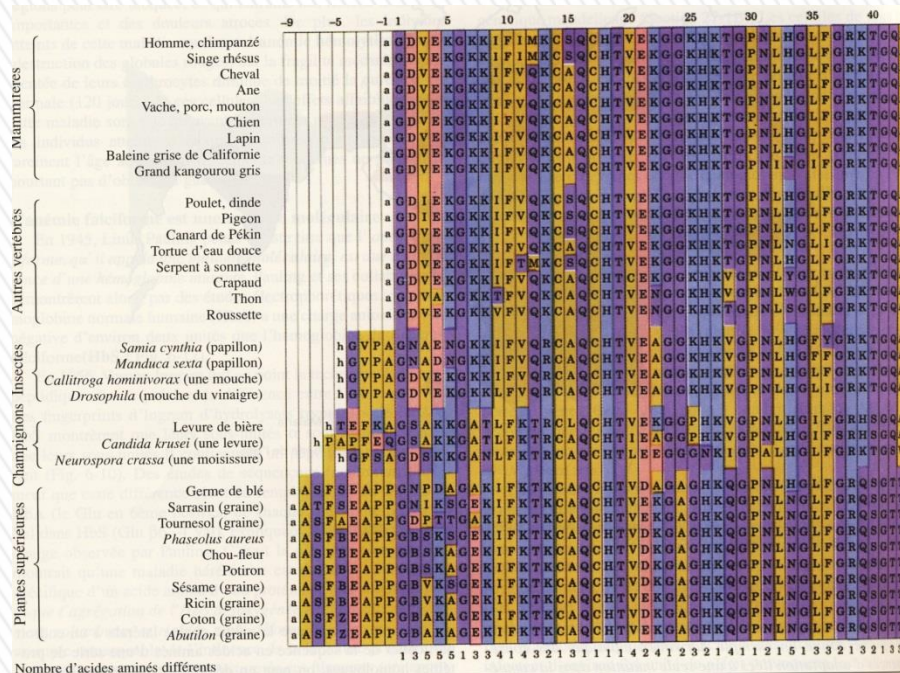
Règne des Archés



Virus

I - 1 Introduction : rappel classification des organismes vivants phylogénie des organismes vivants

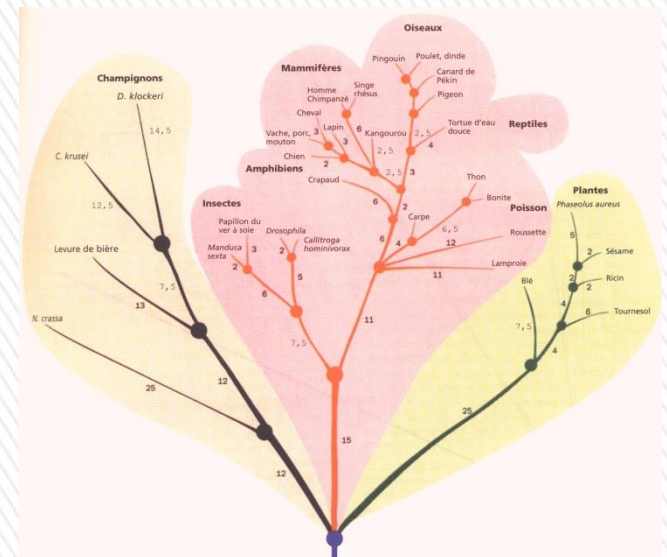
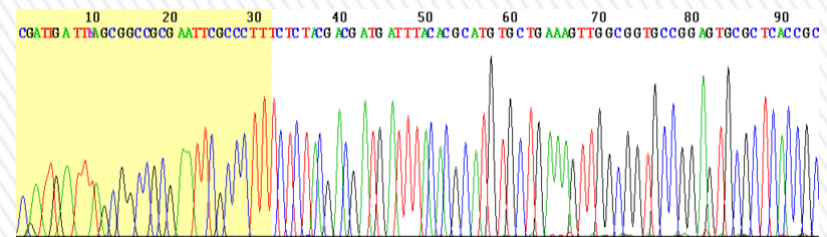
Ces classifications se fondent sur le séquençage comparé des protéines, ARN, ADN (gènes).



Nombre d'acides aminés différents

*Les chaînes latérales d'acides aminés ont été ombrées selon leurs caractères polaires de sorte que les résidus invariants ou les substitutions conservatrices s'identifient par une bande verticale de la même couleur. La lettre a au début de la chaîne indique que le groupe amino N-terminal est acétylé; un h indique que le groupe acétyl est absent.

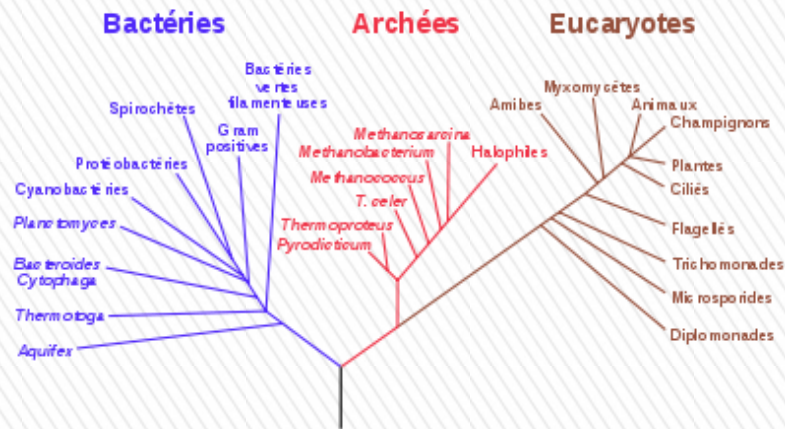
Source : D'après Dickerson, R.E., *Sci. Am.* 226(4): 58-72 (1972), avec des corrections de Dickerson, R.E., et Timkovitch, R., dans Boyer, P.D. (Ed.), *The Enzymes* (3rd ed.), Vol. II, pp. 421-422. Academic Press (1975). Tableau copyrighté by Irving Geis.



I - 1 Introduction : rappel classification des organismes vivants phylogénie des organismes vivants

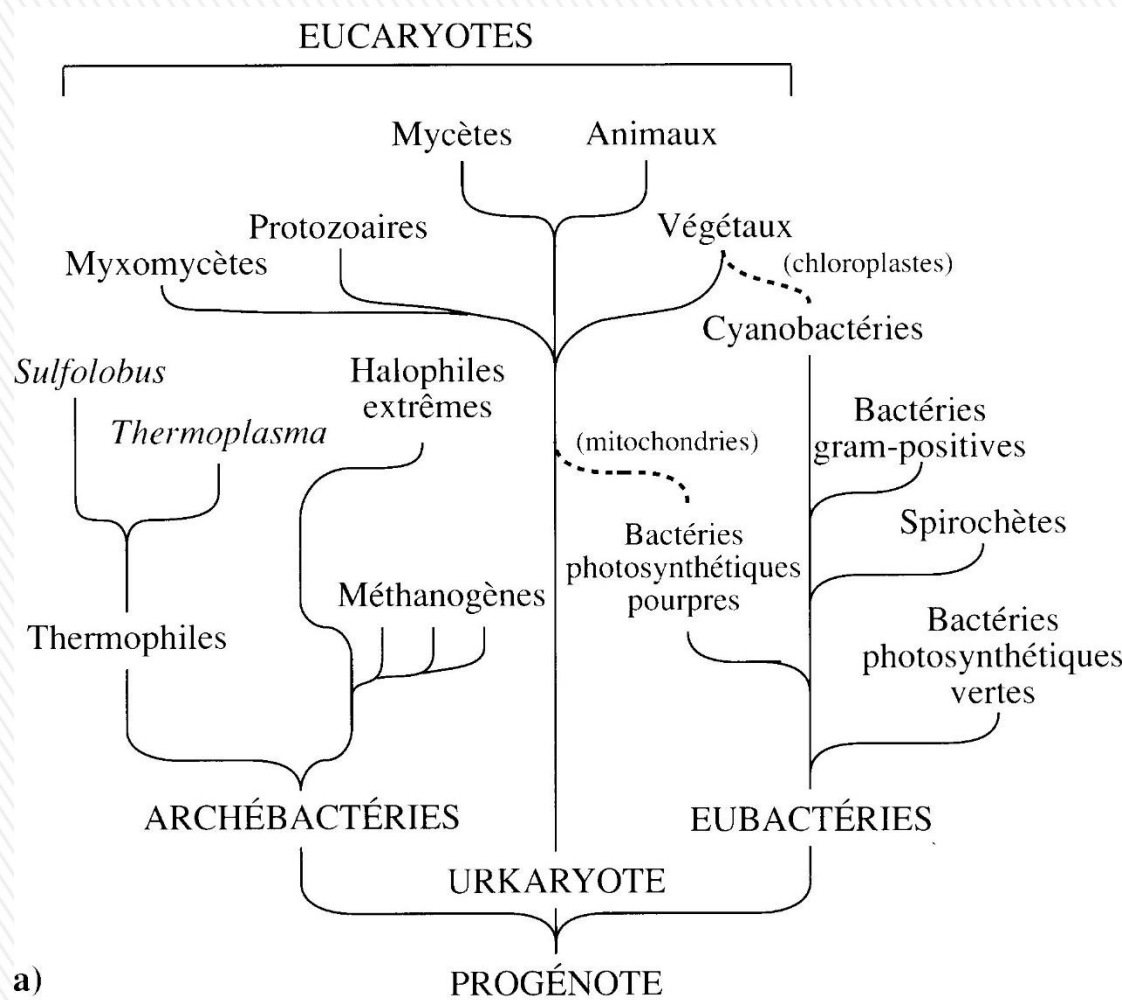
Le principe de la technique se fonde sur l'hypothèse que des similitudes de séquences entre gènes (ADN), ARN, protéines homologues de différents organismes sont le reflet d'une origine commune. La comparaison des séquences permet de reconstituer les relations phylogéniques entre les organismes sous la forme d'un arbre dans lequel la distance qui sépare 2 gènes de leur bifurcation la plus proche est fonction du nombre de mutations requis pour rendre compte des différences de leurs séquences (idem pour ARN et Protéines).

Arbre phylogénétique de la vie



I - 1 Classifications des organismes vivants

arbre phylogénétique universel



Arbre phylogénique dérivé du séquençage comparé d'ARN ribosomiaux 16S.

Sylviane Delannay

I - 1 Introduction: différences entre organismes procaryotes et eucaryotes

Procaryotes:

peu ou pas d'organites cellulaires (pas de vrai noyau);

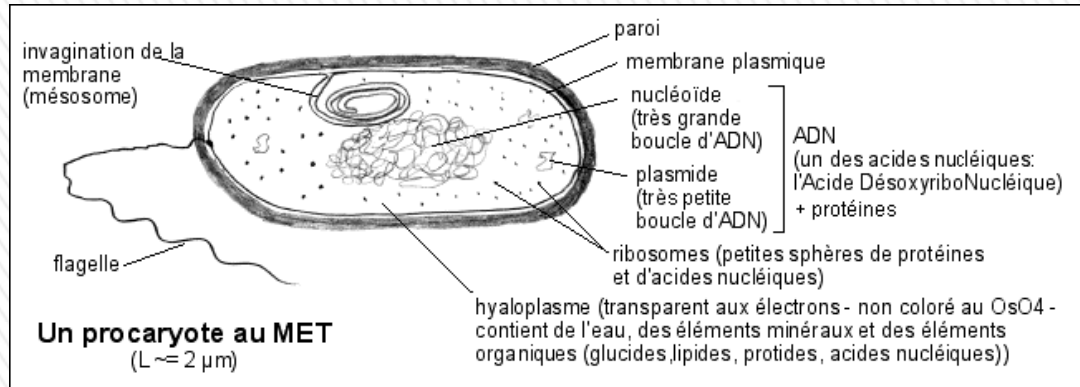
Eucaryotes:

membrane nucléaire => vrai noyau

+ de nombreux organites (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, mitochondries, lysosomes, chloroplastes chez organismes photosynthétiques,...)

Les organismes procaryotes et eucaryotes possèdent tous des ribosomes (contrairement aux virus; c'est pourquoi ceux-ci ne sont pas considérés comme des organismes vivants...)

I - 1 Introduction : comparaison des cellules procaryotes et eucaryotes

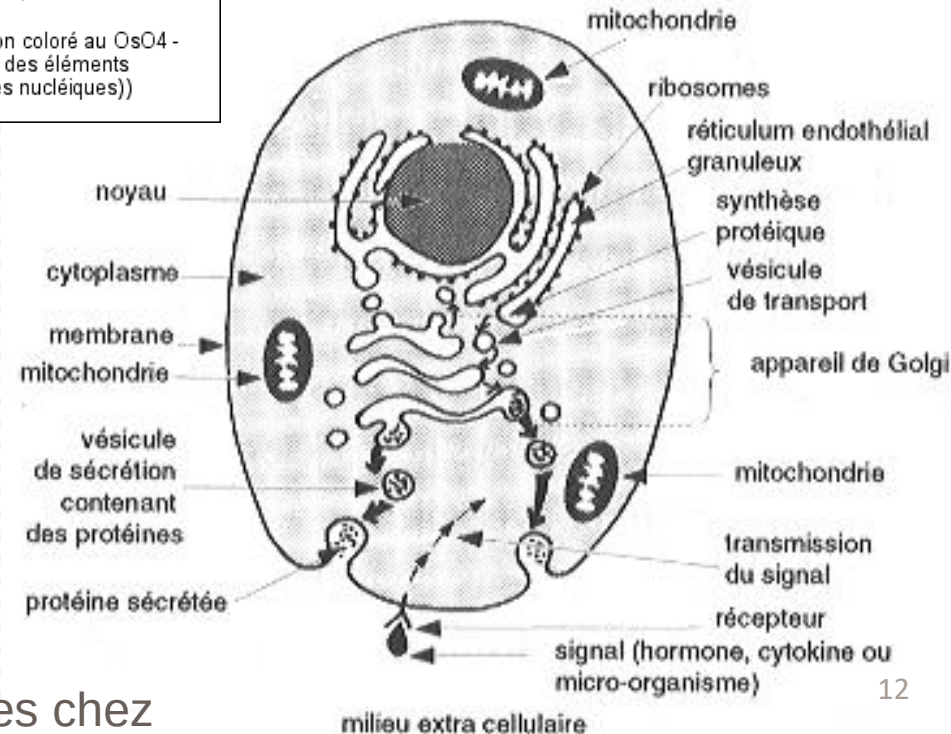


Procaryotes:

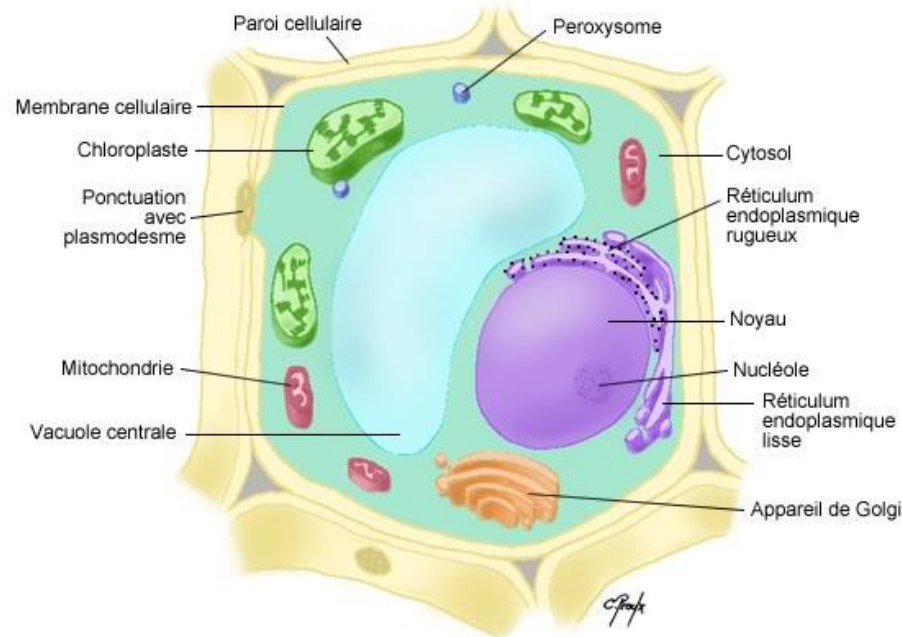
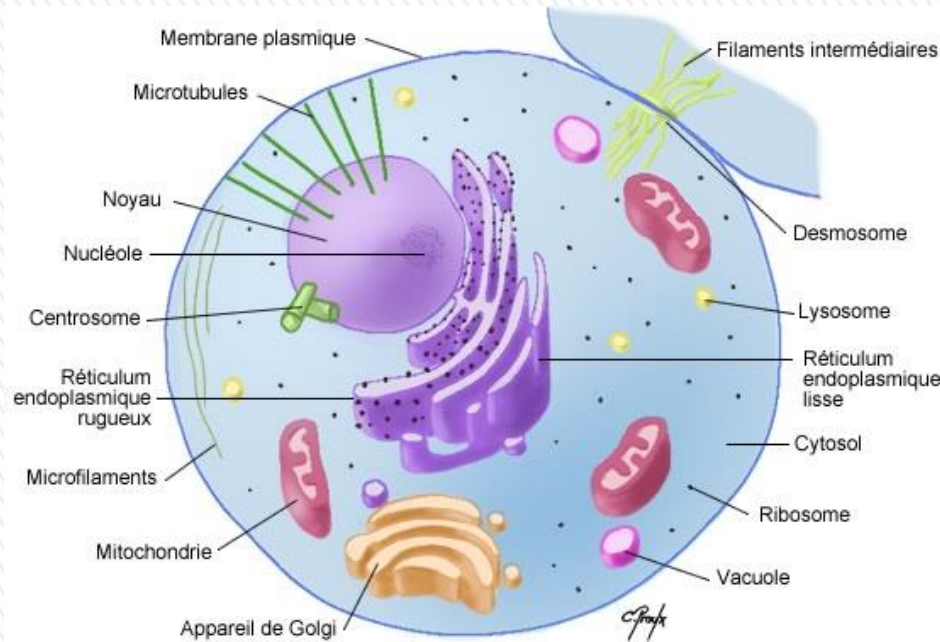
peu ou pas d'organites cellulaires (pas de vrai noyau);

Eucaryotes:

membrane nucléaire => vrai noyau
+ de nombreux organites (réticulum endoplasmique, appareil de Golgi, mitochondries, lysosomes, chloroplastes chez organismes photosynthétiques,...)

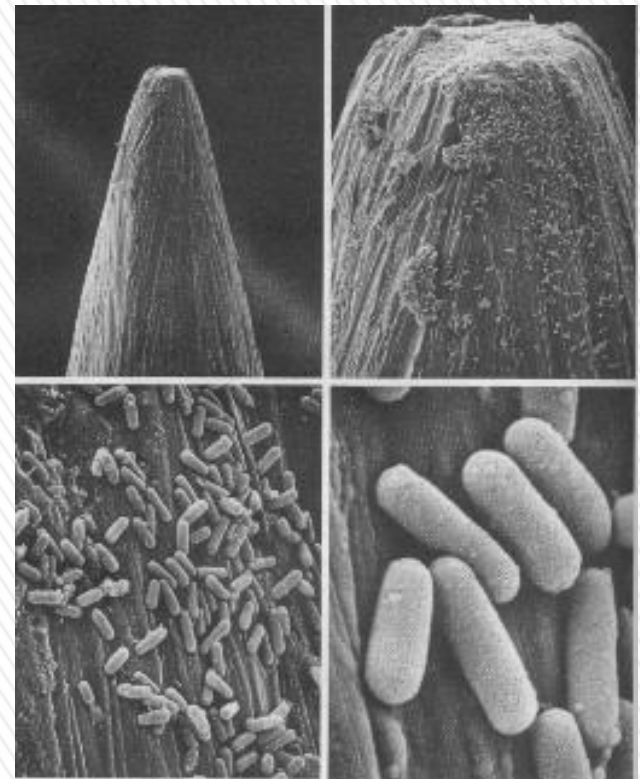
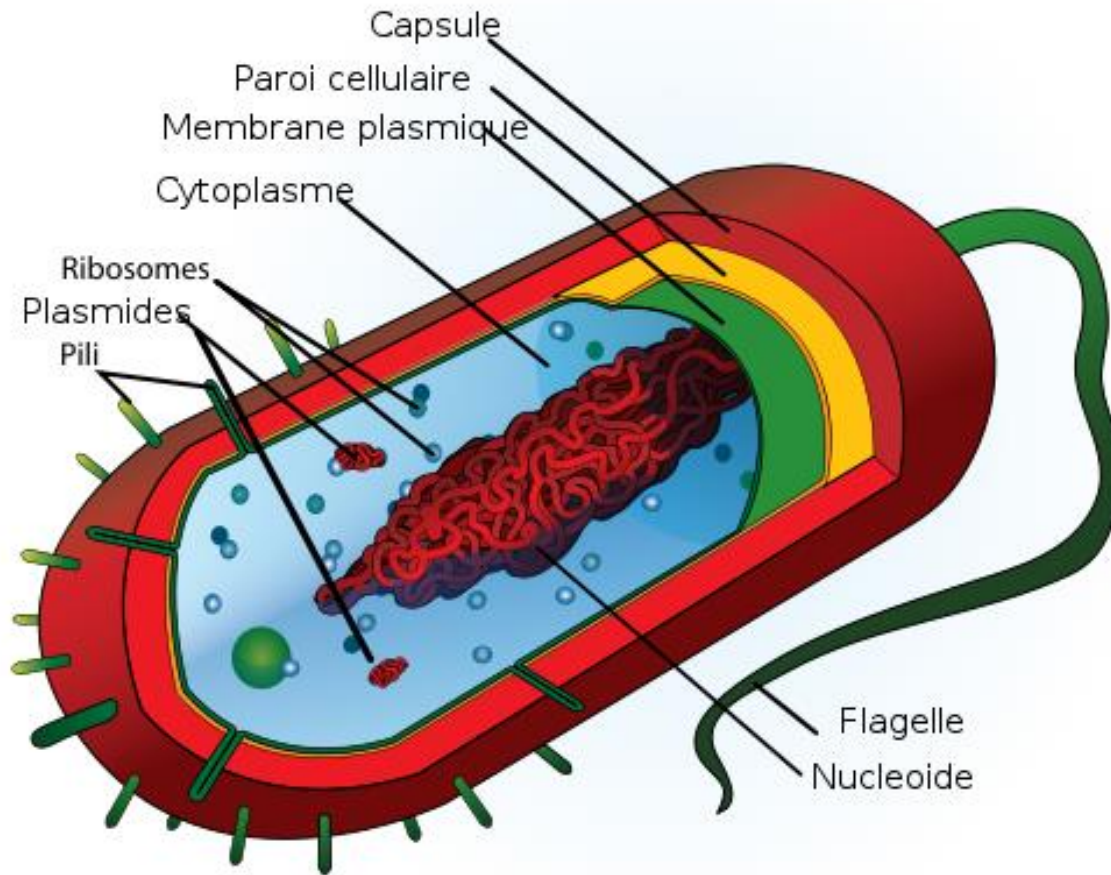


I - 1 Introduction : comparaison cellule animale et cellule végétale

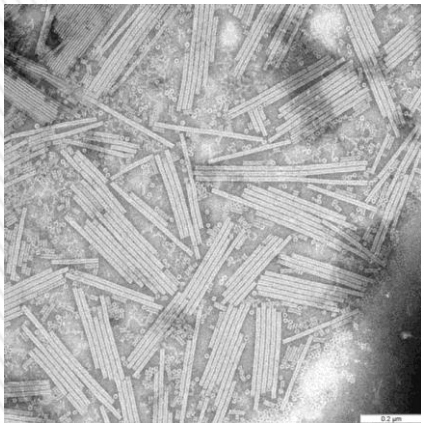
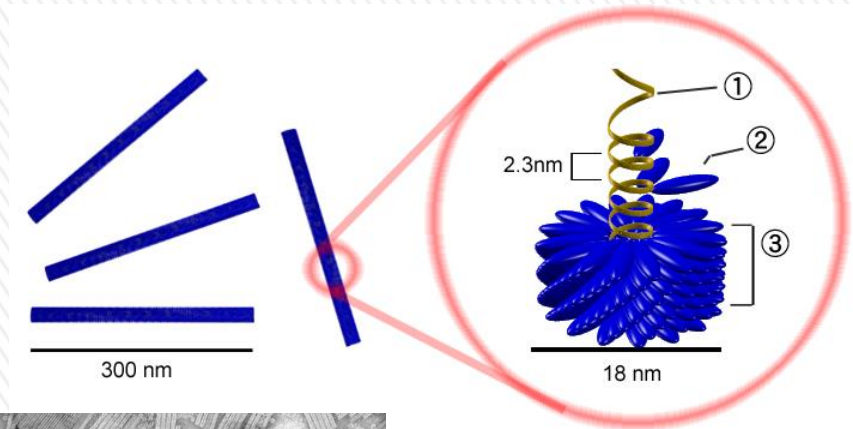


Réf. Matthieu SIMON

I - 1 Introduction: les bactéries



I -1 Introduction: les virus



Microscopie électronique de particules du virus de la mosaïque du tabac

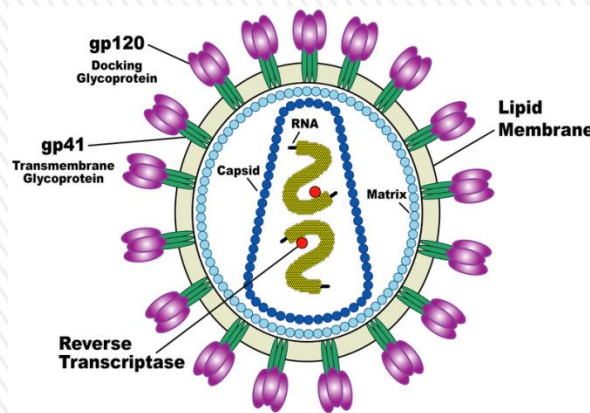
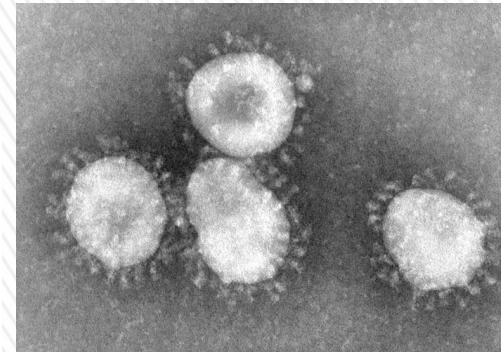
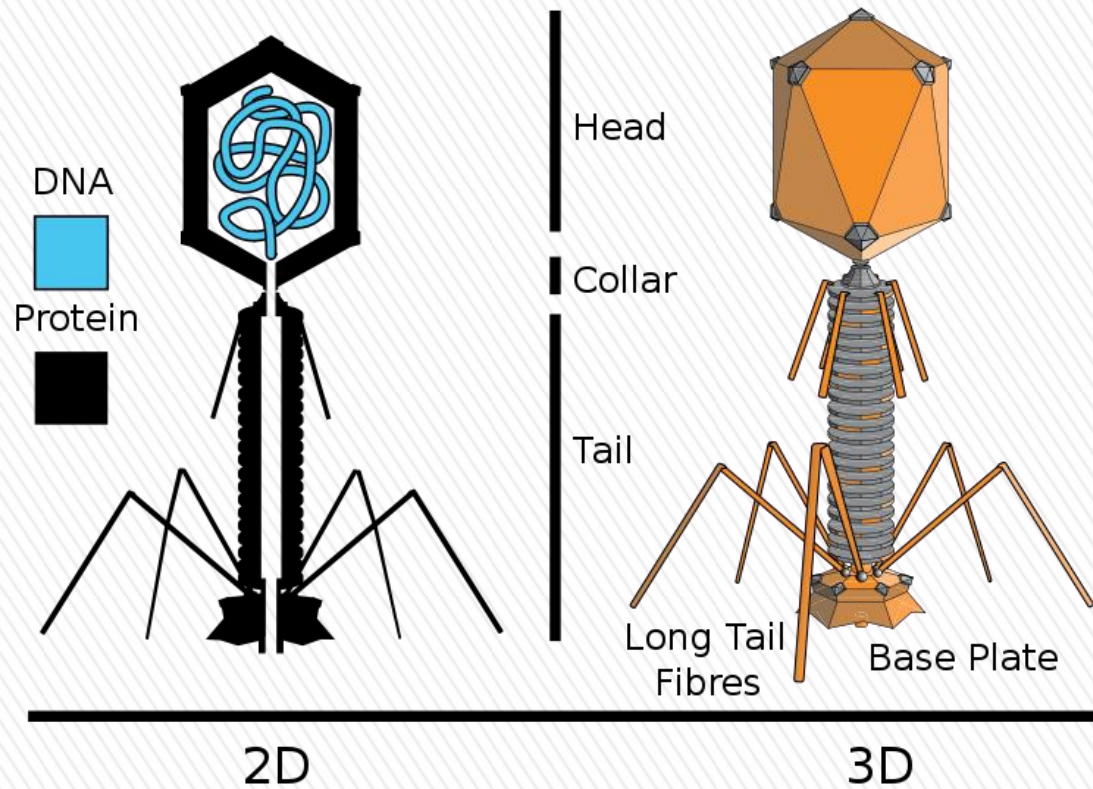


Schéma d'un virus enveloppé : le [VIH](#)



I – 1 Introduction: les bactériophages



I - 1 Introduction au métabolisme

Le métabolisme est caractérisé par des fonctions spécifiques. L'examen d'une carte métabolique permet de se rendre compte très rapidement que les organismes vivants utilisent essentiellement **des composés du carbone**.

La source de carbone est :

- soit le CO_2 de l'air;
- soit les composés organiques.

L'énergie nécessaire aux fonctions cellulaires sera puisée:

- soit de la lumière;
- soit de réactions chimiques durant les voies cataboliques principalement les réactions d'oxydo-réduction

AGENT REDUCTEUR → AGENT OXYDANT
[donneur d'électrons] [accepteur d'électrons]

I - 1 Introduction: introduction au métabolisme et classification des organismes vivants

Les cellules peuvent être classées de 2 manières différentes :

→ suivant la forme chimique du carbone:

- soit **autotrophes** lorsque la source de carbone est le CO_2 ;
- soit **hétérotrophes** lorsque la source de carbone est un composé organique.

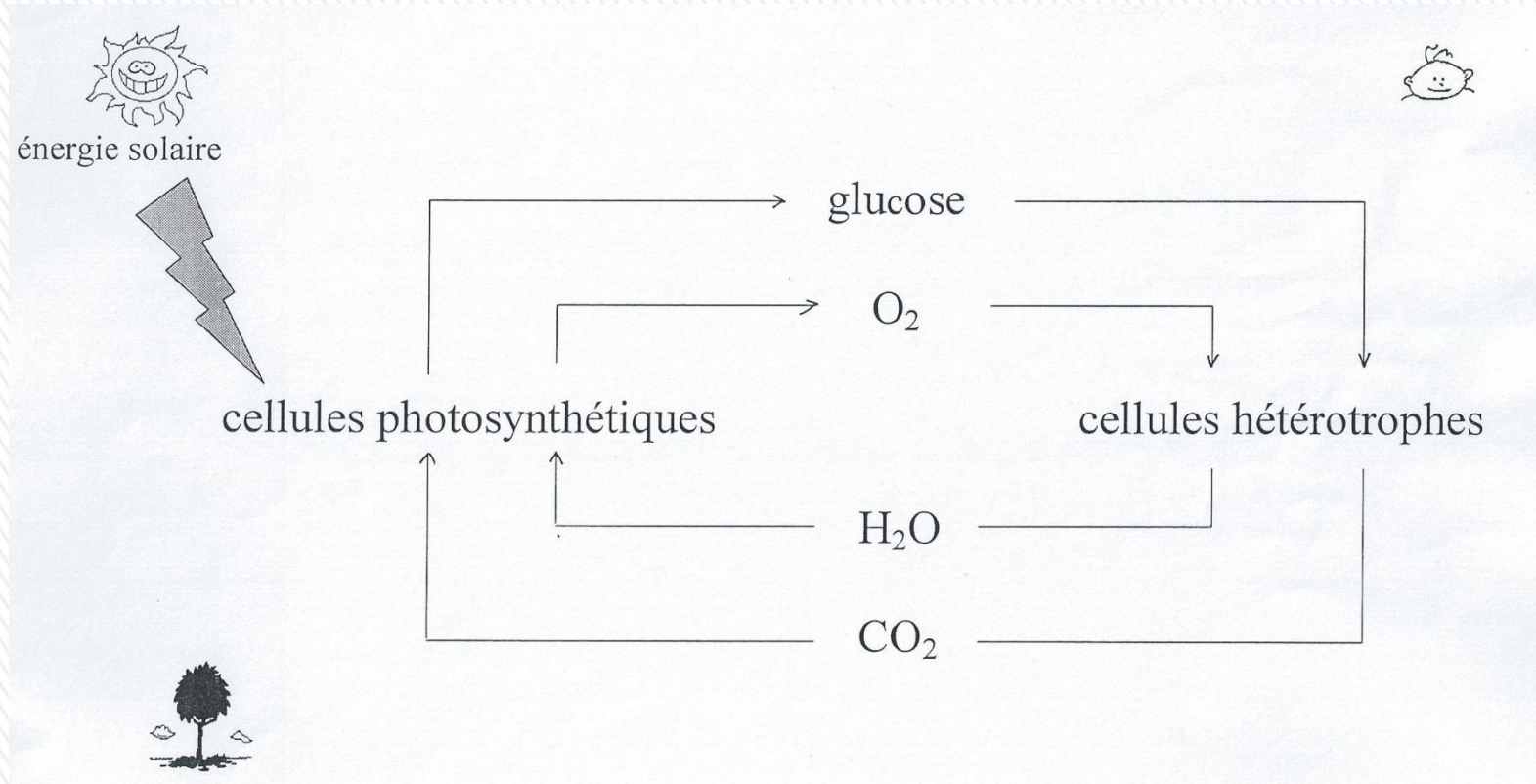
→ suivant leur source d'énergie.

I - 1 Introduction: introduction au métabolisme et classification des organismes vivants

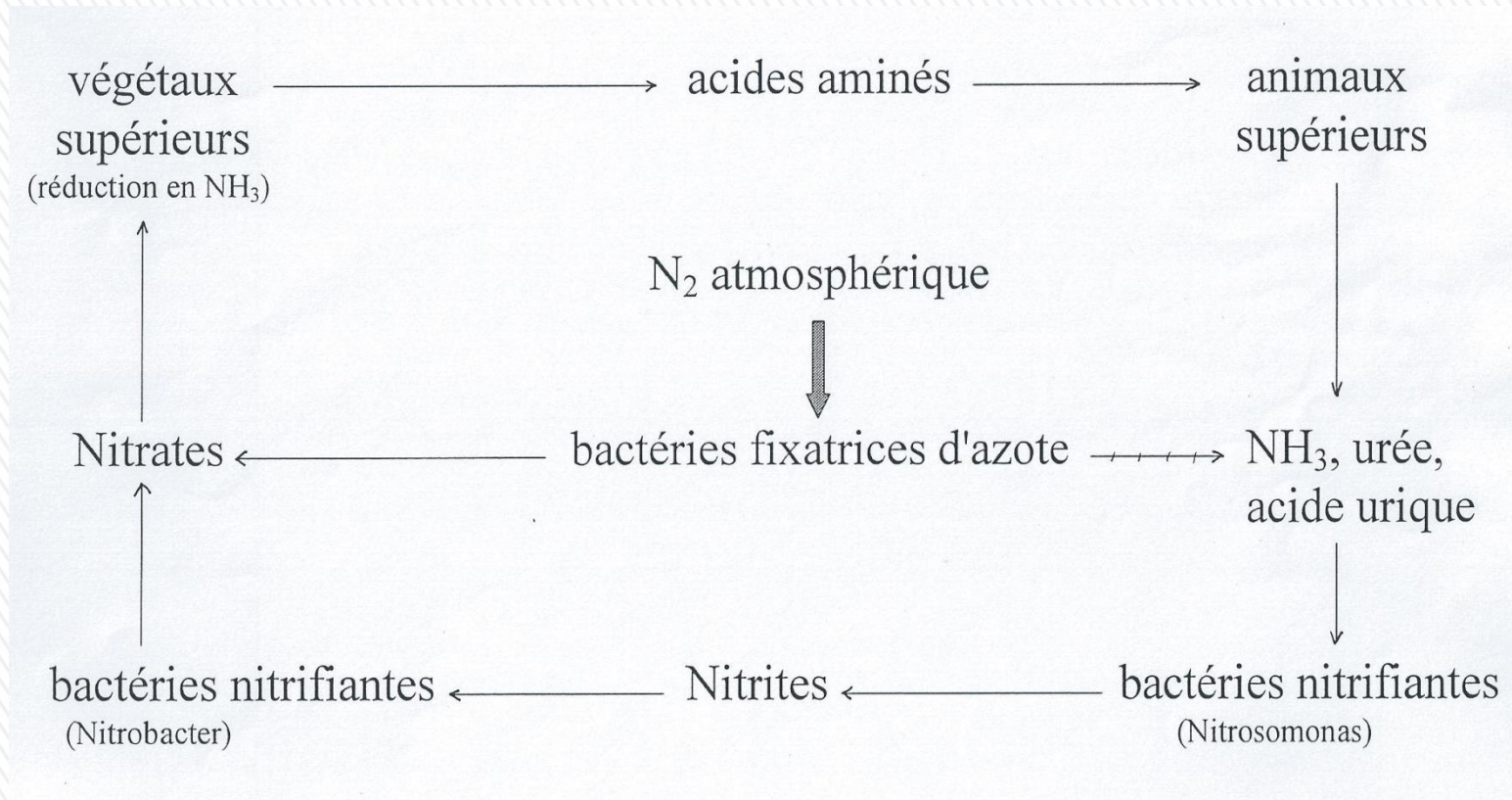
Types d'organismes	Sources d'énergie	Sources de carbone	Exemples d'organismes
Photolithotrophes	lumière	CO ₂	cellules vertes des plantes supérieures algues bleues-vertes bactéries photosynthétiques
Photoorganotrophes	lumière	composés organiques	bactéries pourpres non sulfureuses
Chimiolithotrophes	réactions d'oxydo-réductions	CO ₂	bactéries utilisant H, S, Fe bactéries dénitrifiantes
Chimioorganotrophes	réactions d'oxydo-réductions	composés organiques	tous les animaux supérieurs la plupart des microorganismes les cellules végétales non photosynthétiques

Les groupes 1 et 4 constituent ensemble la grande majorité des espèces; les représentants peu nombreux de 1 et 3 sont néanmoins fort importants par la fonction qu'ils remplissent (ex. bactéries du sol qui captent l'azote atmosphérique ou bactéries qui oxydent l'ammoniaque en nitrates).

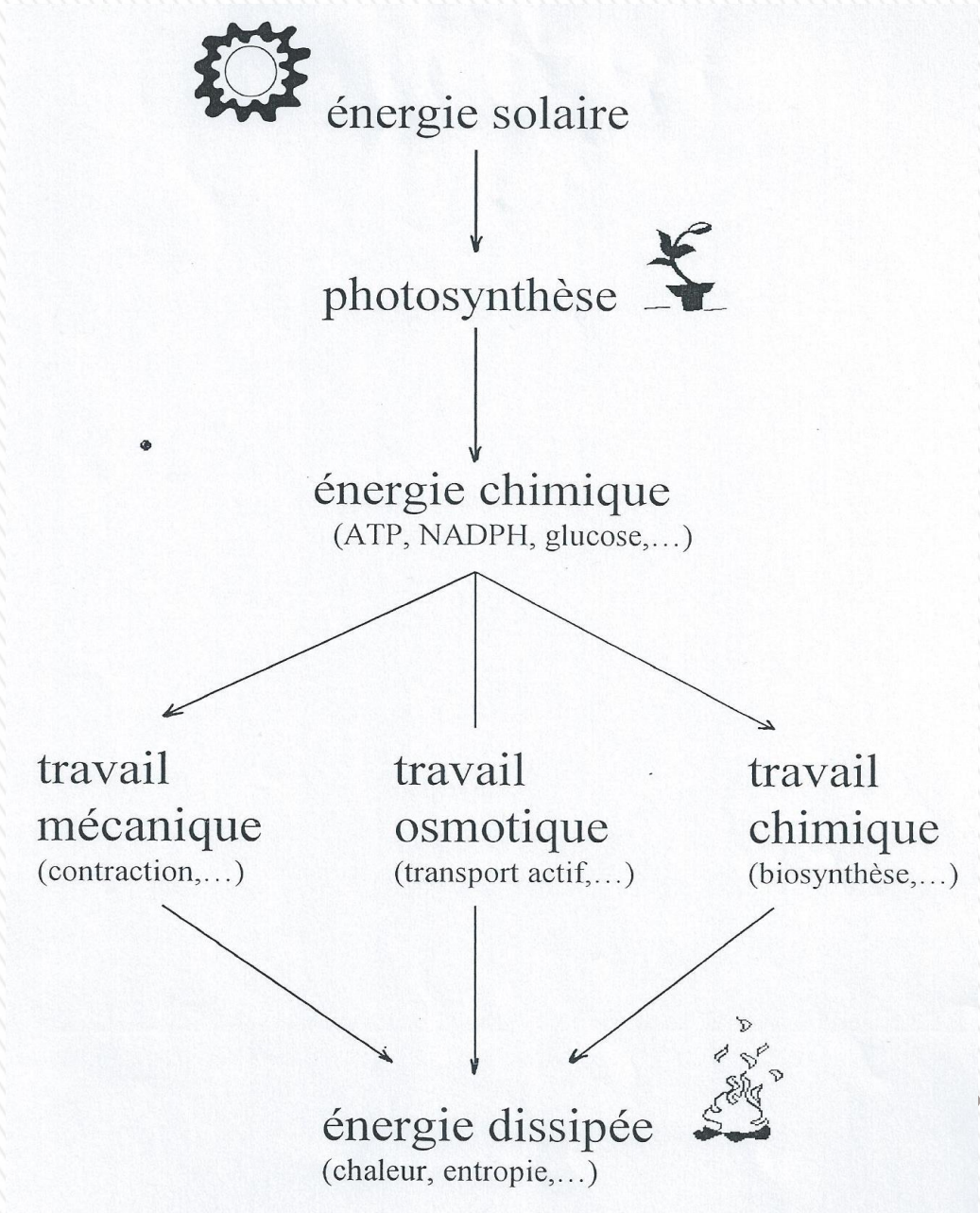
I - 2 Approche des différents cycles : cycle du Carbone et de l'Oxygène



I - 2 Approche des différents cycles : cycle de l'Azote



Flux d'énergie associé au cycle du Carbone



Métabolisme: catabolisme et anabolisme

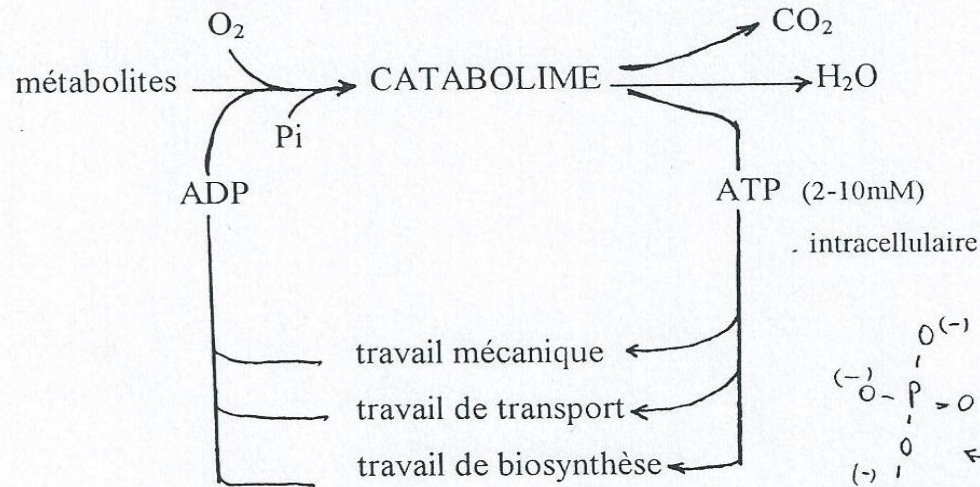


La biosynthèse des biomolécules
(l'**anabolisme**) nécessite de l'énergie.

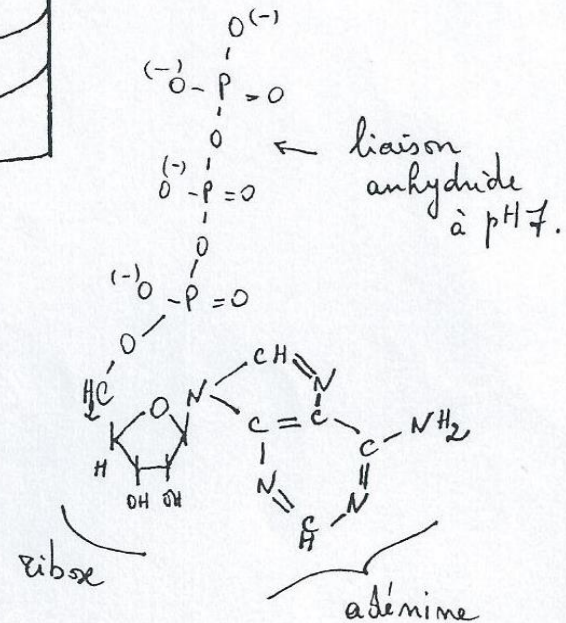
La dégradation des composés organiques
(le **catabolisme**) génère de l'énergie.



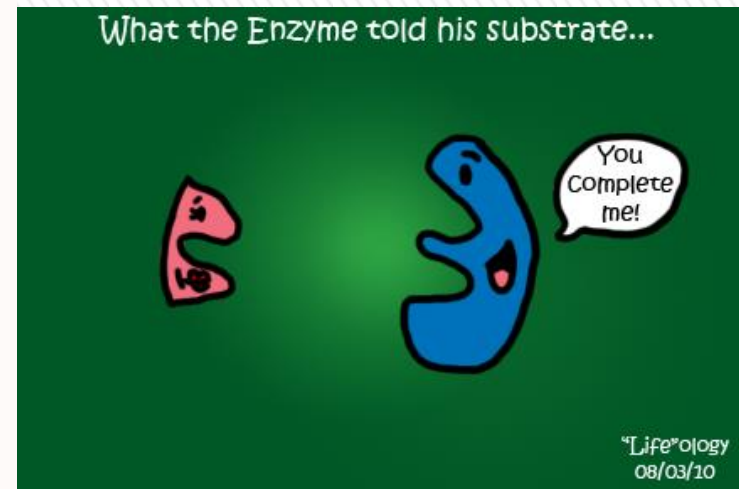
I - 2 Approche des différents cycles : cycle de l'ATP



ATP = Adénosine 5' TriPhosphate



I-3 Introduction: rappel d'enzymologie



I - 3 Introduction: rappel d'enzymologie

Généralités:

Définition et classification structurales des enzymes

Les enzymes sont des macromolécules appartenant à la classe des **protéines globulaires**.

Les enzymes sont constituées d'une ou de plusieurs chaînes polypeptidiques dont les structures primaire, secondaire, tertiaire et quaternaire (si elle existe) sont bien définies.



Introduction: rappel d'enzymologie

HOLOENZYMES



par hydrolyse

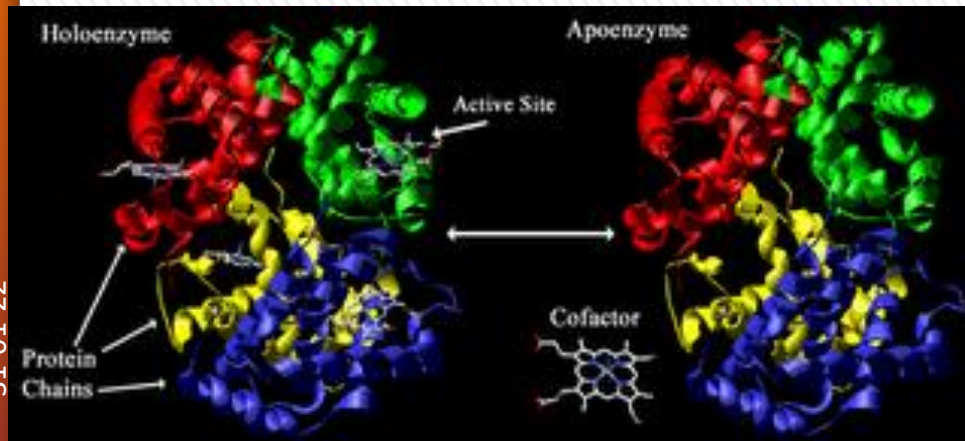
Σ acides aminés
uniquement

HETEROENZYMES



Σ acides aminés = apoenzyme
+ partie(s) non protéique(s) =
cofacteur(s) :

- ▶ composés inorganiques :
ions métalliques
- ▶ composés organiques :
 - liés par liaisons faibles : coenzyme
 - liés par liaisons fortes :
groupements prosthétiques



Introduction: rappel d'enzymologie

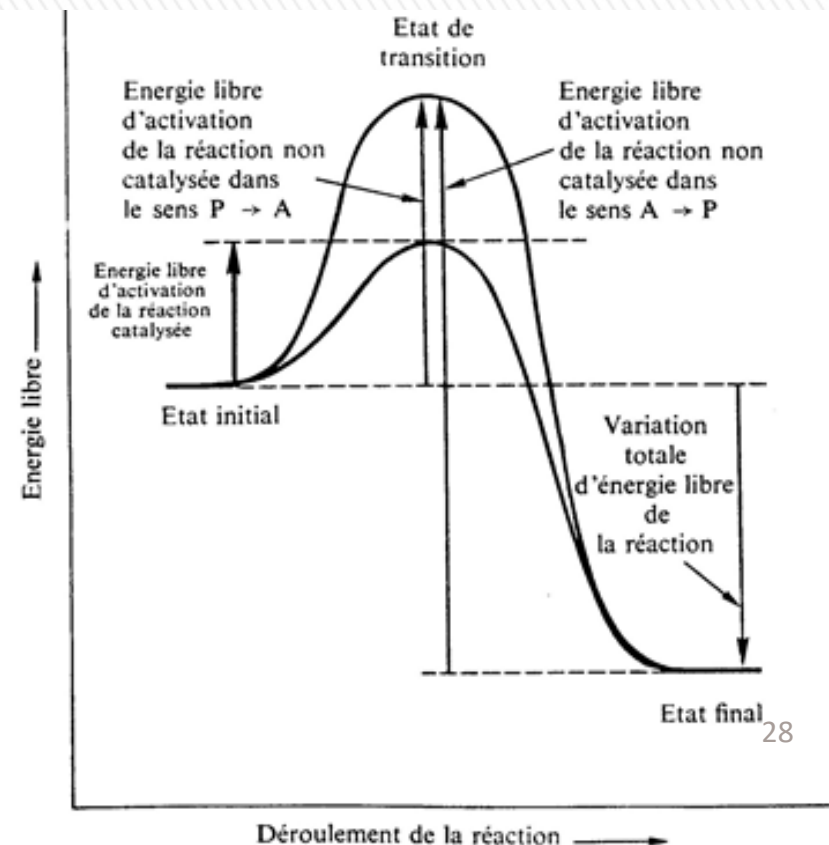
Définition et classification basées sur le rôle des enzymes

Les enzymes sont des **catalyseurs de réactions biochimiques** se produisant chez les êtres vivants.

Le rôle d'un catalyseur est de **diminuer l'énergie d'activation d'une réaction**.

Conséquence: la vitesse de réaction est accélérée.

L'énergie d'activation (ΔG^*) représente la quantité d'énergie nécessaire à une température donnée pour amener toutes les molécules d'une mole de substance à l'état de transition (Kcal ou KJ / mole).



Introduction: rappel d'enzymologie

Le « **turn over** » ou « taux de renouvellement » de l'enzyme :
le nombre de molécules de substrat transformées par unité de temps et par molécule enzymatique (ou 1 site actif).

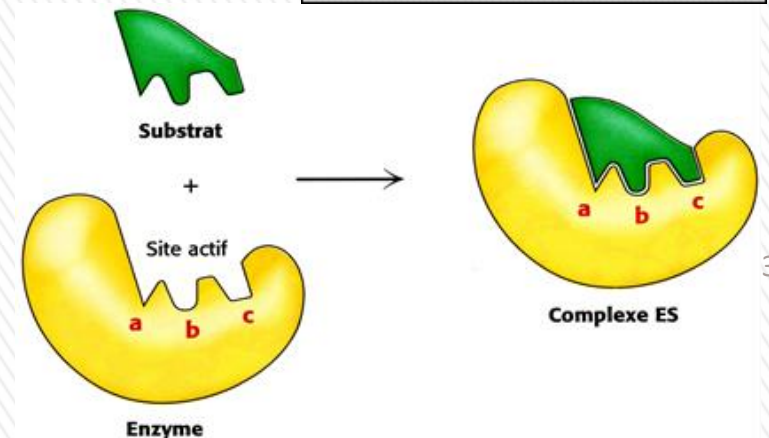
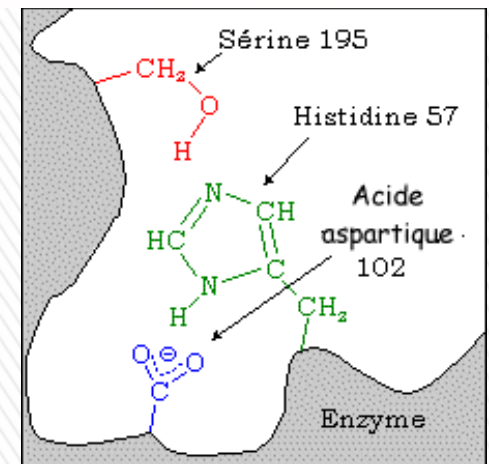
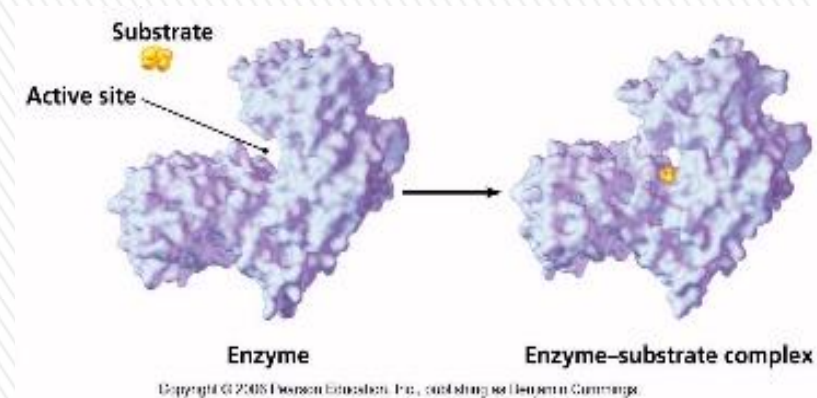
Enzymes	« turn over » (nombre de molécules de substrats transformées par minute à 20-38°C)
anhydrase carbonique	36 000 000
acétylcholinestérase	1 500 000
β amylase	1 100 000
pénicilline	120 000
lactate deshydrogénase	60 000
β galactosidase	12 500
chymotrypsine	6 000
DNA polymérase I	900
lysozyme	30

Introduction: rappel d'enzymologie

Double spécificité des enzymes

Les enzymes présentent :

- **une spécificité quant au(x) substrat(s) ;** celle-ci peut être plus ou moins stricte en fonction de l'enzyme ;
- **une spécificité réactionnelle :** les enzymes catalysent un type de réaction donné ; ce critère sert de base à la **classification de ces catalyseurs biochimiques.**



Introduction: rappel d'enzymologie

La plupart des enzymes ont un nom se terminant par la syllabe « ase ». **N° de « matricule »: E.C. X.X.X.X.**

Classe	Type de réaction	Exemple
1. Oxydoréductase	Transfert d'électrons (oxydation-réduction)	Lactate deshydrogénase
2. Transférase	Transfert de groupements	Glucokinase
3. Hydrolase	Réaction d'hydrolyse (transfert de groupes fonctionnels vers l'eau)	Pepsine
4. Lyase	Addition ou élimination de groupes pour créer des doubles liaisons	Fumarase
5. Isomérase	Isomérisation (transfert intramoléculaire de groupe)	Triose phosphate isomérase
6. Ligase	Ligation de 2 substrats aux dépens de l'hydrolyse de l'ATP (formation de liaisons C-C, C-S, C-O et C-N)	Citrate synthétase

Introduction: rappel d'enzymologie

Activité maximale dans des conditions physico-chimiques optimales

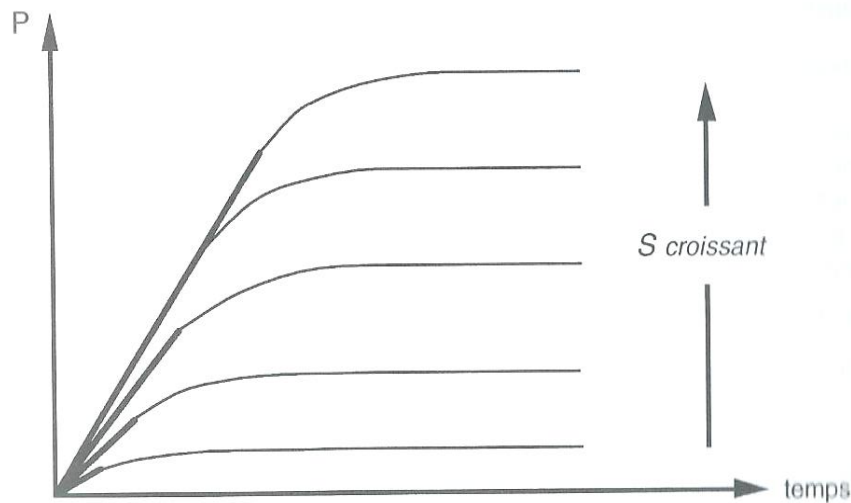
L'activité catalytique des enzymes est influencée par un certain nombre de facteurs environnementaux : le pH, la température, la force ionique, la présence de certains ions et molécules,...

Les paramètres physico-chimiques influencent le repliement des chaînes polypeptidiques et l'activité biologique des protéines.

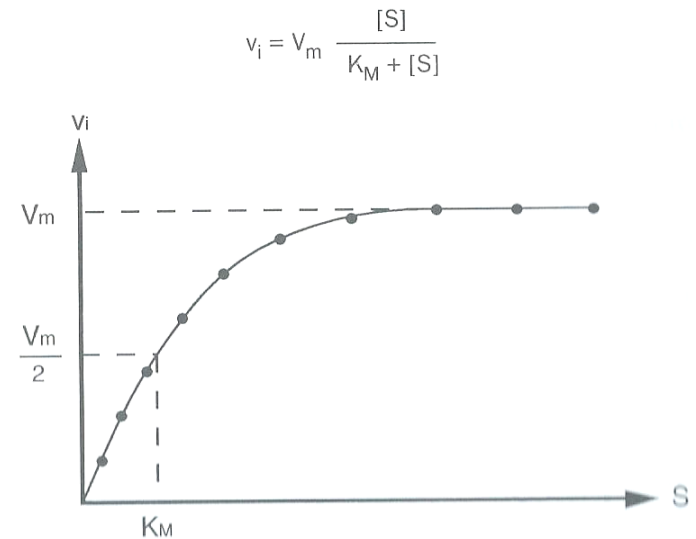
Une enzyme présente donc une activité catalytique maximale lorsqu'elle est placée dans un mélange réactionnel répondant aux caractéristiques physico-chimiques optimales spécifiques à cette protéine.

Vitesse initiale d'une réaction enzymatique et sa détermination.

Détermination de la V_i .



Courbes $P = f(t)$ avec différentes concentrations initiales en substrat



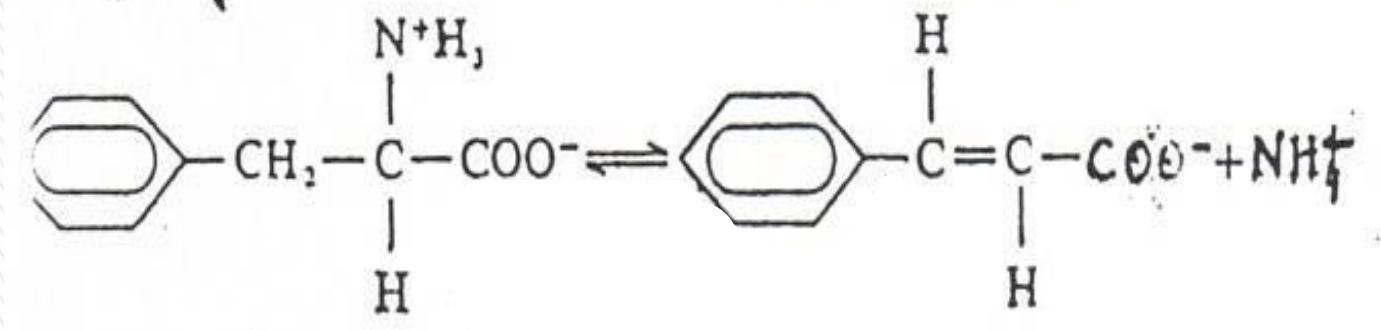
Courbe $v_i = f(S)$

Vitesse initiale d'une réaction enzymatique et sa détermination.

Détermination de la V_i .

⇒ Si l'avancement de la réaction au cours du temps peut être suivi en continu (ex. P coloré et S incolore), la V_i peut être déterminée à partir du coefficient directeur (ou pente) de la partie linéaire initiale de la courbe.

Exemples: les caractéristiques spectrales du **S** et du **P** sont différentes
1°)



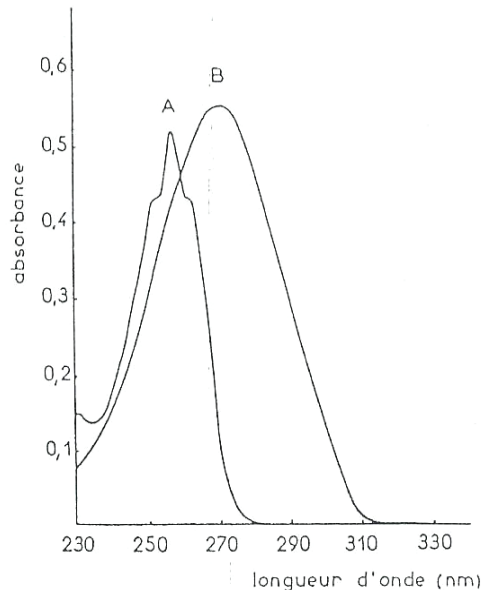
Spectres d'absorption UV de la **L-phénylalanine (A)** et de l'**acide trans cinnamique (B)** sont différents : réaction catalysée par la **phénylalanine ammonium lyase (PAL)**

Vitesse initiale d'une réaction enzymatique et sa détermination.

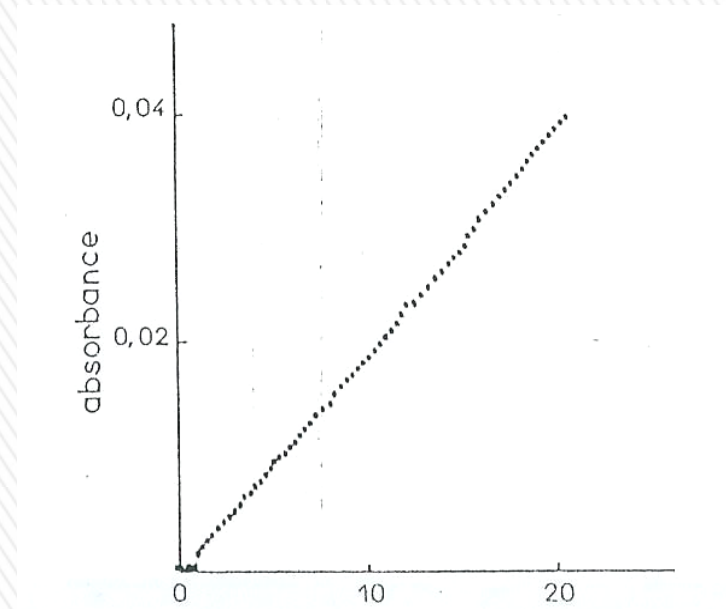
Détermination de la V_i .

Spectres d'absorption UV de la L-phénylalanine (A) et de l'acide trans cinnamique (B) sont différents : réaction catalysée par la phénylalanine ammonium lyase (PAL)

Les spectres ultraviolets de la phénylalanine et de l'acide *trans* cinnamique sont très différents (). A une longueur d'onde de 290 nm l'acide cinnamique absorbe fortement, alors que la phénylalanine n'absorbe pratiquement pas. En mesurant la variation d'absorbance à 290 nm, on enregistre ainsi la cinétique de formation de l'acide cinnamique au cours de la réaction



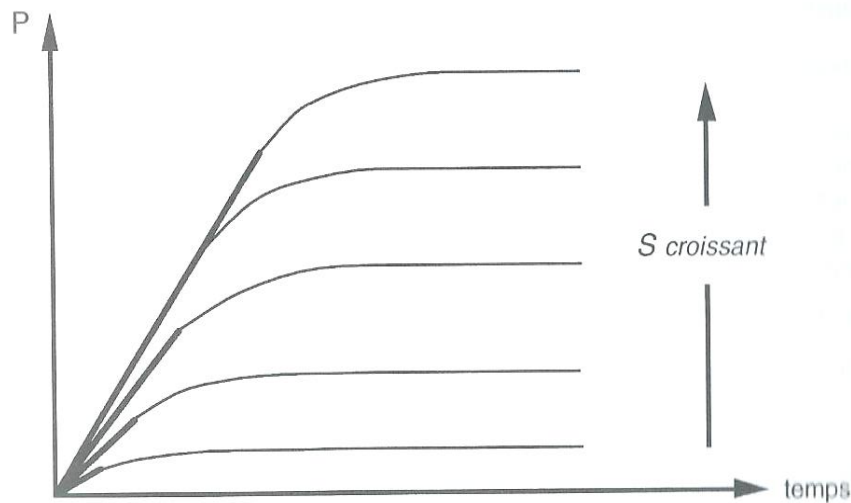
Spectres d'absorption UV de la L-phénylalanine (A) et de l'acide trans cinnamique (B).



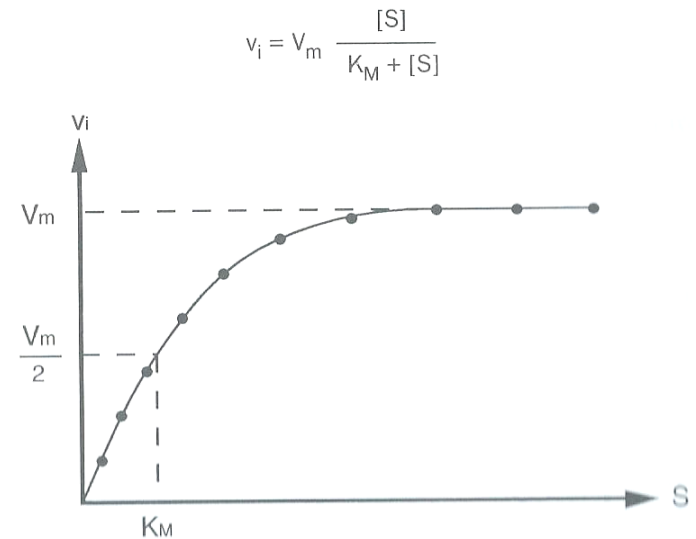
Cinétique de production de l'acide trans cinnamique suivie à 290 nm
 Δ absorbance à 290nm en fonction du temps
(pH 8,7 – concentrations respectives d'enzyme et de substrat 0,0067 μ M et 0,0067 M)

Vitesse initiale d'une réaction enzymatique et sa détermination.

Détermination de la V_i .



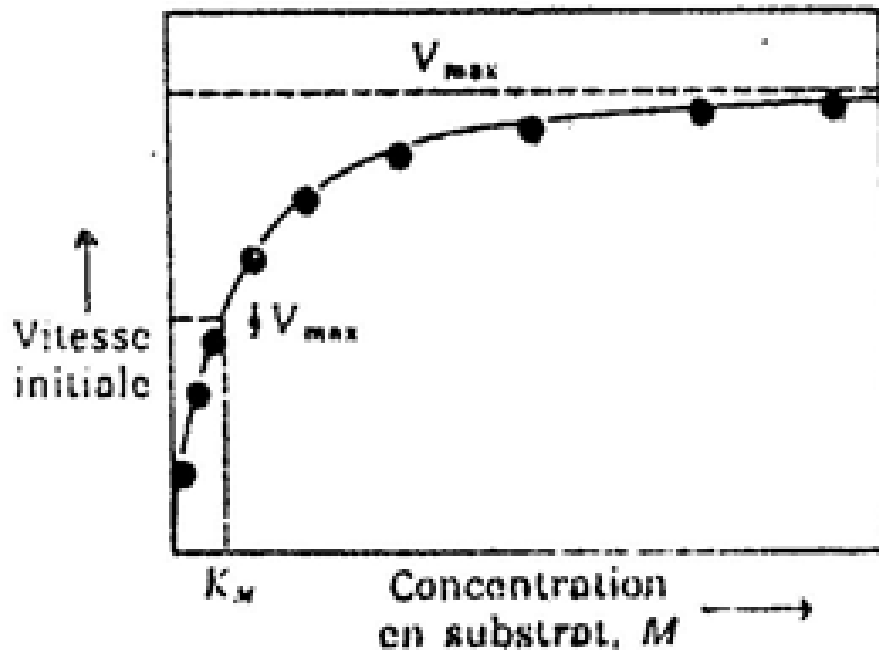
Courbes $P = f(t)$ avec différentes concentrations initiales en substrat



Courbe $v_i = f(S)$

Cinétique enzymatique

Cas des enzymes simples michaeliennes: phénomène de saturation par le substrat



Courbe théorique:

- attention, la précision n'est pas la même pour tous les points;
- il y a parfois un effet de diminution de la V_{max} pour les fortes $[S]$

Effet de la concentration de substrat sur la vitesse d'une réaction enzymatique.

Cinétique enzymatique

Le schéma réactionnel :

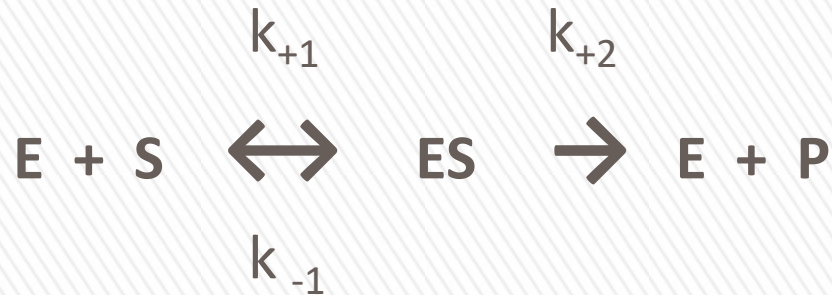


But de Michaelis-Menten : établir une équation exprimant la relation mathématique existant entre la vitesse initiale d'une réaction enzymatique V_o , la concentration en substrat $[S]$ et les caractéristiques de l'enzyme pour ce substrat (V_{Max} et K_M).

$[E]$ concentration d'enzyme libre, $[ES]$ concentration du complexe enzyme-substrat,
 $[S]$ concentration du substrat et $[E_T]$ concentration totale d'enzyme = $[E] + [ES]$

Cinétique enzymatique

Simplification du schéma réactionnel :



Car détermination de la vitesse initiale d'une réaction enzymatique V_o .

Initialement, peu de produit formé donc la formation de ES à partir de E+P est négligeable par rapport à la formation de ES à partir de E+S.

Cinétique enzymatique

Développement:

$$V_0 = \underset{\substack{\downarrow \\ \text{inconnu}}}{k_{+2}} \underset{\substack{\downarrow \\ \text{inconnu}}}{[ES]}$$

=> donc il faut trouver une autre voie avec des variables plus accessibles.

Essayons de remplacer **[ES]** par une autre expression

A l'**état stationnaire**, la vitesse de disparition de [ES] = la vitesse d'apparition de [ES]

$$\text{La vitesse de formation de ES} = \frac{d[ES]}{dt} = k_{+1} [E] [S] = k_{+1} ([E_T] - [ES]) [S]$$

↗ $[E_T] = [E] + [ES] \Rightarrow [E] = [E_T] - [ES]$

$$\text{La vitesse de disparition de ES} = - \frac{d[ES]}{dt} = k_{-1} [ES] + k_{+2} [ES]$$

A l'**état stationnaire** : $k_{+1} ([E_T] - [ES]) [S] = k_{-1} [ES] + k_{+2} [ES]$

ou
$$\frac{([E_T] - [ES]) [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} = K_M \text{ constante de Michaelis-Menten} \Rightarrow [ES] = \frac{[E_T] [S]}{K_M + [S]}$$

Cinétique enzymatique

$$V_0 = k_{+2} [ES] \Rightarrow V_0 = \underset{\text{inconnu}}{k_{+2}} \frac{[E_T] [S]}{K_M + [S]}$$

Par ailleurs, la seconde caractéristique de l'enzyme pour le substrat $V_{\max}$ ne figure pas!!!!

$V_0 = k_{+2} [ES]$; $V_{\max}$ est une valeur de V_0 qui est partiellement atteinte quand la $[S]$ est très grande!

Dans ces conditions, $[E]$ est négligeable par rapport à $[ES]$

$$[E_T] = [E] + [ES] \Rightarrow [E_T] \approx [ES]$$

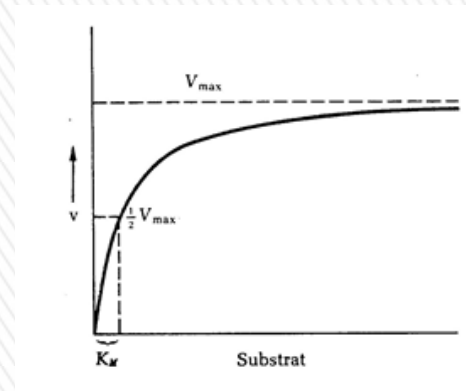
$$V_{\max} = k_{+2} [E_T]$$

$$\Rightarrow V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

équation de Michaelis-Menten

équation de vitesse pour une réaction enzymatique à 1 substrat

Rq : La $[E]$ n'apparaît pas dans cette expression.

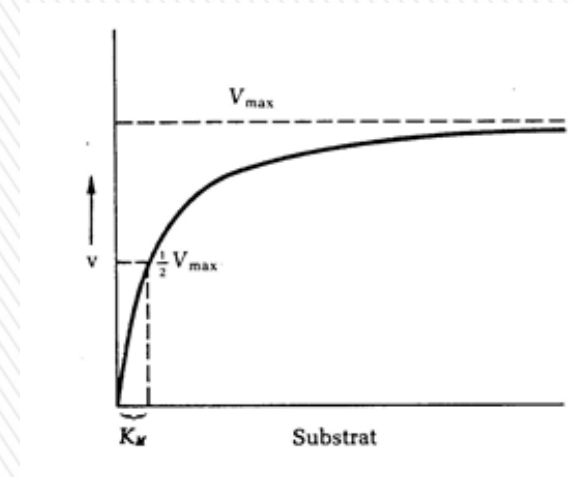


Cinétique enzymatique

$$\Rightarrow V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]}$$

lorsque $V_0 = \frac{1}{2} V_{\max}$

$$\rightarrow \frac{V_{\max}}{2} = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]} \text{ ou } K_M + [S] = 2 [S] \rightarrow K_M = [S]$$



K_M est donc égal à la concentration de substrat pour laquelle la vitesse de réaction est la moitié de la vitesse maximum ($[S]_{0.5}$); elle s'exprime en moles / L (ou M) et ne dépend pas de la $[E]$.

K_M reflète l'affinité apparente de l'enzyme pour le substrat:

plus le K_M est petit plus l'affinité est grande car pour de faibles $[S]$,
la $V_{\max}$ est plus rapidement atteinte
et vice- versa

Cinétique enzymatique

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_M + [S]} \quad \text{équation de Michaelis-Menten}$$

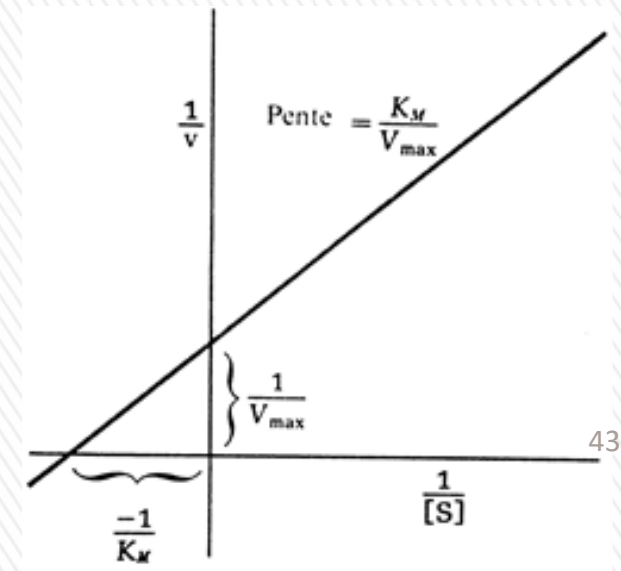
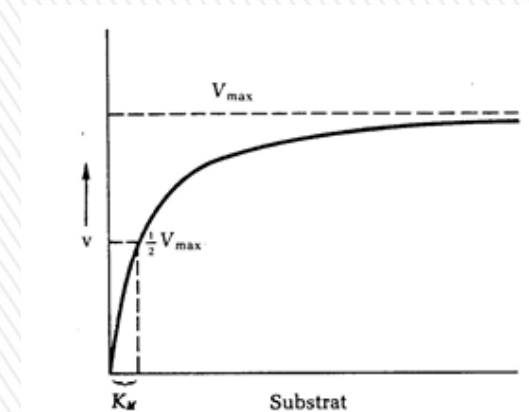
Différentes transformations de l'équation de Michaelis-Menten ont été proposées pour déterminer expérimentalement le K_M et la $V_{\max}$

Exemple:

Quand l'équation de Michaelis-Menten est inversée :

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M + [S]}{V_{\max} [S]} = \frac{K_M}{V_{\max} [S]} + \frac{[S]}{V_{\max} [S]} = \frac{K_M}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

équation de LINWEAVER-BURK (représentation en double inverse)



Enzymes simples et enzymes régulatrices

Comparaison:

- ▶ Contrairement aux enzymes simples (michaeliennes), l'activité des enzymes régulatrices est modulée.



Les caractéristiques cinétiques de l'enzyme pour son substrat sont différentes suivant qu'elle se présente sous sa forme active ou inactive : l'affinité apparente de l'enzyme pour son substrat ($[S]_{0.5}$) et/ou la vitesse maximale ($V_{\max}$) sont modifiées.

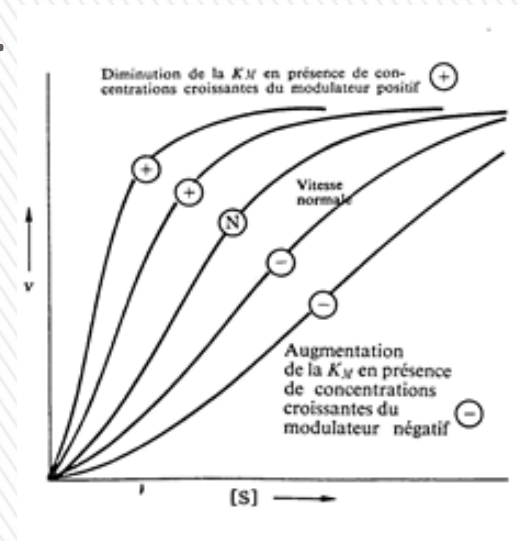
Enzymes simples et enzymes régulatrices

Comparaison:

► Les **enzymes régulatrices** possèdent généralement une **structure tridimensionnelle complexe** ; elles sont fréquemment constituées de **plusieurs chaînes polypeptidiques** (structure quaternaire), alors que les **enzymes de type simple ou michaéliennes** ne comprennent **souvent qu'une seule chaîne** (structure limitée à une structure tertiaire).

► Les **enzymes de régulation** adoptent couramment un comportement **non conforme à la fonction de Michaelis** : **elles n'obéissent pas à la cinétique michaélienne**. Il est dès lors plus

judicieux de **remplacer la caractéristique K_M par $[S]_{0.5}$** .



Enzymes régulatrices : 2 types

Il existe deux principales catégories d'enzymes régulatrices :
les enzymes régulées par mécanisme covalent et les enzymes régulées par mécanisme non covalent (enzymes allostériques).

→ Les **enzymes régulées par mécanisme covalent** sont modulées par **modifications covalentes réversibles** de la molécule enzymatique ;
ce phénomène se produit par addition ou soustraction d'un groupement particulier (groupements phosphate, méthyle, adénylate,..) au niveau d'une chaîne latérale d'un acide aminé de l'enzyme.

La forme enzymatique unie au groupement est soit la forme active soit la forme inactive : c'est du cas par cas !

E-groupement ↔ E

une des formes est active l'autre ne l'est pas

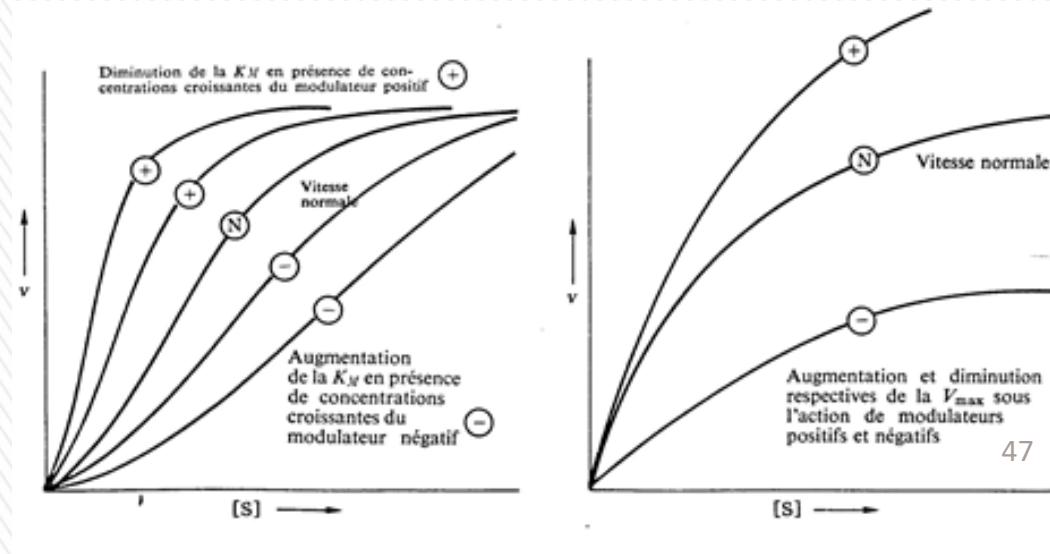
Exemples:

Enzymes régulatrices : 2 types

→ Les **enzymes allostériques** sont quant à elles régulées par la **liaison non covalente de molécules modulatrices**. Les activités catalytiques de ces enzymes peuvent être augmentées par diverses substances, les **effecteurs positifs** (activateurs), et diminuées par d'autres, les **effecteurs négatifs** (inhibiteurs).

Certains de ces effecteurs agissent directement sur le site de fixation du substrat, d'autres se combinent à un site distinct, appelé **allostérique**.

La fixation de l'effecteur induit un changement de forme ou de conformation de l'enzyme entraînant à son tour une modification de $[S]_{0.5}$ et/ou de V_{max} .



Exemples:

Sylviane Delannay

Enzymes régulatrices

Le **phénomène de coopérativité** est également une notion à envisager lors de l'étude d'une enzyme allostérique.

Un effet coopératif n'est concevable que si la protéine possède **plusieurs sites de fixation pour le même composé** et se définit comme l'effet déclenché par la fixation des premières molécules de ligand sur les autres sites pour ce ligand de la macromolécule.

La fixation d'un ligand sur l'un de ces sites peut modifier le comportement des autres sites vis à vis de ce ligand en facilitant ou défavorisant la fixation de davantage de ligand, on dit que ce ligand exerce un effet coopératif.

I - 4 Introduction:

Lois de la thermodynamique

La **première loi** est le **principe de conservation de l'énergie** :

dans un processus donné, l'**énergie totale** du système et du milieu extérieur demeure constante. L'énergie subit des modifications (chaleur,..) mais rien ne se crée, ni se perd.

La **seconde loi** précise que tous les processus tendent à évoluer dans le sens où l'**entropie du système et du milieu extérieur** (c.à.d. l'entropie de l'univers) augmente jusqu'à atteindre un équilibre où l'entropie est maximum dans les conditions de température et de pression données.

I - 4 Introduction:

Lois de la thermodynamique

Il est très difficile de mesurer l'entropie ; par contre, la variation d'entropie est reliée à une grandeur plus abordable : **l'énergie libre**.

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

variation d'énergie libre du système	=	variation d'enthalpie	-	T°		variation d'entropie absolue
---	---	--------------------------	---	----	--	---------------------------------

Entropie (S) = reflet du désordre ; toute réaction chimique tendant à diminuer l'ordre dans une molécule (ex. hydrolyse d'une protéine en acides aminés) est favorable sur le plan énergétique.

Tout composé chimique possède une énergie interne qui peut être déterminée (sous forme de chaleur) par combustion totale dans un calorimètre. A pression constante, cette énergie est appelée **enthalpie (H)**. Elle n'est pas utilisable en totalité pour fournir un travail.

La fraction utilisable est **l'énergie libre (G)** (< à l'énergie totale).

Ce qui importe au cours d'une réaction chimique, c'est la variation d'énergie libre (**ΔG**).

I - 4 Introduction:

Lois de la thermodynamique

A <-----> B

$$\Delta G = G_B - G_A$$

$$\Delta G = \Delta H - T \Delta S$$

⇒ si $G_B < G_A \Rightarrow \Delta G < 0 \Rightarrow$ diminution de l'énergie libre du système ; la réaction peut se poursuivre spontanément dans le sens $A \rightarrow B$: **réaction exergonique** ;

⇒ si $G_B > G_A \Rightarrow \Delta G > 0 \Rightarrow$ augmentation de l'énergie libre du système ; la réaction ne peut avoir lieu dans le sens $A \rightarrow B$ que grâce à un apport d'énergie: **réaction endergonique**.

I - 4 Introduction:

Lois de la thermodynamique

Relation entre ΔG et constante d'équilibre d'une réaction :

Envisageons maintenant la réaction



(a, b, c, d nombre de molécules de A, B, C D)

La variation d'énergie libre dans une telle réaction est reliée à la constante d'équilibre de la réaction par la relation :

$$\Delta G = \Delta G^\circ + R T \ln \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b}$$

constante des
gaz parfaits
(1,987 cal/mol/°K)

T
t°
absolue (°K)

ΔG = variation d'énergie libre standard c.à.d. constante représentant la mesure de la variation d'énergie libre de la réaction considérée dans des conditions standards ;
quand A, B, C et D sont à une concentration de 1mole/litre => $\Delta G = \Delta G^\circ$

I - 4 Introduction:

Lois de la thermodynamique

A l'équilibre : $\Delta G^\circ = - R T \ln K_{eq}$ car $\Delta G = 0$

A 25°C (298°K) et en log, on a : $\Delta G^\circ = - (1,987).(298).(2,303) \log K_{eq}$

$\Delta G^\circ = - 1363 \log K_{eq}$ en cal/mole

Pour calculer ΔG° : détermination des concentrations en réactants et produits

à l'équilibre $\rightarrow$ quand $K_{eq} > 1 \Rightarrow \Delta G^\circ < 0 \Rightarrow$ réaction exergonique

$\rightarrow$ quand $K_{eq} < 1 \Rightarrow \Delta G^\circ > 0 \Rightarrow$ réaction endergonique

Quelques remarques importantes:

- ΔG dépend des concentrations respectives des composés impliqués dans la réaction ; **c'est en réalité le signe de ΔG dans des conditions déterminées qui indique le sens de la réaction** (dans la cellule, les concentrations en biomolécules ne valent jamais 1 mole/litre !).

Si les concentrations en réactants et en produits sont telles que $\Delta G < 0$, la réaction peut se développer dans le sens gauche-droite même si $\Delta G^\circ > 0$;

I - 4 Introduction:

Lois de la thermodynamique

Quelques remarques importantes:

- en énergétique biochimique, l'état de référence est défini à pH = 7 alors qu'en chimie physique, on l'exprime par rapport à une concentration en ions $H^+ = 1 \text{ mole/L}$ c.à.d. pH = 0. La variation d'énergie libre standard à pH 7 est désignée par $\Delta G''$ (pour la distinguer de ΔG° à pH 0) ;
- les valeurs de $\Delta G''$ (à pH = 7) peuvent être différentes à un autre pH, puisque le degré d'ionisation varie en fonction du pH et que les réactions biochimiques dépendent du pH ;
- l'expression actuellement admise est le Kjoule ou joule/mole (Commission Internationale)-on trouve encore souvent Kcalorie ou calorie/mole (1 calorie=4,184 J);
- si on a une succession de réactions : $A \rightarrow B$ $B \rightarrow C$ $C \rightarrow D$
on a pour chaque réaction : $\Delta G''_1$ $\Delta G''_2$ $\Delta G''_3$
la somme des réactions est : $A \rightarrow D$ dont la variation d'énergie libre standard $\Delta G''_T = \sum$ algébrique des $\Delta G''$

I - 5 Introduction: rappel des composés contenant une liaison riche en énergie

Les réactions, qui vont intervenir pour stocker et transporter de l'énergie (sous forme d'ATP), mettent en jeu des liaisons chimiques qui donnent par hydrolyse une variation d'énergie libre négative importante ($\Delta G^{\circ'} < 0$).

On en connaît 5 types :

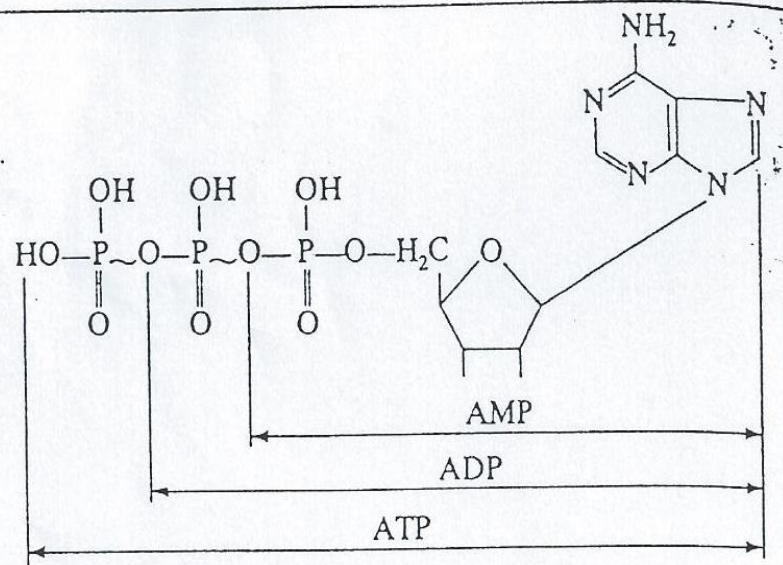
1°) la liaison anhydride phosphorique : ex. l'ATP
(liaison également présente dans les composés GTP, CTP, UTP, TTP, ITP- moins abondants que l'ATP)

I - 5 Introduction: rappel des composés contenant une liaison riche en énergie

Principaux composés à haut potentiel d'hydrolyse

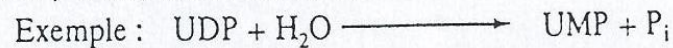
Les plus importants :
ADP, ATP

Liaisons à haut potentiel d'hydrolyse
notées ~.



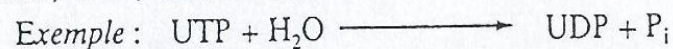
Di- et triphosphonucléosides

ADP, GDP, CDP, UDP, TDP



$$\Delta G'_0 = -30,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

ATP, GTP, CTP, UTP, TTP



$$\Delta G'_0 = -30,5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

I - 5 Introduction: rappel des composés contenant une liaison riche en énergie

2°) la liaison anhydride mixte entre H_3PO_4 et un acide organique : ex. ac. 1,3 diphosphoglycérique

3°) la liaison énolester : ex. phosphoénolpyruvate

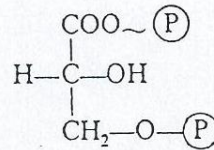
4°) la liaison amide phosphorique : ex. phosphocréatine

5°) la liaison thioester : ex. acétyl CoA

I - 5 Introduction: rappel des composés contenant une liaison riche en énergie

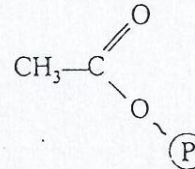
Acylphosphate

acide 1-3-diphosphoglycérique



$$\Delta G'_0 = -49,3 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

acétylphosphate



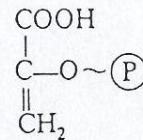
$$\Delta G'_0 = -42,3 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

aminoacylphosphate

$$\Delta G'_0 = -30 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Enolphosphate

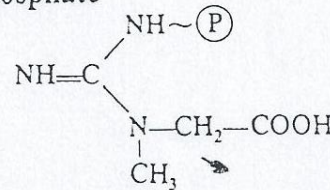
phosphoénolpyruvate



$$\Delta G'_0 = -61,9 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Amidine phosphate ou guanidine phosphate

créatine-phosphate



$$\Delta G'_0 = -43,1 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

arginine-phosphate

$$\Delta G'_0 = -32,2 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Acylthioesters

Acétyl-coenzyme A

I - 5 Introduction: rappel des composés contenant une liaison riche en énergie et du rôle des cofacteurs réduits

Les cofacteurs réduits (NADH, FADH₂,...) donnent leurs électrons à la chaîne de transport des électrons....

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

LA GLYCOLYSE est un **système multienzymatique** qui dégrade des biomolécules glucidiques et récupère de l'énergie.

C'est une voie catabolique du glucose, faisant partie de ce qu'on appelle les **fermentations anaérobiques**, qui représente le mécanisme le plus simple et (peut être) le plus primitif pour "extraire" l'énergie des molécules initiales.

- la combustion du glucose dans l'air:



- l'oxydation complète du glucose dans la cellule vivante à laquelle participe la glycolyse:



La synthèse de chaque ATP "rapporte" à la cellule entre 7 et 8 Kcal (7,3 Kcal = 30,5 KJ); la combustion du glucose rapporte donc $7,3 \times 38 = 277,4$ Kcal (= 1159,5 KJ).

Le rendement énergétique est égal à $277,4 \text{ Kcal} \times 100 / 686 \text{ Kcal} = 40,4 \%$, ce qu'aucune machine thermodynamique construite par l'homme n'a jamais pu atteindre jusqu'à présent!

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

La glycolyse est une séquence de **10 réactions** cataboliques catalysées par **des enzymes localisées dans le cytoplasme** et indépendantes les unes des autres.

Il est à remarquer que certains biochimistes incluent une réaction supplémentaire dans la voie glycolytique (la transformation du pyruvate en lactate = une des fermentations anaérobiques possible du glucose); ils présentent dans ce cas la glycolyse comme une séquence de 11 réactions.

Dans cet ouvrage, nous considérerons **le pyruvate comme point d'aboutissement de la glycolyse** et par la suite, nous envisagerons les "devenirs" du pyruvate dans différentes cellules de différents organismes en présence et en absence d'oxygène.

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

Tous les intermédiaires de la glycolyse sont des métabolites phosphorylés dont le groupement phosphate semble avoir 3 fonctions:

- chaque molécule intermédiaire possède plusieurs ions chargés négativement (entre 3 et 4 à pH 7) ce qui interdit le passage à travers la membrane cellulaire par simple diffusion → pas de pertes de métabolites;
- les groupements phosphates interviennent d'une manière générale comme groupes de reconnaissance des complexes enzyme-substrat;
- conservation de l'énergie, puisque ces phosphates seront finalement retrouvés dans l'ATP.

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

Deux grandes phases:

Phase I = phase préparative: 5 réactions

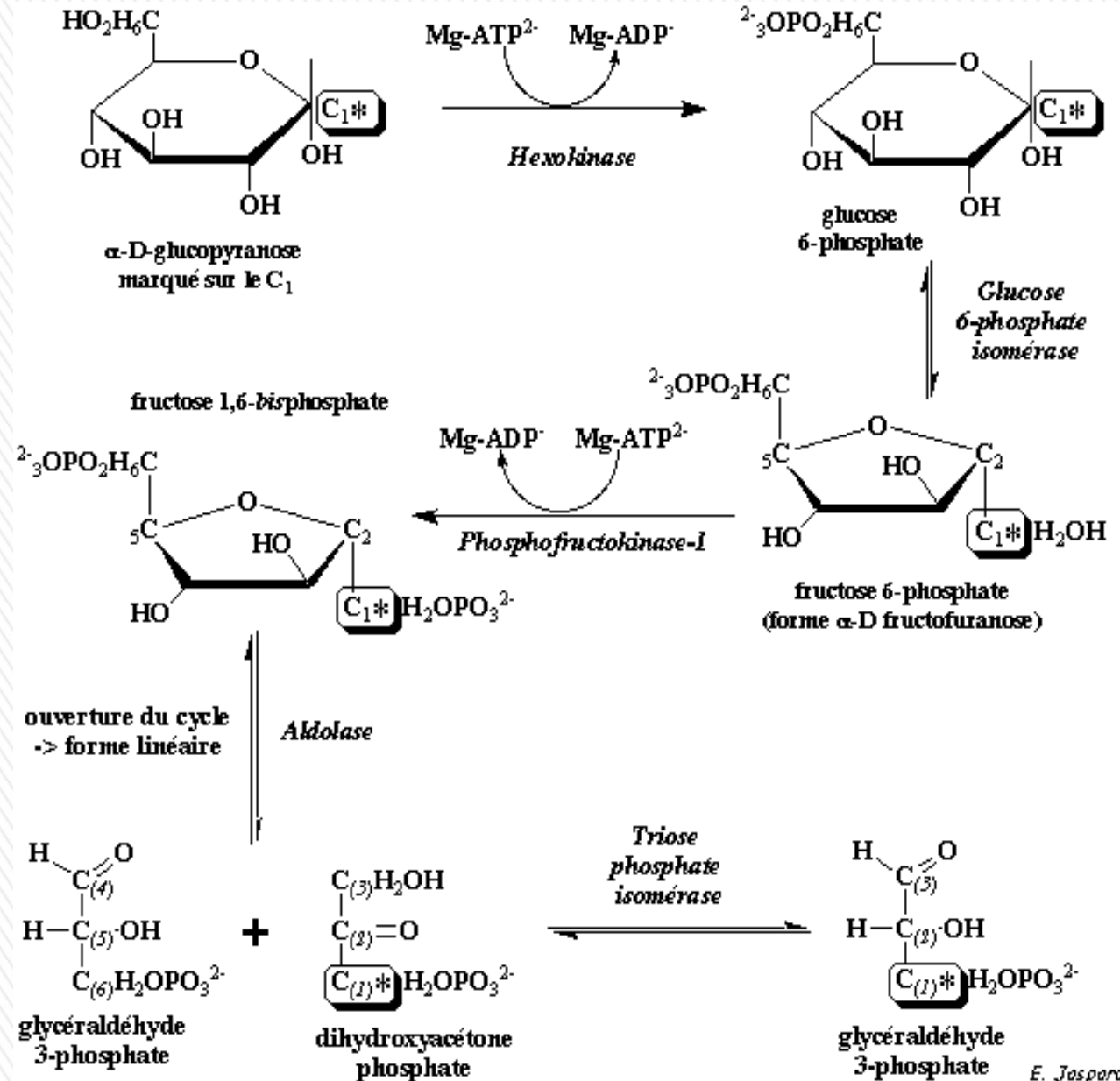
Transformation du glucose en 2 molécules de glycéraldéhyde 3 phosphate.

Au cours de cette phase:

- il y a consommation d'ATP: investissement de 2 molécules d'ATP/molécule de glucose;
- les différents monosaccharides sont convertis en glucose 6 phosphate ou en métabolites intermédiaires de cette 1^{ère} phase (convergence de la dégradation des chaînes carbonées des différents monosaccharides vers une même voie).

II – 1 – 1 Glycolyse - Introduction

1^{ère} Phase:



II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

Deux grandes phases:

Phase II: 5 réactions

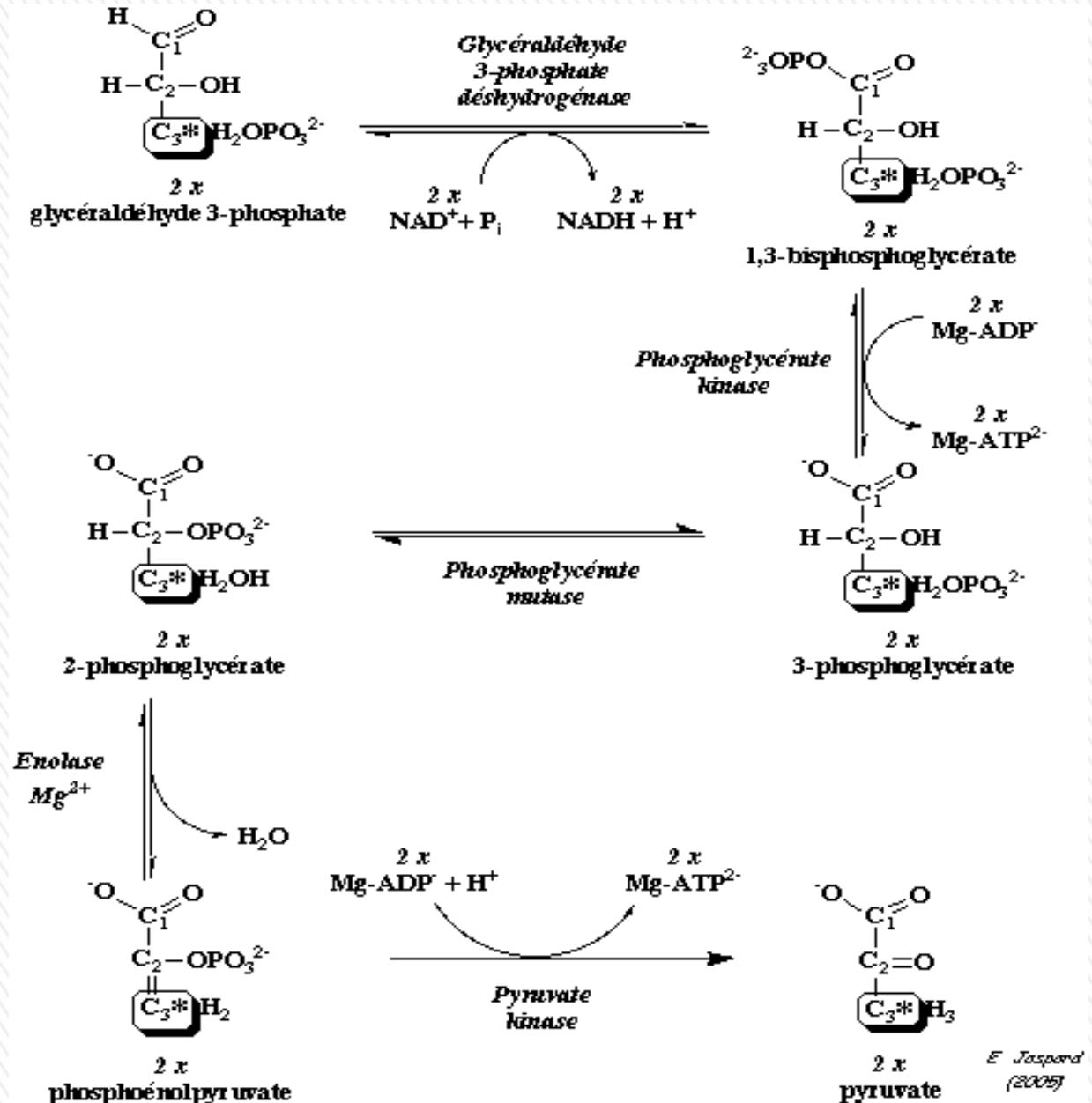
Transformation du glycéraldéhyde 3 phosphate en pyruvate.

Au cours de cette phase:

- il y a production d'ATP: 4 molécules d'ATP produites/molécule de glucose; lors d'une réaction d'oxydoréduction, 2 molécules de NADH (Nicotinamide Adénine Dinucléotide - cofacteur enzymatique) sont générées à partir de 2 molécules de NAD⁺;
- les réactions de cette 2^{ème} phase sont "doublées" car à partir d'une molécule de glucose 2 molécules de glycéraldéhyde 3 phosphate sont obtenues (attention pour l'établissement du bilan de la glycolyse!)

II – 1 – 1 Glycolyse - Introduction

2ème Phase: X 2

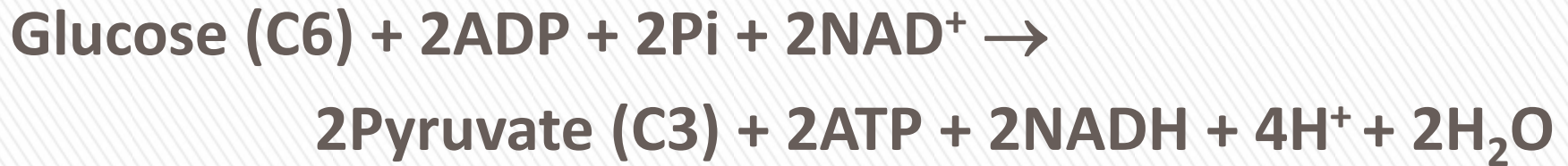


II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

Bilans (1^{ère} approche):



En fonction des organismes vivants, des différents types de cellules tissulaires au sein d'un même organisme ou des conditions d'oxygénation des cellules, les "devenirs" du pyruvate peuvent différer.

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

En aérobiose:

les 2 (NADH + H⁺) générés dans le cytoplasme vont être réoxydés;
les électrons des 2 (NADH + H⁺) sont transmis indirectement (via une navette) aux biomolécules participant à la chaîne de transport des électrons; ces biomolécules sont localisées dans la mitochondrie.

Pourquoi une navette?

Les 2 molécules de pyruvate vont être transportées dans la mitochondrie grâce à une translocase et elles vont être transformées en 2 molécules d'acétyl CoA et 2 molécules de CO₂.

Ensuite différentes possibilités pour l'acétyl CoA.

Exemples:

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

En anaérobiose (fermentation lactique):



Dans ce cas, les 2 (NADH + H⁺) générés sont réoxydés dans le cytoplasme pour permettre à la glycolyse de se poursuivre.

Pourquoi? Les quantités en NAD⁺ sont limitantes dans la cytoplasme et l'oxydoréductase glycolytique (la glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase) a besoin du cofacteur sous forme oxydée.

La cellule peut momentanément continuer à générer de l'énergie (l'acide lactique devient toxique pour la cellule lorsqu'il s'accumule!).

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 1 Introduction

En anaérobiose (fermentation alcoolique):

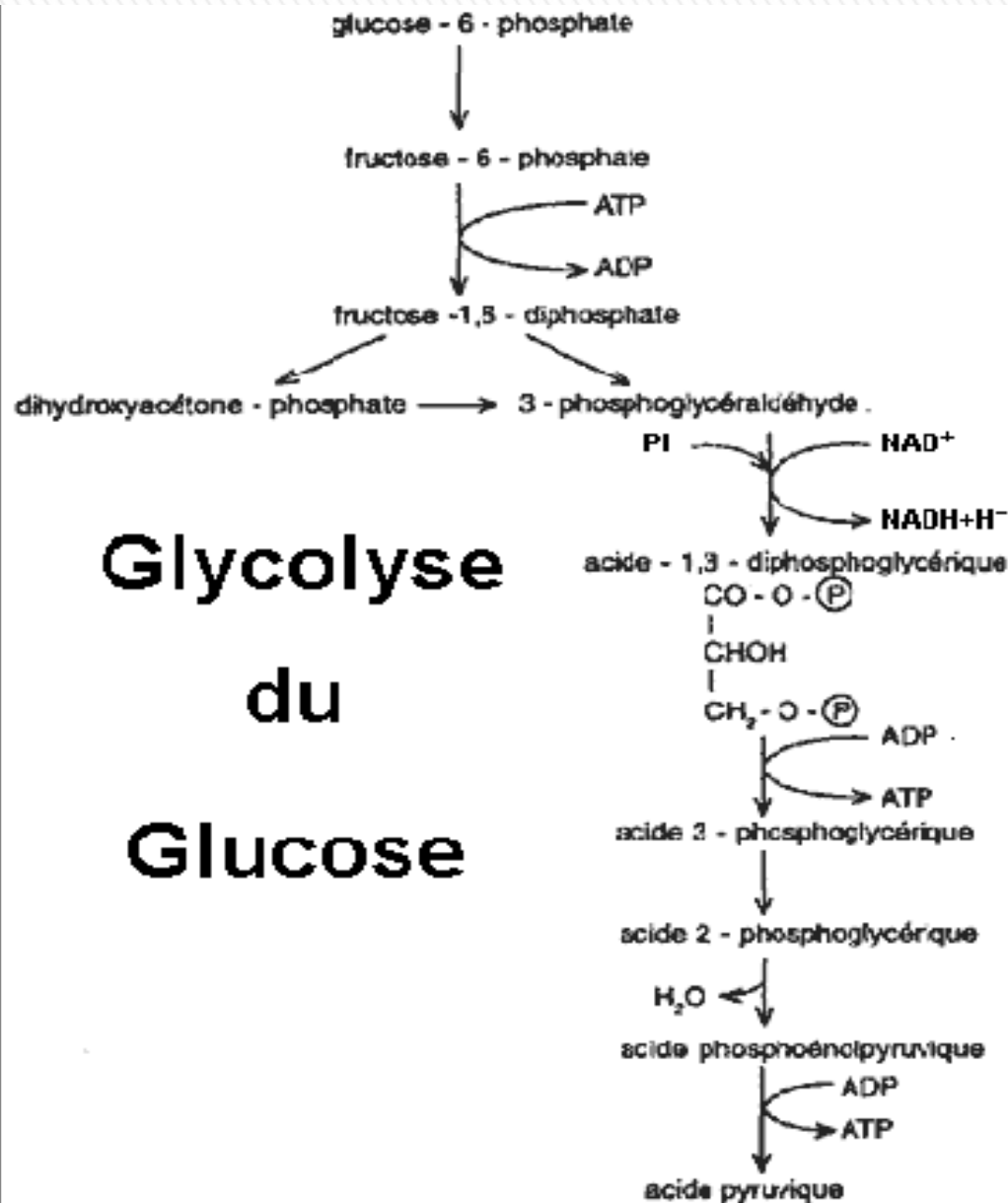


Comme dans le cas précédent, les 2 (NADH + H⁺) générés sont réoxydés dans le cytoplasme.

Pourquoi?

La cellule peut momentanément continuer à générer de l'énergie
(l'acide lactique devient toxique pour la cellule lorsqu'il s'accumule!).

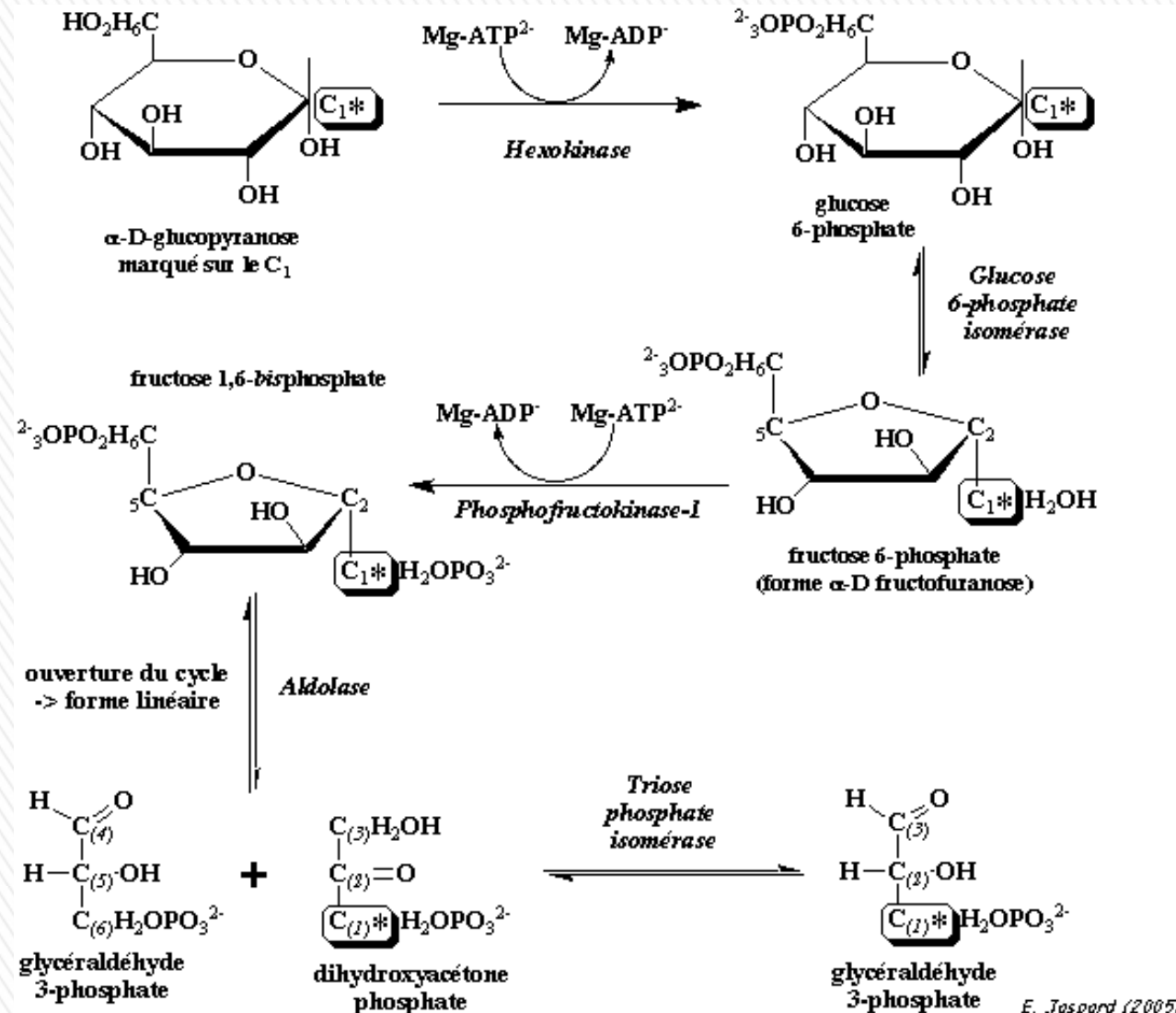
II – 1 – 2 La glycolyse détaillée



II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

1^{ère} Phase:



E. Jaspard (2005)

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Etapes enzymatiques de la 1^{ère} phase de la glycolyse:

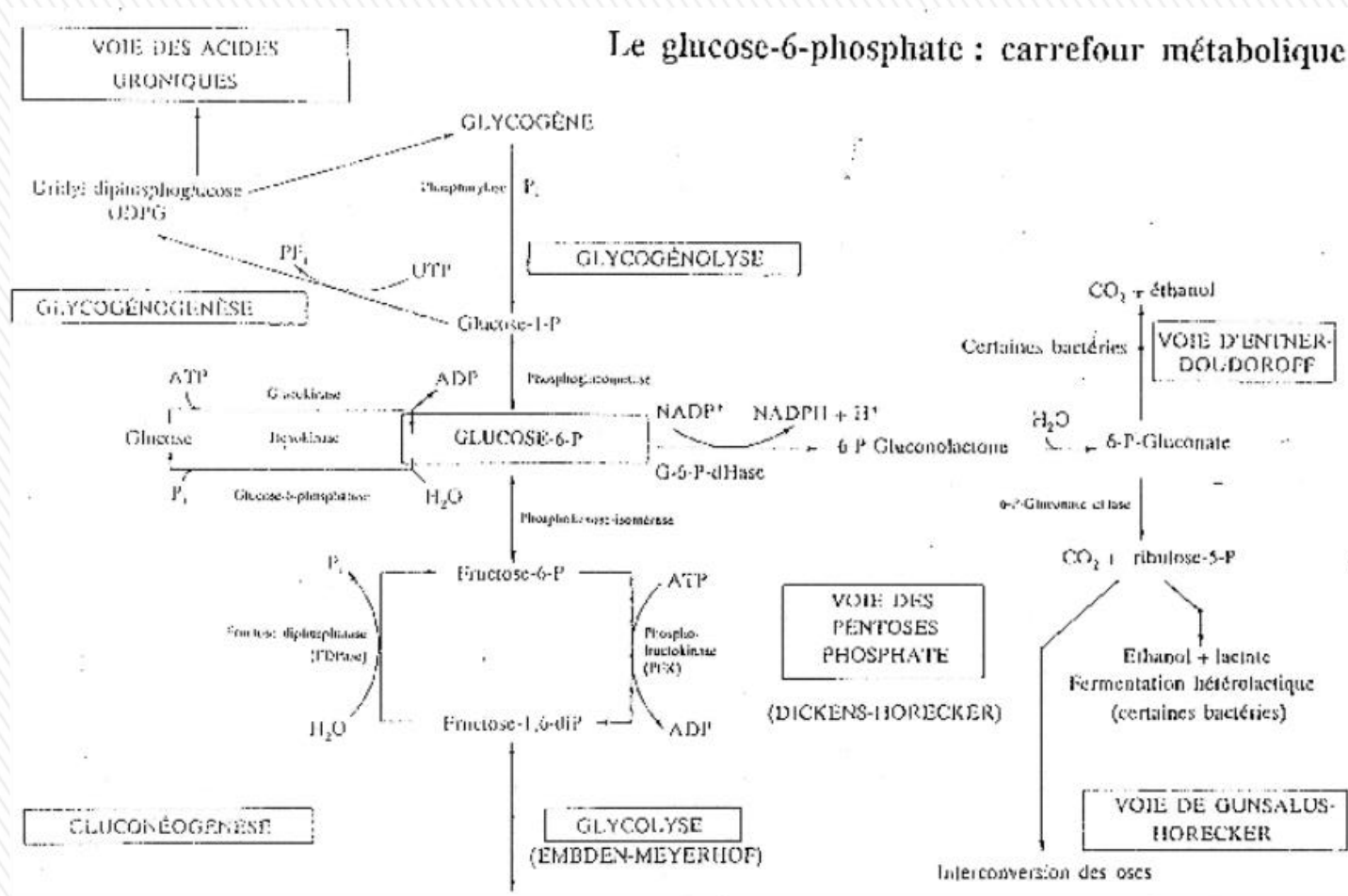
1^{ère} réaction partagée avec la glycolyse, la voie des pentoses phosphates...

Le glucose 6 Phosphate produit de la réaction est à un carrefour métabolique

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 La glycolyse

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

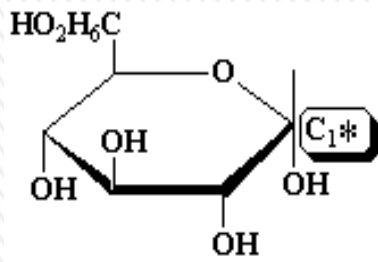


II Catabolisme et bioconversion des glucides

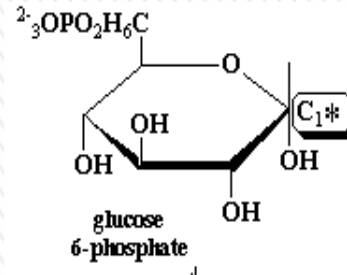
II – 1 La glycolyse

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

1^{ère} réaction: phosphorylation du D-glucose par l'ATP en D-glucose-6-phosphate



Mg^{2+}



hexokinase (dans toutes les cellules de tous les tissus: effecteur - : glucose 6 phosphate)

glucokinase (dans les cellules hépatiques)

$\Delta G^{\circ} = -4,0 \text{ Kcal/mole } (-16,7 \text{ KJ/mole}); K_{\text{eq}} = 650; \Delta G' = -8,0 \text{ Kcal/mole}$

Les **kinases** sont des **transférases** (enzymes appartenant à la classe N°2); elles transfèrent un groupement phosphate provenant de l'ATP sur un substrat.

Ces enzymes requièrent comme **cofacteur du Mg^{2+}** ; les substrats de ces enzymes sont le **Mg^{2+} -ATP³⁻** et une autre biomolécule qui sera phosphorylée à l'issue de la catalyse.

Il s'agit d'une réaction enzymatique à 2 substrats minimum.

Nom spécifique de l'enzyme:

nom du substrat à phosphoryler + Kinase (**phosphotransférase**).

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Comparaison de l'hexokinase et la glucokinase:

hexokinase (PM 104000 - 2 sous-unités identiques):

- enzyme qui intervient dans la plupart des cellules;
- elle catalyse la phosphorylation d'autres hexoses, tels le D-fructose, le D-mannose, le D-glucosamine;
- la valeur de son K_M pour le glucose est de 0,1 mM;
- elle existe sous différentes formes isoenzymatiques;
- le glucose-6-phosphate inhibe l'activité enzymatique; l'hexokinase est donc une enzyme régulatrice. En présence de quantité importante de glucose-6-phosphate, la cellule arrête d'en produire, ce qui présente un mécanisme d'économie pour la cellule (inhibition par le produit de la réaction).

glucokinase (PM 15 - 20 10⁵):

- elle est présente essentiellement dans les cellules hépatiques (cellules du foie);
- elle catalyse la phosphorylation du D-glucose uniquement;
- la valeur de son K_M pour le glucose est de 10 mM;
- elle n'est pas inhibée par le glucose-6-phosphate.

Les valeurs de K_M pour le glucose sont respectivement pour l'hexokinase et la glucokinase de 0,1 mM et de 10 mM, ce qui signifie que l'hexokinase est saturée à la concentration normale de glucose sanguin ($\pm$ 3mM). La glucokinase n'intervient que lorsque la [glucose] sanguin considérablement.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Remarque concernant la réaction inverse (néoglucogénèse):

La voie antagoniste à la glycolyse est la néoglucogénèse:



La réaction inverse de déphosphorylation par hydrolyse:



D-glucose-6-phosphatase

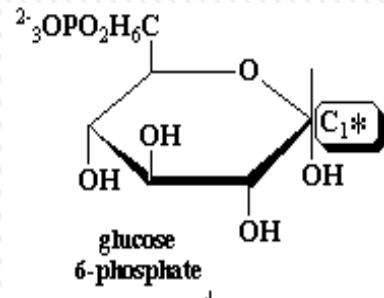
($\Delta G^\circ = -3,3 \text{ Kcal/mole}$ et $K_{\text{eq}} = 210$)

Cette enzyme est présente dans les cellules hépatiques, mais pas dans les cellules musculaires et du cerveau.

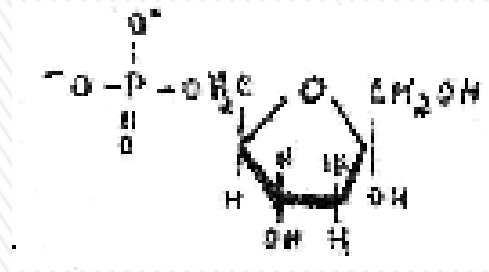
La néoglucogénèse ne se déroule dans sa totalité que dans le foie; seul le foie est habilité à délivrer du glucose dans le sang (car l' $\alpha\text{-D-glucose-6-phosphate}$ ne peut pas passer à travers la membrane cellulaire par simple diffusion et sortir des cellules par la présence du groupement phosphate chargé négativement à pH 7).

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

2^{ème} réaction: isomérisation du D-glucose-6-phosphate en fructose-6-phosphate



Mg²⁺



$$\Delta G^{\circ'} = + 0,4 \text{ Kcal/mole}; K_{\text{éq}} = 0,5; \Delta G' \text{ proche de } 0 \text{ Kcal/mole}$$

La réaction est aisée dans les deux sens; l'enzyme est spécifique à l' α -D-glucose-6-phosphate et à l' α -D-fructose-6-phosphate.

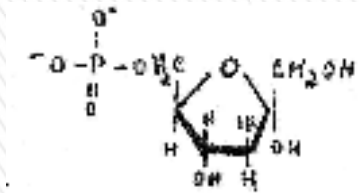
$$K_{\text{éq}} = \frac{[\alpha\text{-D-fructose-6-phosphate}]}{[\alpha\text{-D-glucose-6-phosphate}]} = 0,5$$

L'enzyme a été isolée et purifiée à partir de cellules musculaire (PM 130.000, dimère).

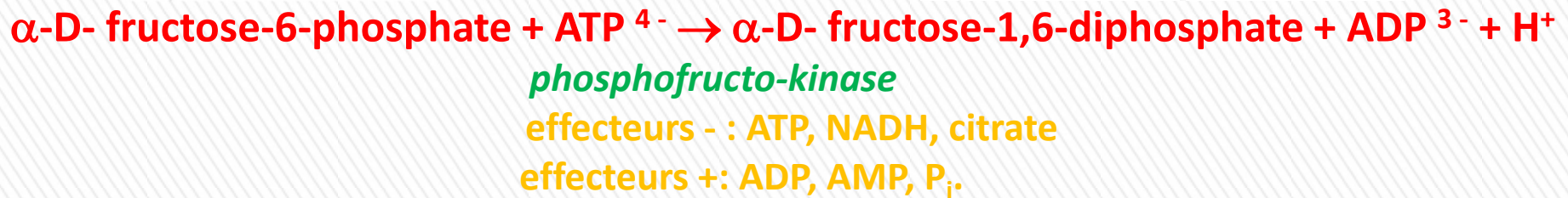
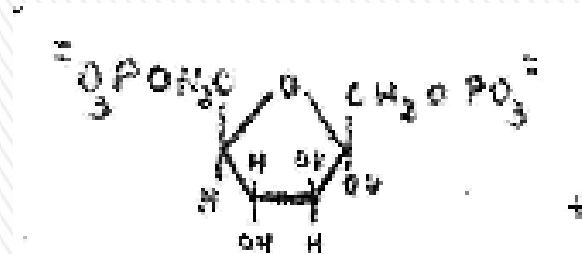
Sylviane Delannay

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

3^{ème} réaction: phosphorylation du fructose-6-phosphate par l'ATP en fructose-1,6-diphosphate



Mg²⁺



$\Delta G'^{\circ} = -3,4 \text{ Kcal/mole}$; $K_{\text{eq}} = 220$; $\Delta G' = -5,3 \text{ Kcal/mole}$

Cette réaction est un point de contrôle important de la séquence glycolytique.

La **phosphofructokinase** est une **enzyme régulatrice** dont l'activité est influencée (modulée) par de **nombreux effecteurs**.

Ce type d'enzyme dénommée **allostérique** possède plusieurs sous-unités et présente un poids moléculaire élevé (PM 380.000). Elle peut changer de conformation lors de la fixation (par liaisons faibles) des effecteurs en leur site allostérique.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

ATP, NADH, AMP, ADP et Pi jouent le rôle d'effecteur pour de nombreuses enzymes régulatrices catalysant les réactions métaboliques.

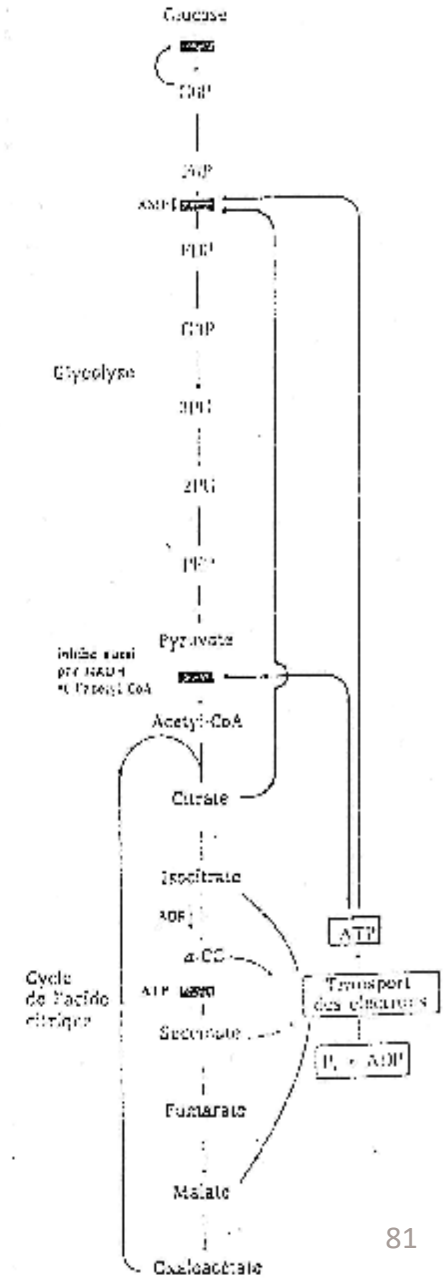
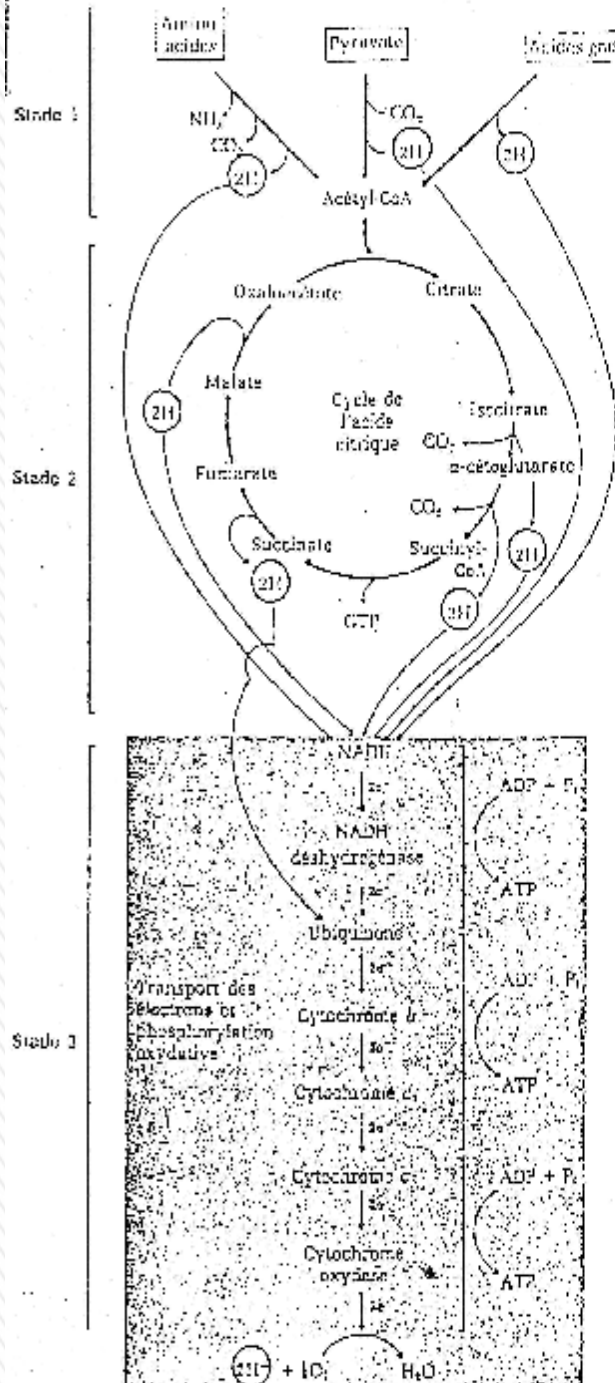
Pour les enzymes allostériques catalysant les réactions de contrôle des voies cataboliques:

- ATP et NADH sont fréquemment des effecteurs négatifs;
- AMP, ADP et Pi jouent souvent le rôle d'effecteurs positifs.

Pour les étapes de régulations des voies anaboliques, l'effet de ces effecteurs est antagoniste.

Pourquoi ces effecteurs produisent-ils ces effets de manière systématique?

II-1-2 La glycolyse détaillée



II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Pourquoi est-ce la phosphofructokinase le réel "pace maker" de la glycolyse?

Pourquoi la 1^{ère} réaction de la glycolyse n'est-elle pas le point le plus important de régulation de cette voie?

1^{ère} réaction est partagée avec la glycolyse, la voie des pentoses phosphates...

Le glucose 6 Phosphate produit de la réaction est à un carrefour métabolique

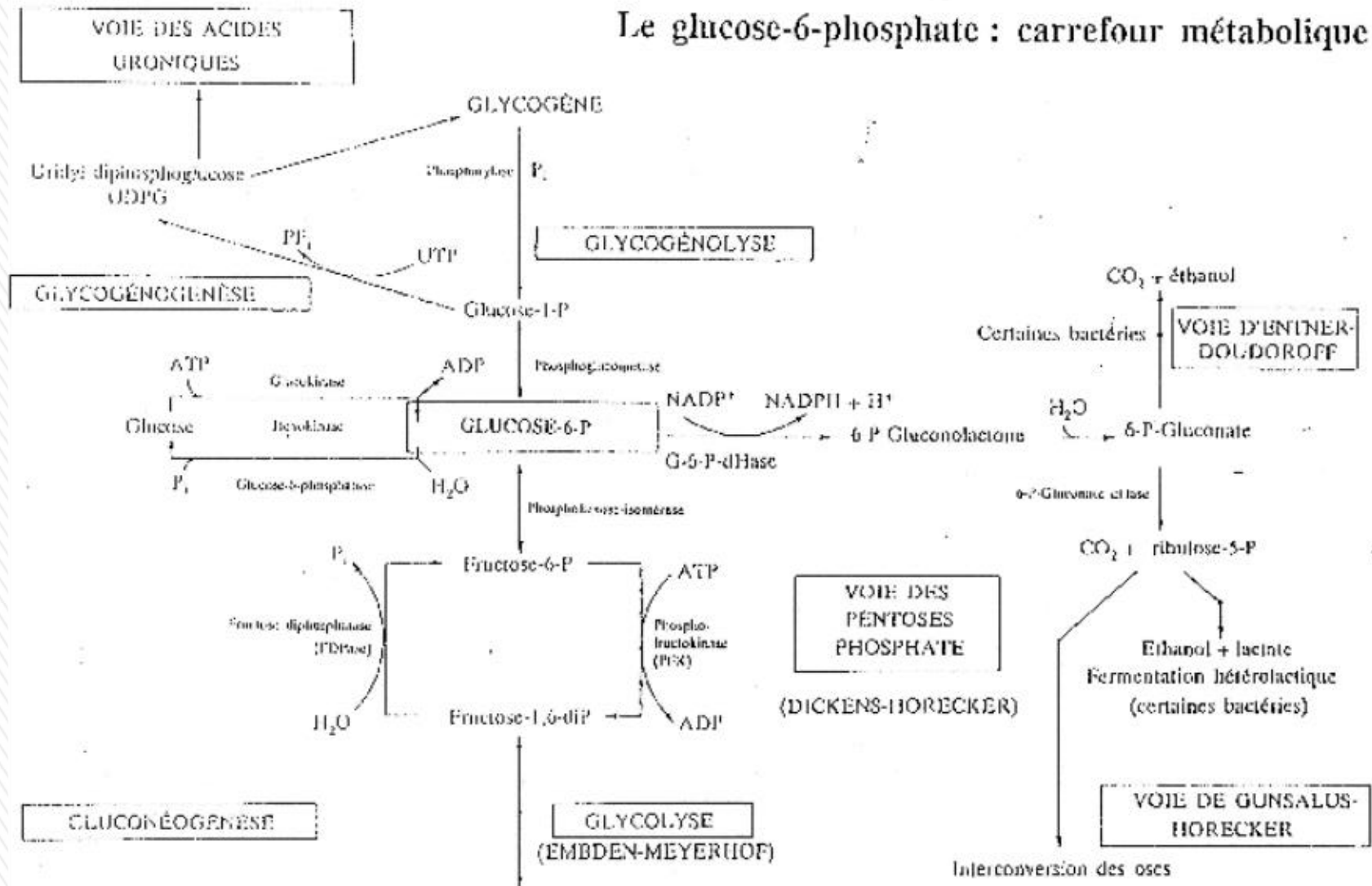
Réguler la glycolyse au niveau de cette 1^{ère} réaction reviendrait à réguler toutes les autres voies à l'unisson.



II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Le glucose-6-phosphate : carrefour métabolique



II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Remarque concernant la réaction inverse (néoglucogénèse):

La réaction inverse de déphosphorylation par hydrolyse:



D-fructose-1,6-diphosphatase

effecteurs - : ADP, AMP, P_i.

effecteurs + : ATP, NADH, citrate

($\Delta G^\circ = -4,0$ Kcal/mole et $K_{\text{eq}} = 650$)

L'enzyme est un tétramère (sous-unités non identiques) de PM $\pm$ 130.000 présente dans le cytoplasme, comme la **phosphofructokinase**.

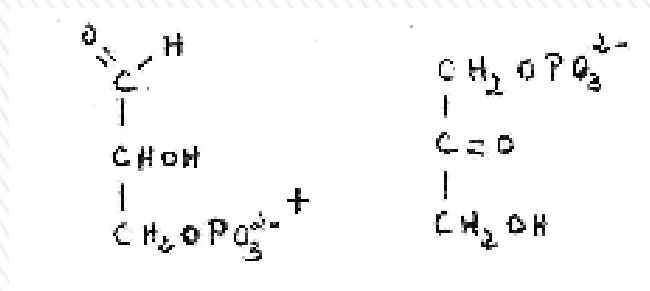
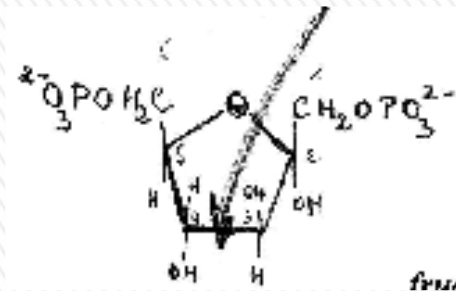
L'enzyme est également allostérique; les effecteurs positifs de la phosphatase sont les effecteurs négatifs de la phosphofructokinase et, l'inverse.

Par cette **régulation « antagoniste »**, on évite ainsi d'avoir un **cycle futile** qui consomme de l'ATP.



II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

4^{ème} réaction: coupure du fructose-1,6-diphosphate en glycéraldéhyde-3-phosphate et dihydroxyacétone-1-phosphate



α -D-fructose -1,6-diphosphate $\leftrightarrow$ glycéraldéhyde -3-phosphate + dihydroxyacétone -1-phosphate

fructose diphosphate aldolase

$\Delta G^{\circ} = + 5,73$ Kcal/mole et $\Delta G' = - 0,3$ Kcal/mole

La réaction réversible dans les conditions cellulaires est catalysée par la *fructose diphosphate aldolase*; son nom dérive de la réaction inverse.

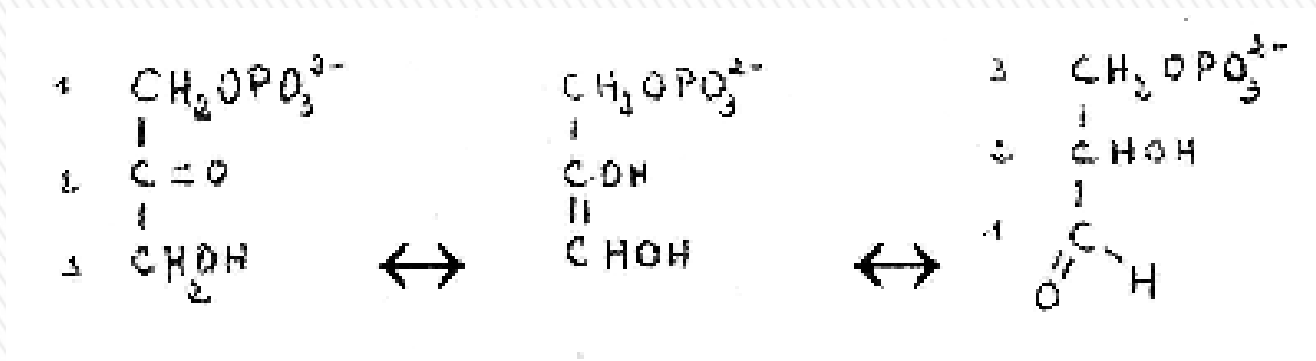
La réaction consiste en un clivage du α -D- fructose-1,6-diphosphate entre les carbones 3 et 4.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

5^{ème} réaction: inter conversion des 2 trioses-phosphates

Seul le **glycéraldéhyde-3-phosphate** est directement dégradé dans les étapes suivantes de la glycolyse.

Lors de la catalyse, un intermédiaire (forme énolique) est formé.



dihydroxyacétone -1-phosphate ↔ forme énolique ↔ glycéraldéhyde -3-phosphate
triose phosphate isomérase

$\Delta G^{\circ} = + 1,83 \text{ Kcal/mole}$; $K_{\text{eq}} = 0,075$ et $\Delta G' = + 0,6 \text{ Kcal/mole}$

A l'équilibre:

96 %

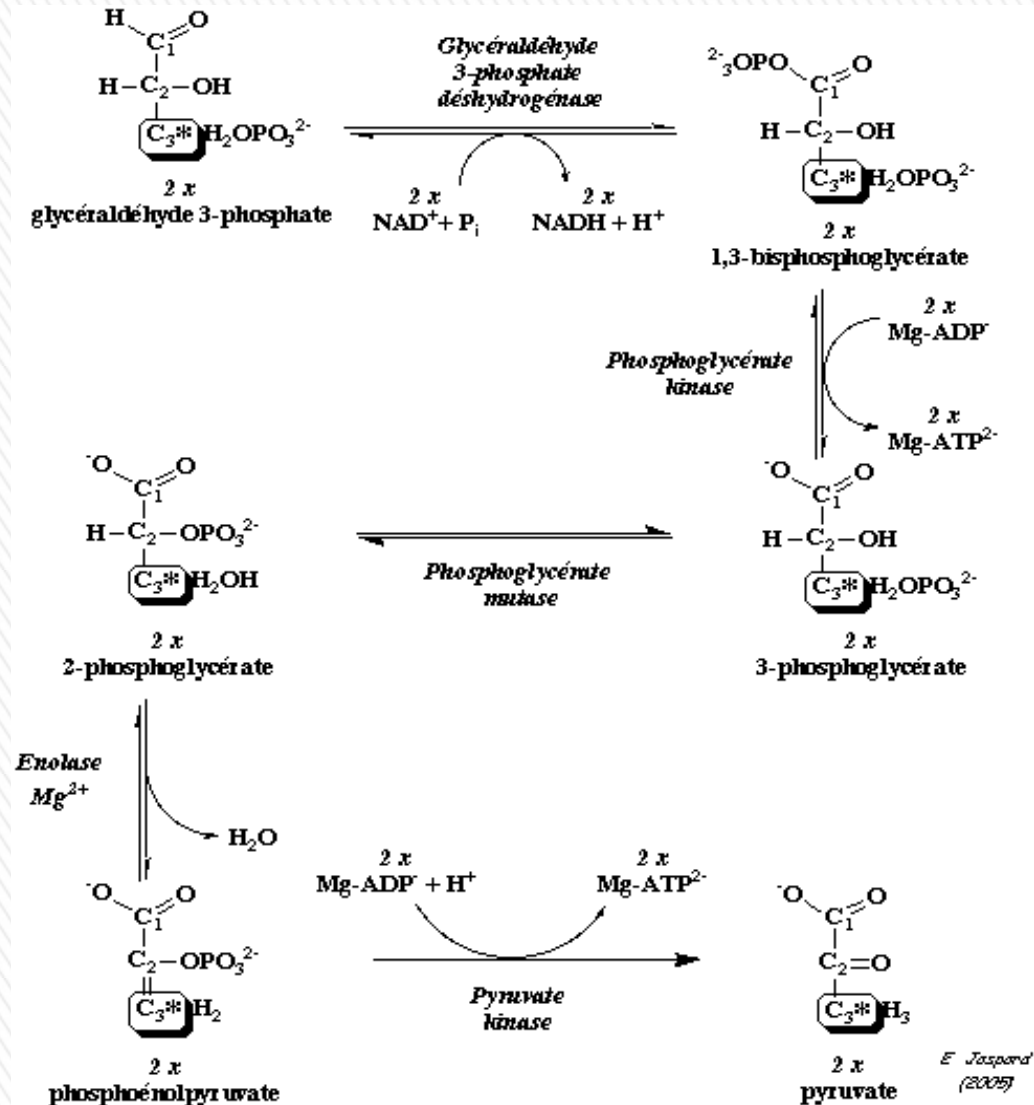
4 %

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

2^{ème} Phase:

X 2



II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Etapes enzymatiques de la 2^{ème} phase de la glycolyse:

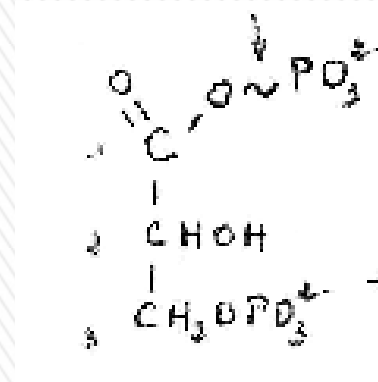
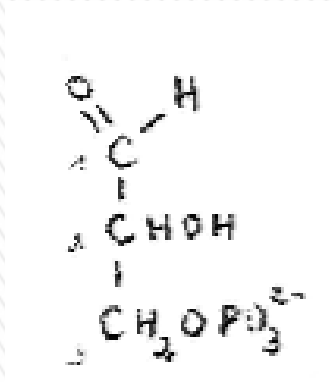
D'autres hexoses sont aussi clivés en **glycéraldéhyde-3-phosphate** dont la transformation se poursuit par cette 2^{ème} phase.

Cette phase comprend une oxydoréduction et des phosphorylations permettant de générer de l'ATP.

Les réactions de cette 2^{ème} phase sont "doublées" car à partir d'une molécule d'hexose, 2 molécules de glycéraldéhyde-3-phosphate sont obtenues.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

6^{ème} réaction: oxydation du glycéraldéhyde-3-phosphate en 1,3 diphosphoglycérate (phosphoglycéroyl-phosphate)



glycéraldéhyde -3-phosphate + NAD⁺ + Pi ↔ 1,3 diphosphoglycérate + NADH + H⁺

glycéraldéhyde -3-phosphate deshydrogénase

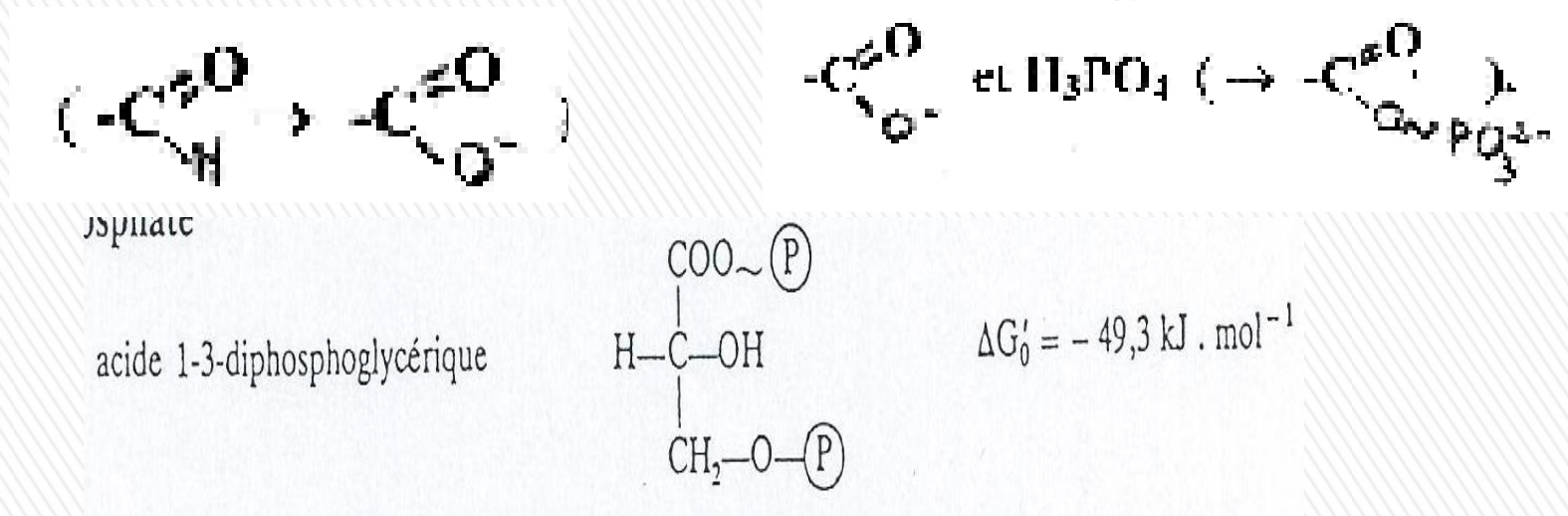
$\Delta G^{\circ} = + 1,5 \text{ Kcal/mole}$ et $\Delta G' = - 0,4 \text{ Kcal/mole}$

La **glycéraldéhyde -3-phosphate deshydrogénase** est constituée de 4 sous-unités identiques, chacune contenant 330 acides aminés; le poids moléculaire est de 140.000.

Le co-facteur de l'oxydoréductase est le **NAD⁺** (Nicotinamide Adénine Dinucléotide).

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Dans cette réaction, le groupe aldéhyde (au C1) est oxydé en un groupe carboxyl qui n'est pas libre mais qui forme un anhydride mixte entre un acide organique et un phosphate.



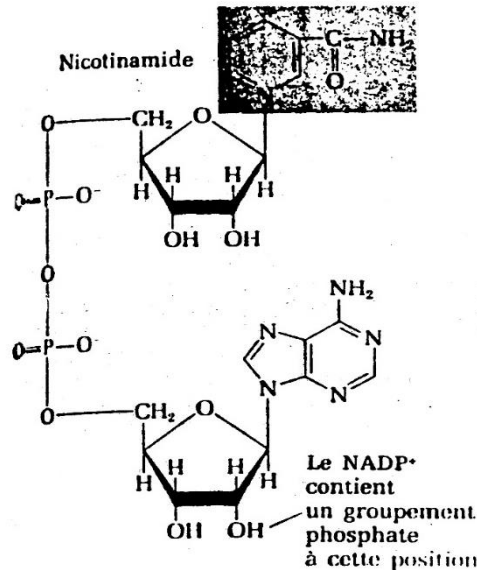
L'énergie issue de l'oxydation de la fonction aldéhyde du glycéraldéhyde -3-phosphate va être conservée dans une liaison riche en énergie dans le produit d'oxydation.

Ce phosphodérivé est très riche en énergie (ΔG° d'hydrolyse du 1,3 diphosphoglycérate = - 11,8 Kcal/mole); le ΔG° d'hydrolyse est plus négatif que celui de l'ATP (ΔG° d'hydrolyse de l'ATP = - 7,3 Kcal/mole).

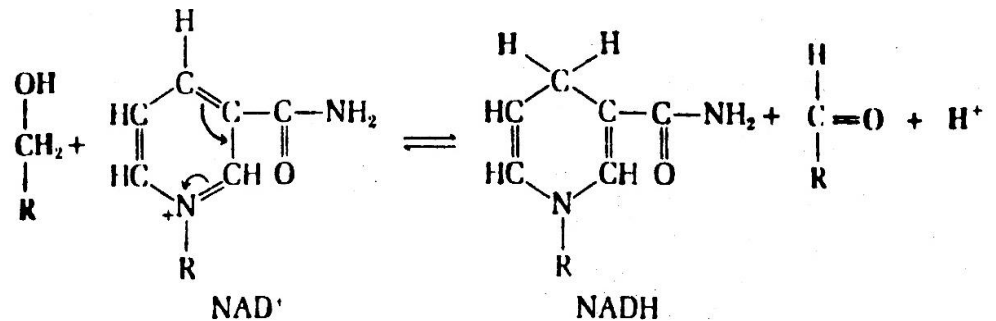
Le potentiel de transfert du 1,3 diphosphoglycérate est plus grand que celui de l'ATP.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Le co-facteur de la **glycéraldéhyde -3-phosphate deshydrogénase** est le **NAD⁺** (Nicotinamide Adénine Dinucléotide); il intervient comme accepteur d'électrons du groupe aldéhyde du glycéraldéhyde-3-phosphate; la prise en charge des électrons se fait au niveau du noyau nicotinamide (dérivé de vitamine B3).



Les nucléotides pyridiniques jouent le rôle de collecteurs



Formes oxydées du Nicotinamide Adénine Dinucléotide (NAD⁺) et du Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate (NADP⁺); la nicotinamide (encadré) est une vitamine du groupe B et constitue la partie de la molécule participant au transfert des électrons.

Mécanisme réactionnel général d'une oxydation de substrat par une oxydoréductase utilisant comme cofacteur NAD⁺: la réduction du NAD⁺ s'effectue par transfert enzymatique d'un ion hydrure (:H⁻) du substrat (S désigné par R-CH₂-OH) à la position 4 du noyau nicotinamide du NAD⁺; celui-ci est réduit en position 1 et 4 => NADH (les 2 équivalents réducteurs sont transférés du substrat au NAD⁺); l'autre atome d'hydrogène de la molécule de substrat apparaît sous forme de H⁺ dans le milieu:



Le NAD⁺ est un co-enzyme c-à-d une molécule organique liée par liaisons faibles au niveau du site actif de l'enzyme, sa présence est indispensable pour la réaction catalytique.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

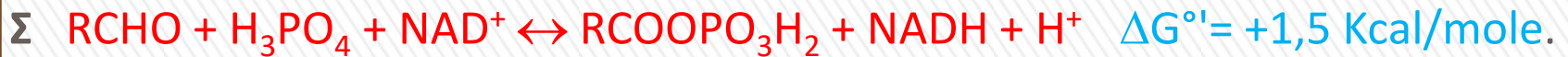
La réaction globale a une valeur de $\Delta G^{\circ'} = + 1,5 \text{ Kcal/mole}$ et de $\Delta G' = - 0,4 \text{ Kcal/mole}$; elle peut donc évoluer dans les deux sens sans grande difficulté.

Détail du schéma réactionnel en deux processus pour analyser les variations d'énergie :

- réaction partielle exergonique:

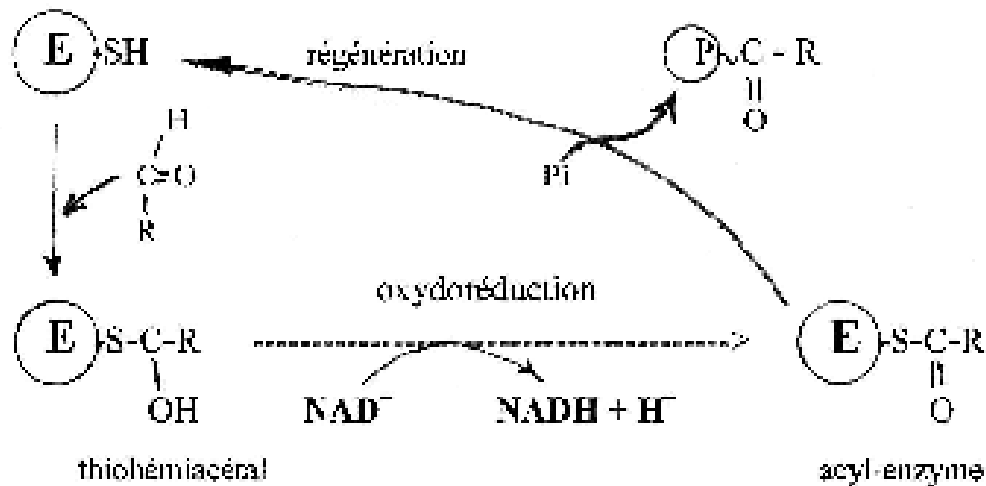


- réaction partielle endergonique:



Le processus endergonique (formation de la liaison riche en énergie, réaction b) est rendue possible par le couplage avec un processus exergonique (réaction a) ;
il s'agit d'un système de balancier énergétique.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée



Explication du mécanisme réactionnel d'oxydation du glycéraldéhyde-3-phosphate en 1,3 diphosphoglycérate :

- 1°) Le **glycéraldéhyde-3-phosphate** réagit avec un groupement sulfhydryl ($-SH$) d'un résidu cystéine situé dans le site actif de l'enzyme; il y a formation d'un thiohémiacétal.
- 2°) La glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase requiert spécifiquement NAD^+ comme coenzyme. Un ion hydrure ($:H^-$) du substrat est transféré enzymatiquement au NAD^+ (transfert de 2 équivalents réducteurs) (**Fig. 12**); l'autre atome d'hydrogène de la molécule de substrat apparaît sous forme de H^+ dans le milieu. Au cours de ce processus, un acyl-enzyme de haute énergie est formé.
- 3°) Le composé hautement énergétique réagit avec un phosphate inorganique (P_i) pour former le 1,3 diphosphoglycérate libre; l'enzyme est libérée sous sa forme initiale.

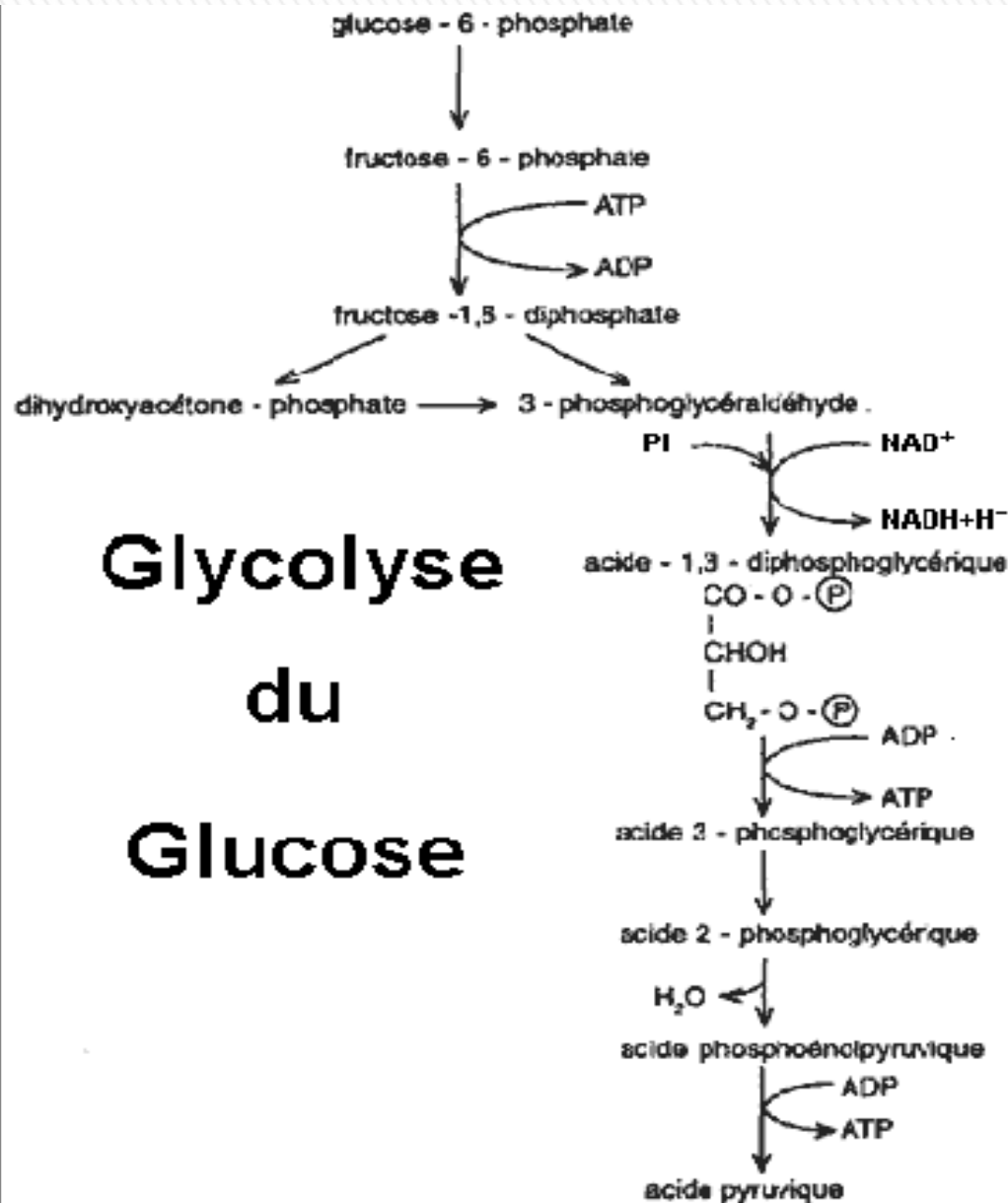
II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Le NAD^+ est en quantité limitée dans le cytoplasme; le NADH formé doit être réoxydé pour permettre à la glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase de continuer à catalyser la réaction!

En fonction des conditions d'oxygénation de la cellule et du type cellulaire, l'oxydation du cofacteur est réalisée différemment.

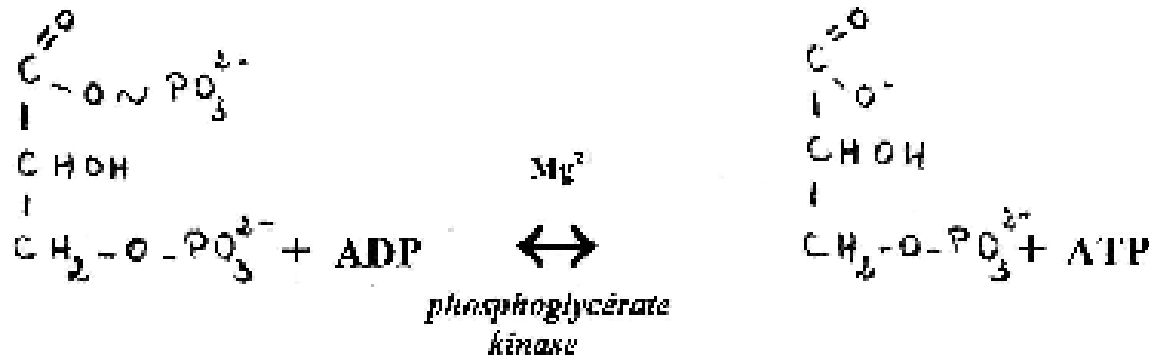
Explication:

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée



II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

7ème réaction: transfert du phosphate du 1,3 diphosphoglycérate sur l'ADP



1,3 diphosphoglycérate

3 phusphoglycérate

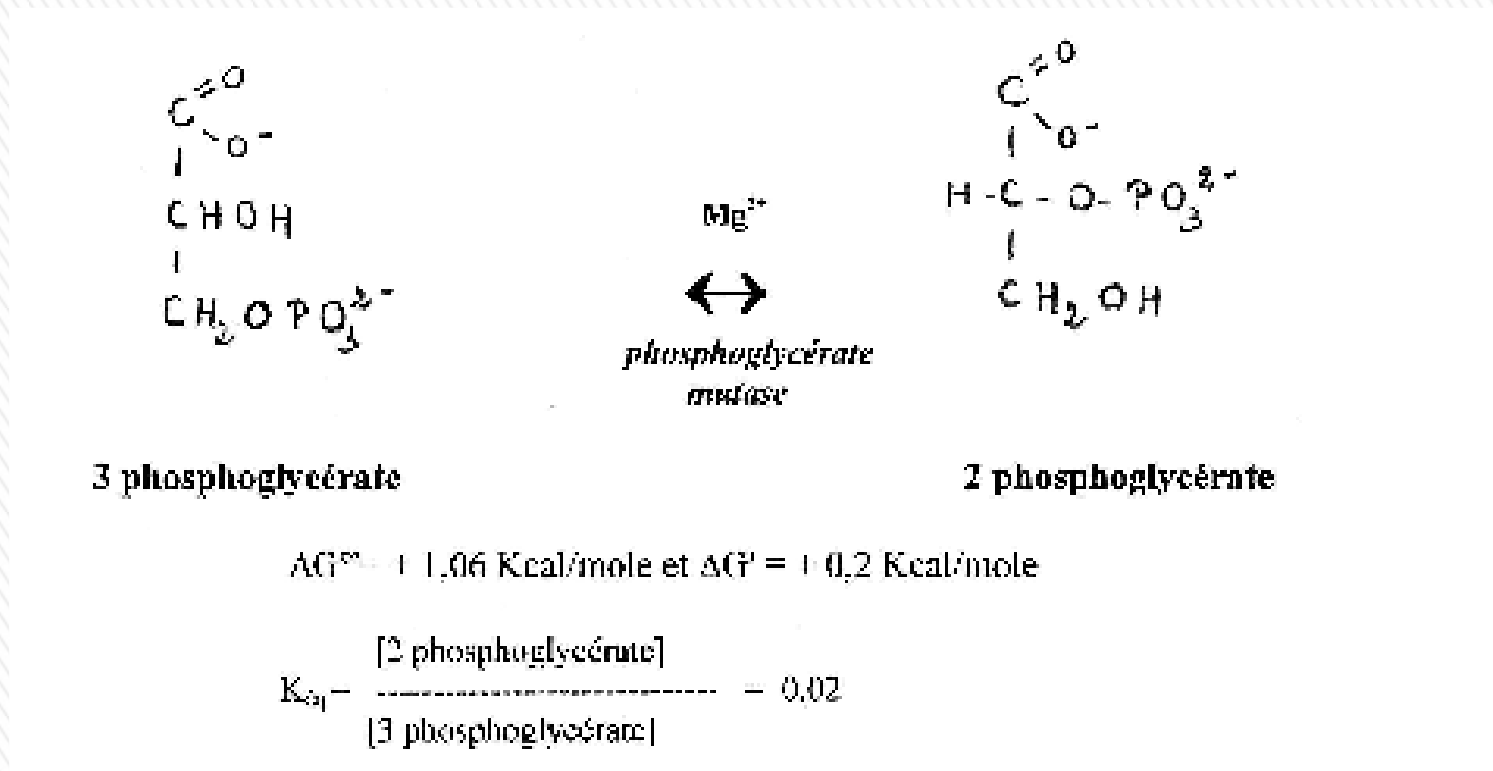
$$\Delta G^{\circ} = -4,5 \text{ Kcal/mole et } \Delta G' = +0,3 \text{ Kcal/mole}$$

$$K_{eq} = \frac{[3 \text{ phosphoglycérate}] [\text{Mg}^{2+}-\text{ATP}^{\text{O}_3^{2-}}]}{[1,3 \text{ diphosphoglycérate}] [\text{Mg}^{2+}-\text{ADP}^{\text{O}_3^{2-}}]} = 1500$$

Il y a conservation de l'énergie sous forme d'une molécule d'ATP par molécule de triose phosphate.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

8^{ème} réaction: transformation du 3-phosphoglycérate en 2-phosphoglycérate

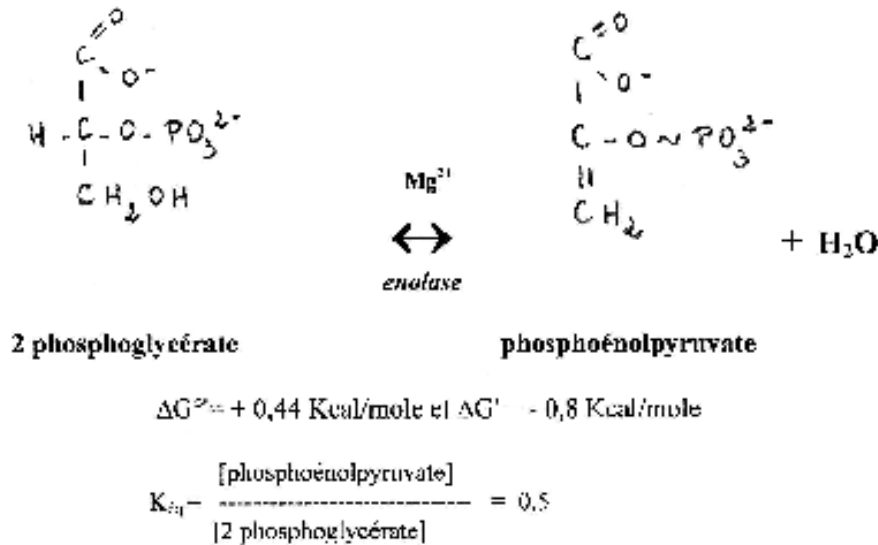


Une mutase est une enzyme qui catalyse le transfert d'un groupement au sein d'une même molécule ; dans ce cas, un groupement phosphate.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

9^{ème} réaction: deshydratation du 2-phosphoglycérate en phosphoénolpyruvate

C'est la 2^{nde} réaction qui va donner un composé contenant une liaison riche en énergie.



ΔG° d'hydrolyse du 2 phosphoglycérate = - 4,2 Kcal/mole

ΔG° d'hydrolyse du phosphoénolpyruvate = - 14,8 Kcal/mole

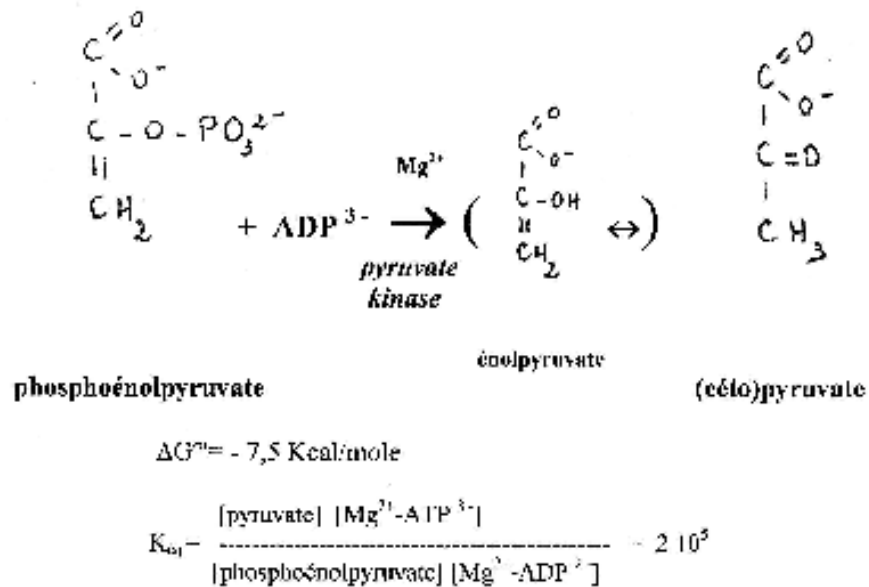
L'énolase (PM 85 à 88000) est un dimère de 2 sous-unités identiques ; des isoenzymes ont été observées dans les cellules des différents tissus.

Le Mg^{2+} forme un complexe avec l'enzyme avant la fixation du substrat.

Bien qu'il ne s'agisse apparemment que du départ d'une molécule d'eau, on peut considérer la réaction comme **une oxydation intramoléculaire** : au cours de la réaction, le carbone 2 devient plus oxydé et le carbone 3 plus réduit. **Il se produit une redistribution de l'énergie à l'intérieure de la molécule.** Le passage de l'une à l'autre molécule a donc modifié considérablement le potentiel de transfert : le potentiel de transfert du groupe phosphate du produit est beaucoup plus élevé que celui du réactif. **On a transformé une liaison phosphate à bas potentiel en une liaison phosphate à haut potentiel énergétique.**

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

10^{ème} réaction: transfert de phosphate du phosphoénolpyruvate sur l'ADP



La réaction est irréversible dans les conditions cellulaires. Le Mg^{2+} est indispensable au bon fonctionnement de l'enzyme.

Il existe différentes formes isoenzymatiques dans les différents tissus; la forme L existe dans le foie tandis que la forme M est retrouvée dans les muscles.

La **pyruvate kinase** est une enzyme **allostérique** activée par le fructose 1,6 di phosphate, le phosphoénolpyruvate et l'ADP; elle est inhibée par l'alanine, le citrate, l'acétyl CoA, les acides gras à longues chaînes et l'ATP.

Lorsque la concentration en ATP est élevée, l'enzyme a peu d'affinité pour le phosphoénolpyruvate ; à l'inverse lorsque la concentration en ATP est faible, l'affinité de l'enzyme pour le substrat augmente.

A pH 7, la forme cétonique du pyruvate prédomine par rapport à la forme énolique; le passage d'une forme à l'autre se fait par une réaction non enzymatique.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

10^{ème} réaction: transfert de phosphate du phosphoénolpyruvate sur l'ADP

Pourquoi y a-t-il une étape de régulation en fin de voie glycolytique ?

Cette dernière réaction de la glycolyse correspond à la 1^{ère} réaction de la voie antagoniste, la néoglucogénèse.

Une voie métabolique doit toujours être régulée au plus tôt.

L'enzyme allostérique catalysant la 1^{ère} réaction de la néoglucogénèse (**pyruvate carboxylase**) n'est active qu'en présence de son **effecteur positif**, l'**acétyl CoA**.

Cet effecteur module de manière antagoniste l'activité de cette enzyme par rapport à la **pyruvate kinase**.

Remarque concernant la réaction inverse (néoglucogénèse):

Il s'agit de le 3^{ème} point de divergence entre glycolyse et néoglucogénèse.

Alors que dans le cadre de la glycolyse, une seule réaction réalisée dans le cytoplasme permet d'obtenir le pyruvate ; dans la néoglucogénèse, quatre réactions sont nécessaires pour passer du pyruvate au phosphoénolpyruvate.

Par ailleurs, les deux premières réactions se déroulent dans la mitochondrie.

II – 1 – 2 La glycolyse détaillée

Remarque concernant la réaction inverse (néoglucogénèse):

conversion du pyruvate en phosphoénolpyruvate

la 1^{ère} réaction de la néoglucogénèse se déroule dans la mitochondrie après entrée du pyruvate dans cet organite.

Dans la mitochondrie :



pyruvate carboxylase effecteur positif l'acétyl CoA



malate deshydrogénase

Les intermédiaires du cycle de l'acide citrique sont des précurseurs du glucose ainsi que le squelette carboné de certains acides aminés.

Le malate peut passer dans le cytoplasme grâce à une translocase (protéine transporteuse) spécifique.

Dans le cytoplasme :



malate deshydrogénase



Phosphoénolpyruvate carboxylase

Sylviane Delannay

II - 2 Intervention d'autres glucides dans la séquence glycolytique

Introduction

Notions relatives à la digestion :

Les poly-, oligo-, di-saccharides ingérés doivent être hydrolysés en leurs monomères constitutifs pour pouvoir être absorbés au niveau des cellules épithéliales de l'intestin.

Une fois absorbés, les différents monosaccharides sont transmis via le sang au foie puis aux différentes cellules des différents tissus et moyennant quelques réactions, pourront se « connecter » à la séquence glycolytique.

II-2 Intervention d'autres glucides dans la séquence glycolytique

Introduction

Notions relatives à la digestion :

Dans la lumière du système digestif, des enzymes dégradant des liaisons osidiques spécifiques sont libérées. Seuls les oligomères et polymères pourvus des liaisons reconnues par les enzymes digestives peuvent être clivés, absorbés, distribués aux différentes cellules et servir de « carburants ».

II-2 Intervention d'autres glucides dans la séquence glycolytique

Introduction

Notions relatives à l'activation des monosaccharides :

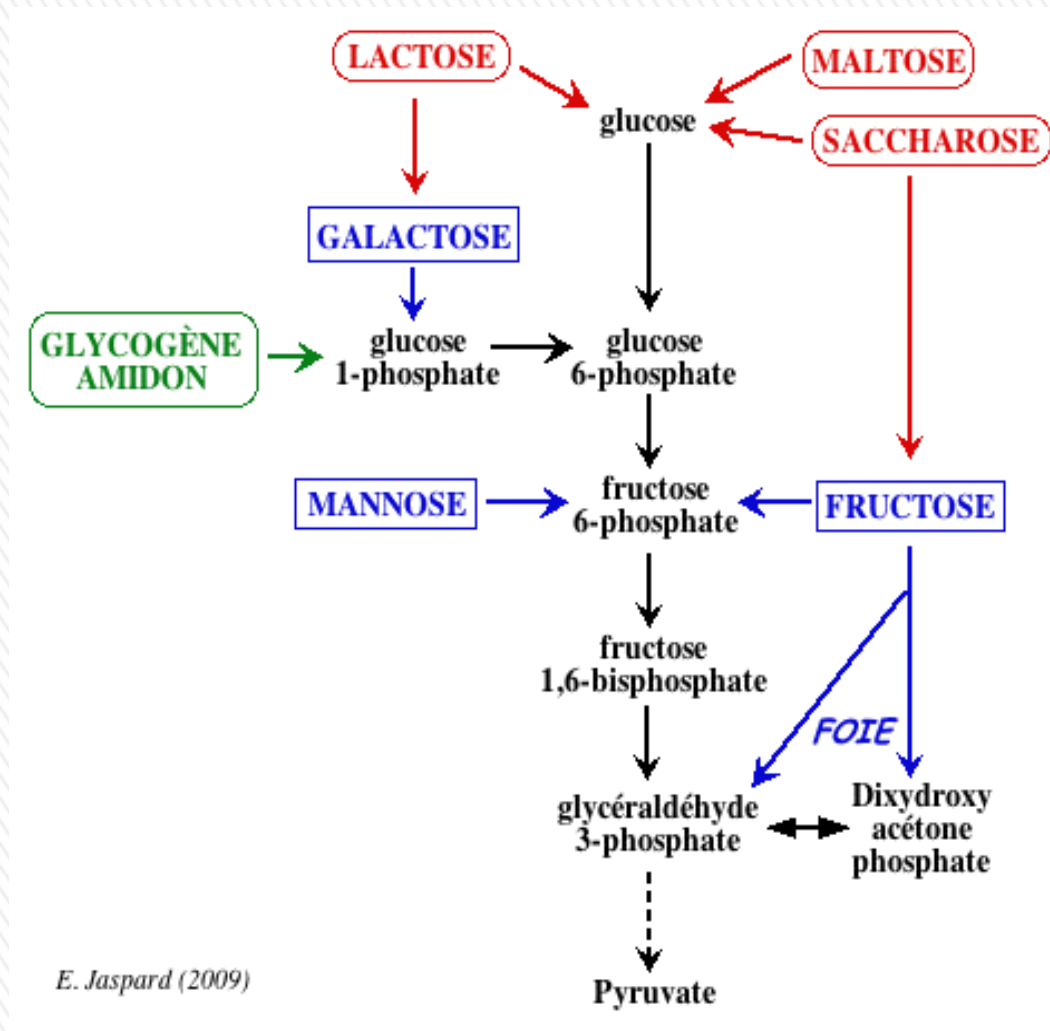
Dans de nombreuses voies de dégradation et de biosynthèse des glucides, certains monosaccharides sont momentanément liés à un transporteur nucléotidique, l'UDP.

Sous cette forme (UDP-sucre), le monosaccharide est activé ou «énergétisé». Outre être des « briques de construction » ou monomères constitutifs pour la synthèse des acides nucléiques, les nucléotides jouent un rôle de transporteur permettant un transfert à haut potentiel énergétique du composé lié.

Exemples : ADP-P ; UDP-sucre, CDP-tête polaire des lipides complexes...



II-2 Intervention d'autres glucides dans la séquence glycolytique

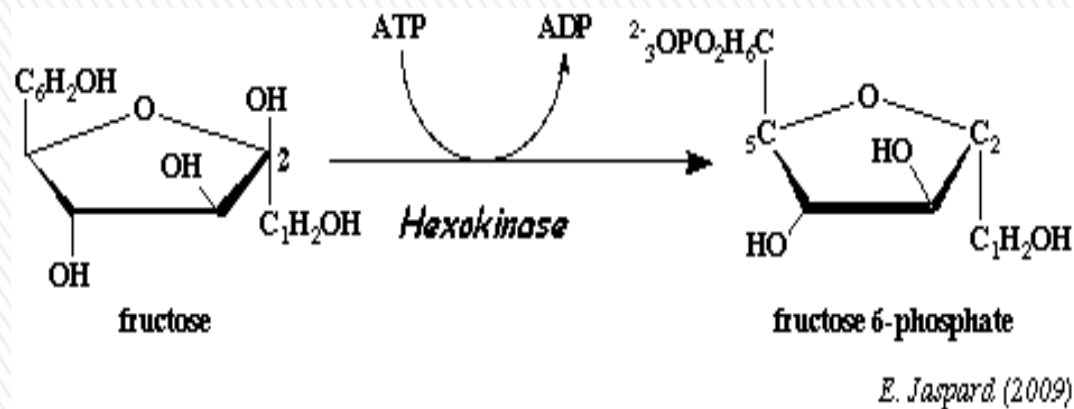


II-2 Intervention des monosaccharides dans la séquence glycolytique

Le fructose :

- dans les muscles et dans les reins : le fructose est phosphorylé au niveau de son carbone n°6 par l'**hexokinase** (cofacteur Mg^{2+}) ; il entre donc sous cette forme dans la séquence glycolytique

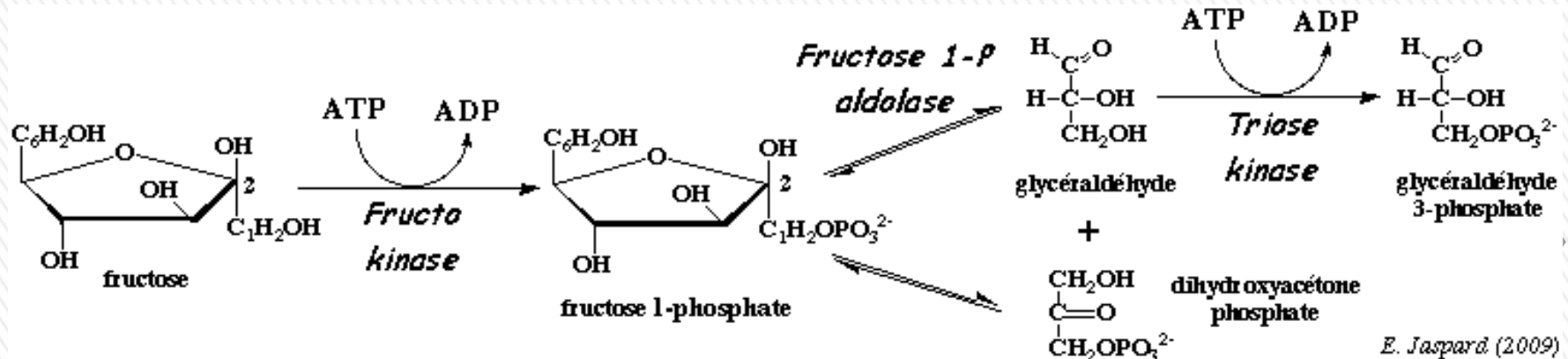
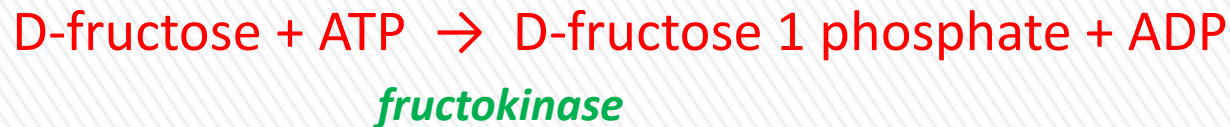
Mg^{2+}



II-2 Intervention des monosaccharides dans la séquence glycolytique

Le fructose :

- dans le foie des vertébrés, il entre dans la séquence glycolytique par une autre voie : Mg^{2+}



II-2 Intervention des monosaccharides dans la séquence glycolytique

Le galactose : Mg^{2+}

D-galactose + ATP $\rightarrow$ D-galactose 1 phosphate + ADP

galactokinase

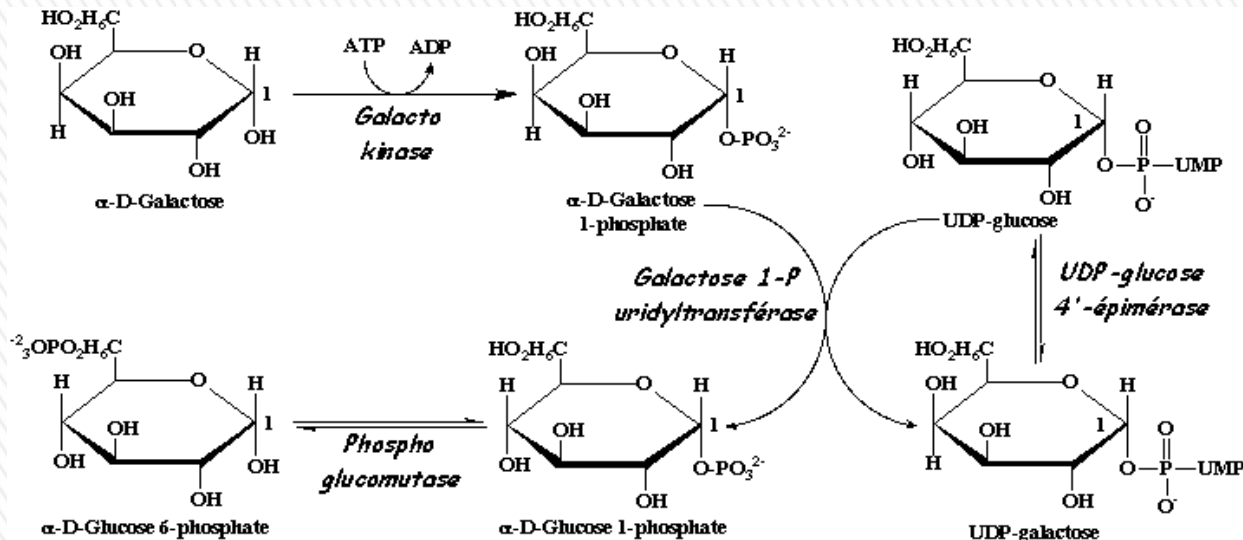
D-galactose 1 phosphate + UDP-glucose $\leftrightarrow$ UDP-D-galactose + D-glucose 1 phosphate

galactose 1 phosphate uridyl transférase

UDP-D-galactose + NAD^+ $\leftrightarrow$ UDP-4-céto-D-glucose + $NADH + H^+$

UDP-D-glucose épimérase

UDP-4-céto-D-glucose + $NADH + H^+$ $\leftrightarrow$ UDP-D-glucose + NAD^+



Sylviane Delannay

E. Jaspard (2009)

II-2 Intervention des monosaccharides dans la séquence glycolytique

Le galactose :

Le glucose activé sous forme d'UDP-D-glucose peut être :

- soit intégré par la *glycogène synthétase* à une molécule de glycogène en formation; la liaison osidique formée est une liaison $\alpha(1 \rightarrow 4)$
- soit libéré de son transporteur et donner du D-glucose 1 phosphate puis du D-glucose 6 phosphate*.

L'enzyme, *galactose 1 phosphate uridyl transférase*, peut faire défaut dans une forme de galactosémie.

Les enfants atteints ne peuvent utiliser le galactose , ce qui provoquent des troubles mentaux et une opacité du cristallin (cataracte) conduisant à la cécité.

La cataracte est provoquée par l'accumulation de galactilol, formé au niveau du cristallin par l'action de *l'aldose réductase* ;



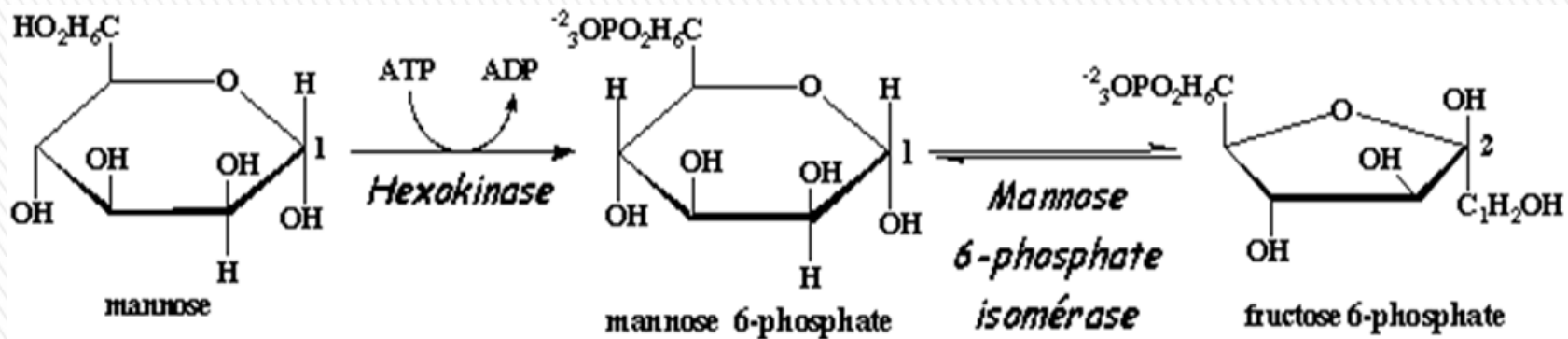
II-2 Intervention des monosaccharides dans la séquence glycolytique

Le mannose :

Mg^{2+}

D-mannose + ATP $\rightarrow$ D-mannose 6 phosphate + ADP
hexokinase

D-mannose 6 phosphate $\leftrightarrow$ D-fructose 6 phosphate*
mannose 6 phosphate isomérase



E. Jaspard (2009)

II-2 Intervention des monosaccharides dans la séquence glycolytique

Le glycérol :

Le glycérol peut provenir de la dégradation des triacylglycérols (réserve lipidique) ou d'autres glycérolipides; il peut aussi être d'origine alimentaire.



glycérol kinase



glycérol phosphatedeshydrogénase

Enfin, mentionnons l'utilisation des **pentoses** par la **voie des pentoses phosphate** ou **shunt des hexoses monophosphate**.

II-2 Intervention des monosaccharides dans la séquence glycolytique

Conclusion :

Dès l'entrée des monosaccharides dans une cellule, ils sont d'emblée phosphorylés par transfert d'un groupement phosphate provenant de l'ATP grâce à une kinase (Mg^{2+}).

Ensuite, à l'issue de quelques réactions enzymatiques, un ou des intermédiaire(s) de la glycolyse est/sont obtenu(s).

Rq : tous les monosaccharides ne sont pas métabolisables par l'homme: pour être métabolisables, la cellule doit disposer des enzymes permettant la reconnection du squelette carboné à la 1^{ère} phase de la glycolyse.

Les disaccharides: aspects digestifs

Les disaccharides ne sont pas mis en réserve chez les animaux; seuls les aspects d'hydrolyse dans le système digestif sont abordés.

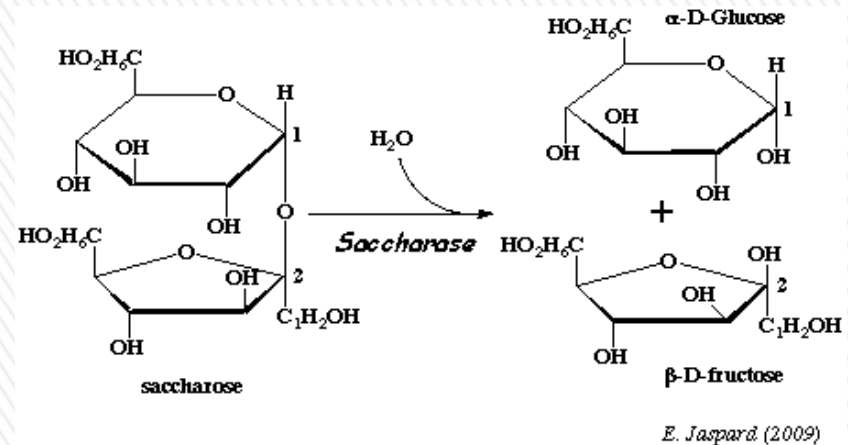
Les disaccharides ingérés sont au cours de la digestion hydrolysés en leurs oses constituants par des enzymes localisées au niveau des cellules épithéliales de l'intestin grêle.

Toutefois, seuls les dimères pourvus des liaisons osidiques reconnues par les enzymes digestives peuvent être clivés et les monomères obtenus peuvent être absorbés.

Les disaccharides: aspects digestifs

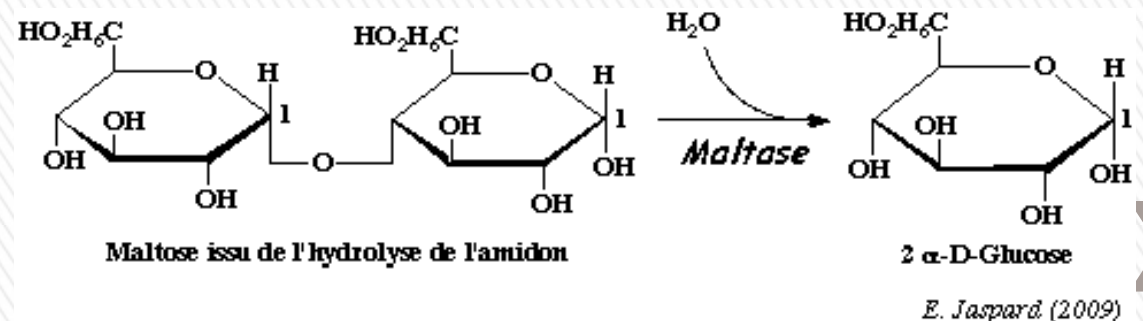
Saccharose + H₂O → D-glucose + D-fructose

saccharase ou β fructofuranosidase



Maltose + H₂O → 2 D-glucose

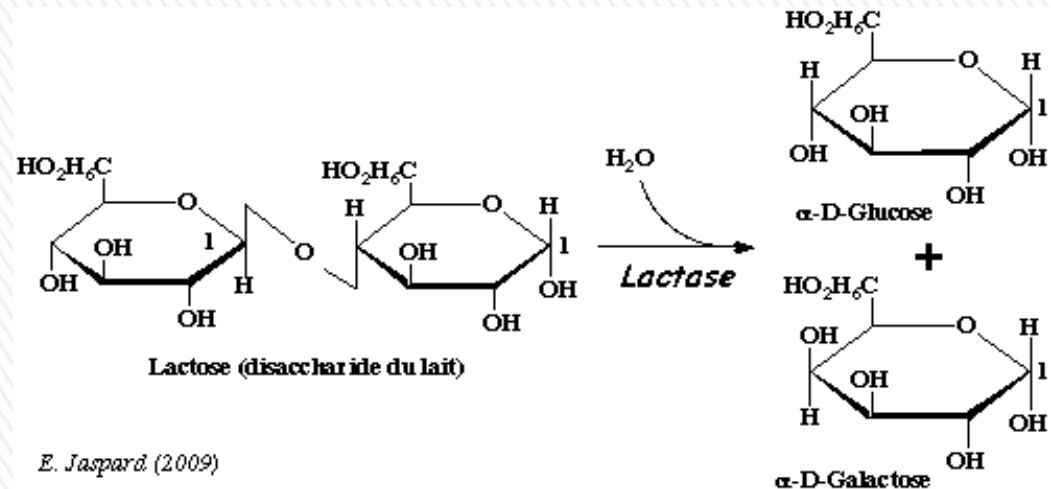
maltase ou α glucosidase



Les disaccharides: aspects digestifs

Lactose + H₂O → D-glucose + D-galactose

lactase ou βgalactosidase



Cette enzyme est absente dans l'intestin grêle chez certains individus ; ils ne peuvent absorber le lactose normalement : cette déficience est appelée **intolérance au lactose** (nourriture adaptée chez l'enfant en bas âge).

La synthèse de lactose à partir de ces oses constitutifs peut avoir lieu dans le tissu mammaire au moment de la lactation.

Les polysaccharides: aspects digestifs

Parmi les polysaccharides pouvant être hydrolysés par les Mammifères, citons l'amidon et le glycogène ingérés; par contre la cellulose ne peut être dégradée.

Pour rappel, l'amidon est le polysaccharide de réserve chez de nombreux végétaux (polymère du glucose avec des liaisons α (1 $\rightarrow$ 4) et α (1 $\rightarrow$ 6)); le glycogène est le polysaccharide de réserve chez les animaux (biomolécule similaire à l'amidon mais plus ramifiée), il est stocké principalement dans les cellules hépatiques et se retrouve également sous forme de petits grains β dans les cellules musculaires.

La cellulose quant à elle, est un polysaccharide de structure constituant la paroi cellulaire des cellules végétales (polymère du glucose avec des liaisons β (1 $\rightarrow$ 4)).

Rappel : le glycogène

Le **glycogène** est le **polysaccharide de réserve** chez les animaux.

Il est stocké principalement dans les **cellules hépatiques** et se retrouve également sous forme de **petits grains β dans les cellules musculaires**.

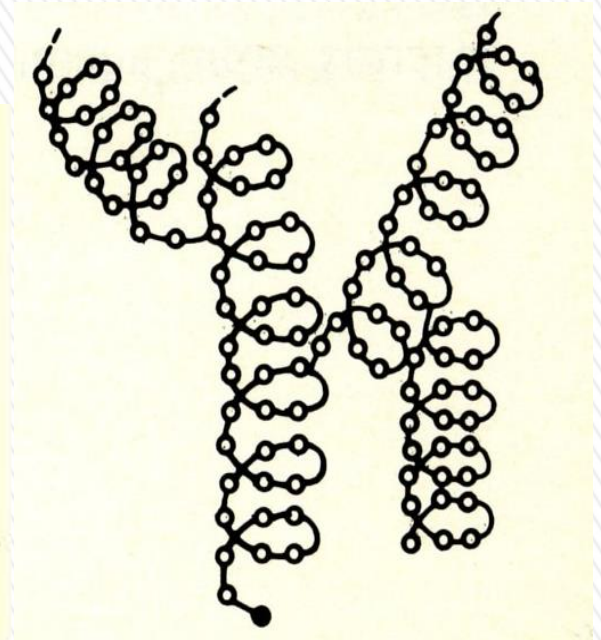
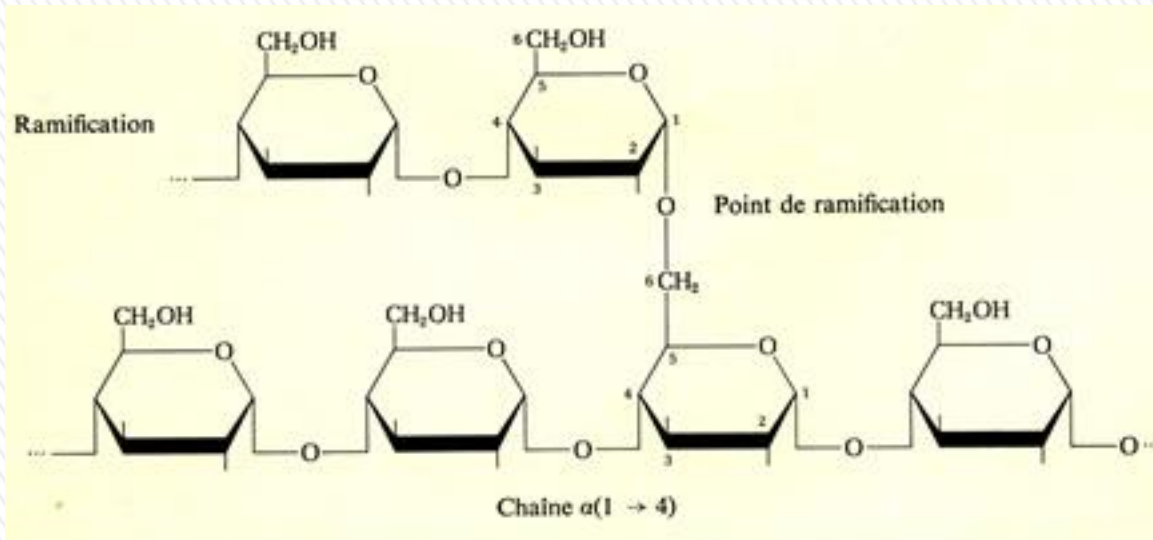
Seules les cellules hépatiques sont habilitées à restituer les molécules de glucose dans le sang à partir de glycogène stocké et à assurer ainsi un taux en glucose sanguin constant (glycémie).

Les petites réserves en glycogène présentes dans les autres cellules sont entièrement utilisées pour leur propre métabolisme.

Rappel : la structure du glycogène

Le glycogène ne se présente pas comme des séquences linéaires simples d'unités glucose ; un certain nombre de points de branchements (ramification) existent en position 1→6.

Le glycogène est un polymère du glucose avec des liaisons α (1→4) et α (1→6).



Les unités « glucoses » présentant le C1 libre (fonction aldéhyde) constituent les extrémités réductrices des chaînes (représentées par des « boules noires »)

Rappel : le glycogène

Seules les **cellules hépatiques** disposent de l'enzyme **(D-glucose-6-phosphatase)** permettant de libérer le D-glucose à partir de D-glucose 6 phosphate



D-glucose-6-phosphatase

($\Delta G^{\circ} = - 3,3 \text{ Kcal/mole}$ et $K_{\text{éq}} = 210$)

Seul le foie est habilité à délivrer du glucose dans le sang (car l' $\alpha\text{-D-glucose-6-phosphate}$ ne peut pas passer à travers la membrane cellulaire par simple diffusion et sortir des cellules par la présence du groupement phosphate chargé négativement à pH 7)

=> **Maintien de la glycémie**

Catabolisme du glycogène : glycogénolyse

1°) Réactions enzymatiques :



glycogène

phosphorylase

La *glycogène phosphorylase* agit de façon répétitive sur les extrémités non réductrices des ramifications du glycogène ; elle clive les liaisons α (1→4) jusqu'à 4 résidus glucose avant une liaison α (1→6). Le clivage de la liaison osidique permet l'insertion par lien covalent d'un phosphate inorganique au niveau du carbone 1 du glucose libéré.

Le groupement phosphate lié au carbone 1 du glucose est transféré au niveau du carbone 6 grâce à l'action de la *phosphoglucomutase*.



Catabolisme du glycogène : glycogénolyse

Une **transférase** « retire » 3 des résidus glucose restant et les transfère à l'extrémité d'une autre ramification.

L' **α (1→6) glucosidase** hydrolyse la liaison α (1→6) libérant le glucose restant ; c'est une enzyme « débranchante ».

La **glycogène phosphorylase** pourra ensuite reprendre son « grignotage » et va répéter son action tant que la chaîne se présente dans cet arrangement (1→4).

Catabolisme du glycogène : glycogénolyse

2°) Régulation du catabolisme du glycogène :

L'enzyme régulatrice du catabolisme du glycogène est la **glycogène phosphorylase** ; elle est régulée par un mécanisme **covalent et non covalent**.

L'enzyme (PM 190000) est constituée de 2 sous-unités identiques ; ces sous-unités comportent **un site allostérique pour l'AMP, effecteur positif**. L'interaction de l'AMP au niveau des sites allostériques de l'enzyme induit un changement conformationnel de celle-ci la rendant plus active.

L'augmentation de la concentration en AMP dans la cellule traduit une consommation d'ATP ; la libération d'unités glucose à partir de glycogène permettra d'alimenter la voie glycolytique génératrice d'énergie.

31-01-22

12
3

31-01-22

12
4

Catabolisme du glycogène : glycogénolyse

Détail du mécanisme provoquant la production d'AMP cyclique :

Une **hormone hydrophile** (adrénaline) « détient » un message qui doit parvenir dans les cellules ; sa nature polaire ne lui permet pas d'entrer par simple diffusion. Elle se lie à un récepteur spécifique ® dont le site de liaison est orienté vers l'extérieur des cellules.

La liaison hormone-récepteur provoque un changement conformationnel du récepteur lui permettant d'interagir avec la protéine G (protéine fixatrice de GDP/GTP) ; elle pourra à son tour interagir par changement de conformation avec **l'adénylate cyclase**.

Cette enzyme catalyse la libération de pyrophosphate et de 3' 5' AMP cyclique à partir du substrat ATP ; le site actif de l'enzyme est orienté côté cytoplasmique.

Donc en réponse au **messager extra cellulaire (adrénaline)**, de nombreuses molécules de **messager intra cellulaire (AMP cyclique)** sont produites. Il y a donc à ce niveau **amplification du « signal »**.

L'AMP cyclique produit interagit par liaisons faibles (non covalentes) avec le site **allostérique spécifique de la glycogène phosphorylase kinase kinase** ; ce qui provoque son activation.

Catabolisme du glycogène : glycogénolyse

Détail du mécanisme provoquant la production d'AMP cyclique :

Ensuite toute la **cascade d'activation et d'amplification** se déclenche aboutissant à la phosphorylation de très nombreuses molécules de glycogène phosphorylase. Cette forme active de l'enzyme provoque le catabolisme du glycogène et la libération de D-glucose 6 phosphate et de D-glucose sanguin par les cellules hépatiques.

Remarque :

Un mécanisme similaire permet l'activation d'une autre enzyme la lipase. Cette enzyme catalyse l'hydrolyse des 3 acides gras et d'un glycérol à partir d'un triacylglycérol (lipide de réserve).



Résumé de la séquence :

Hormone → AMP cyclique → activation de kinases → phosphorylation de molécules de lipases (lipase phosphorylée = forme active) → libération d'acides gras et de glycérol.

Un mécanisme similaire permet l'activation d'autres enzymes : la glycogène synthétase (cf. glycogénèse),...

Catabolisme du glycogène : glycogénolyse

En illustration :

Lors d'un **stress** (décharge d'adrénaline), il s'en suit la **libération dans le sang de carburants** (nombreuses molécules de glucoses et d'acides gras) par une **cascade d'activation d'enzymes et d'amplification**. Donc le stress de l'athlète avant son épreuve sportive est un bien ; ce stress rend disponible dans le sang et, pour les cellules musculaires entre autre, toute une série de carburants qui vont être utiles pour assurer la production d'énergie.

Par contre, **un stress non suivi d'un effort physique** peut lorsqu'il est fréquent et que le « terrain » est propice (antécédents génétiques,...) être la cause de problèmes cardio-vasculaires (les acides gras libérés et non utilisés vont séjourner plus longtemps dans la circulation sanguine provoquant à long terme des dépôts lipidiques au niveau des vaisseaux avec obstruction progressive de ceux-ci = athérosclérose ; le flux sanguin étant réduit certaines cellules tissulaires ne sont plus irriguées).

Catabolisme du glycogène : glycogénolyse

Tant qu'il existe une **situation d'urgence** ; il y a **production d'adrénaline** et donc de nombreuses molécules **d'AMP cycliques** provoquant la dégradation du glycogène et inhibant sa synthèse par une cascade d'activation d'enzymes et d'amplification.

Lorsque la **situation d'urgence n'est plus présente** : la **concentration enadrénaline diminue rapidement** (destruction enzymatique dans le foie) ; les récepteurs àadrénaline sont « vides » ; l'activité de l'adénylate cyclase diminue ; l'AMP cyclique restant est détruit par la **phosphodiesterase** :



phosphodiesterase

les **kinases ne sont plus actives** ; la **glycogène phosphorylase non phosphorylée** est **inactive** mais par contre, la **glycogène synthétase non phosphorylée** est **active** ; le système glycogénolytique retourne à son état basal et la synthèse du glycogène peut redémarrer si les conditions le permettent c à d si des unités glucoses sont disponibles.

Rq : la théophylline et la caféine inhibent la **phosphodiesterase** de l'AMPc.

Anabolisme du glycogène : glycogénèse

1°) Réactions enzymatiques :

1^{ère} réactions partagée avec la glycolyse, la voie des pentoses phosphates...

Le glucose 6 Phosphate est à un carrefour métabolique

Anabolisme du glycogène : glycogénèse

1°) Réactions enzymatiques :



hexokinase + **glucokinase** dans les cellules hépatiques: *cofacteur des 2 enzymes Mg^{2+}*)

$\Delta G'^{\circ} = -4,0 \text{ Kcal/mole}$ ($-16,7 \text{ KJ/mole}$); $K_{\text{eq}} = 650$; $\Delta G' = -8,0 \text{ Kcal/mole}$

Les **kinases** sont des **transférases** (enzymes appartenant à la classe N°2); elles transfèrent un groupement phosphate provenant de l'ATP sur un substrat. Ces enzymes requièrent comme cofacteur du **Mg^{2+}** ; les substrats de ces enzymes sont le **Mg^{2+} -ATP³⁻** et une autre biomolécule qui sera phosphorylée à l'issue de la catalyse. Il s'agit d'une réaction enzymatique à 2 substrats minimum.

Nom spécifique de l'enzyme: nom du substrat à phosphoryler + Kinase (**phosphotransférase**).

Anabolisme du glycogène : glycogénèse

Comparaison de l'hexokinase et la glucokinase:

hexokinase (PM 104000 - 2 sous-unités identiques):

- enzyme qui intervient dans la plupart des cellules;
- elle catalyse la phosphorylation d'autres hexoses, tels le D-fructose, le D-mannose, le D-glucosamine;
- la valeur de son K_M pour le glucose est de 0,1 mM;
- elle existe sous différentes formes isoenzymatiques;
- le glucose-6-phosphate inhibe l'activité enzymatique; l'hexokinase est donc une enzyme régulatrice. En présence de quantité importante de glucose-6-phosphate, la cellule arrête d'en produire, ce qui présente un mécanisme d'économie pour la cellule (inhibition par le produit de la réaction).

glucokinase (PM 15 - 20 10^5):

- elle est présente essentiellement dans les cellules hépatiques (cellules du foie);
- elle catalyse la phosphorylation du D-glucose uniquement;
- la valeur de son K_M pour le glucose est de 10 mM;
- elle n'est pas inhibée par le glucose-6-phosphate.

Les valeurs de K_M pour le glucose sont respectivement pour l'hexokinase et la glucokinase de 0,1 mM et de 10 mM, ce qui signifie que l'hexokinase est saturée à la concentration normale de glucose sanguin (± 3 mM). La glucokinase n'intervient que lorsque la [glucose] sanguin considérablement.

Anabolisme du glycogène : glycogénèse



phosphoglucomutase

Le groupement phosphate lié au carbone 6 du glucose est transféré au niveau du carbone 1 grâce à l'action de la *phosphoglucomutase*.

Rq: $\alpha\text{-D-glucose 6 phosphate} \rightarrow$ différentes possibilités métaboliques...



glucose 1 phosphate uridyl transférase / pyrophosphatase

Notions relatives à l'activation des monosaccharides :

Dans de nombreuses voies de dégradation et de biosynthèse des glucides, certains monosaccharides sont momentanément liés à un transporteur nucléotidique, l'UDP.

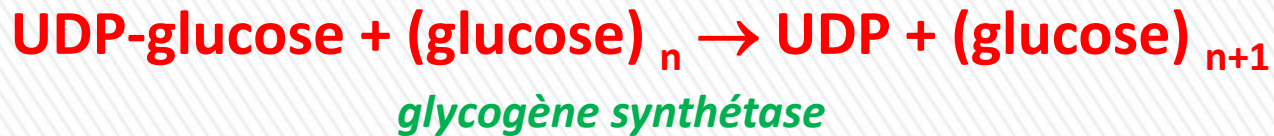
Sous cette forme (UDP-sucre), le monosaccharide est activé ou « énergétisé ».

Outre être des « briques de construction » ou monomères constitutifs pour la synthèse des acides nucléiques, les nucléotides jouent un rôle de transporteur permettant un transfert à haut potentiel énergétique du composé lié.

Exemples : ADP-P ; UDP-sucre, CDP-tête polaire des lipides complexes...

Anabolisme du glycogène : glycogénèse

1°) Réactions enzymatiques :



La *glycogène synthétase* crée des liaisons α (1→4) ; le glycogène est allongé au niveau de son extrémité non réductrice. Les unités glucose ajoutées sont « activées » (UDP-glucose).

Le glycogène est une molécule « branchée » ; les liaisons α (1→6) entre molécules de glucoses sont obtenues par la *glycosyl (4→6) transférase*.

Cette enzyme catalyse le transfert d'un fragment terminal oligosaccharidique de 6 ou 7 résidus glycosyl provenant de l'extrémité non réductrice d'une ramification de glycogène possédant au moins 11 résidus, vers de groupement hydroxyl porté par le carbone 6 d'un résidu glucose de la même chaîne ou d'une autre chaîne du glycogène.

Ensuite, la *glycogène synthétase* peut continuer la synthèse.

31-01-22

13
4

Conclusion concernant la régulation de la glycogénolyse et de la glycogénèse:

La **glycogène synthétase** et la **glycogène phosphorylase** sont **réciproquement régulées**.

Lorsque la **cascade enzymatique** initiée par l'adrénaline (1^{er} messenger) et l'AMP cyclique (2nd messenger) est déclenchée, **il s'en suit l'activation de kinases**.

A l'issue de ces cascades la **glycogène synthétase** et la **glycogène phosphorylase** sont **respectivement phosphorylées**.

Dans ces conditions, la glycogénolyse est stimulée par contre la glycogénèse n'est pas réalisée. Ces voies antagonistes sont **régulées « à l'inverse »**.

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates

La voie des pentoses phosphates est une voie secondaire de dégradation du glucose ou de bioconversion du glucose.

Cette voie se déroule **dans le cytoplasme** de nombreuses cellules.

Bien que secondaire, cette voie remplit des **fonctions essentielles** :

1°) la production dans le cytosol d'une capacité de réduction sous forme de **NADPH**, **nécessaire à la biosynthèse des acides gras et des stéroïdes** ; la voie est intense dans le foie, le tissu adipeux, la glande mammaire en lactation, le cortex surrénal (absente du myocarde et du muscle du squelette) ; c'est une des seules possibilités pour la cellule de produire du NADPH ;

2°) la formation des **pentoses phosphates**, surtout le D-ribose 5 phosphate indispensable à la synthèse des acides nucléiques et le ribulose phosphate nécessaire pour les organismes autotrophes lors de la synthèse de composées organiques (glucose).

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates

Ces deux fonctions essentielles sont réalisées au cours d'une même voie.

À partir d'une molécule de D-glucose 6 phosphate (provenant de l' α -D-glucose), 2 NADPH et 1 pentose phosphate sont formés. Lorsque la voie est stimulée pour fournir soit le NADPH soit un pentose phosphate, l'autre composé sera simultanément produit même si la cellule n'en a pas immédiatement besoin.

La cellule aura donc la possibilité de reconvertir ces composés.

II Catabolisme et bioconversion des glucides

II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates

La voie des pentoses phosphates est le plus souvent stimulée pour générer du NADPH dans le cytosol ; il existe donc une voie de reconversion des pentoses phosphates produit en excès.

Les composés reformés par la voie de reconversion sont le D-glycéraldéhyde 3 phosphate et le D-fructose 6 phosphate ; en fonction des besoins immédiats de la cellule, ils peuvent « rentrer » soit dans la séquence glycolytique (si la cellule a besoin d'énergie), soit dans la néoglucogénèse et puis la glycogénèse (si momentanément la cellule n'a pas besoin d'énergie).

II Catabolisme et bioconversion des glucides

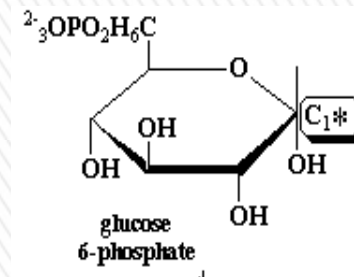
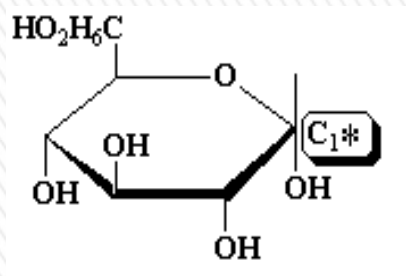
II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates

Il existe également une possibilité de reconverter le NADPH produit en excès bien que ce cas est peu fréquent :

les électrons du NADPH sont transférés au NAD^+ de manière à réintégrer sa forme oxydée (NADP^+).

II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates

1^{ère} réaction: phosphorylation du D-glucose par l'ATP en D-glucose-6-phosphate



Mg^{2+}



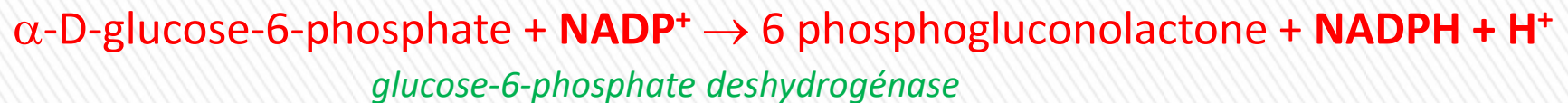
hexokinase (dans toutes les cellules de tous les tissus: effecteur - : glucose 6 phosphate)

glucokinase (dans les cellules hépatiques)

$\Delta G^{\circ} = -4,0 \text{ Kcal/mole}$ ($-16,7 \text{ KJ/mole}$); $K_{\text{eq}} = 650$; $\Delta G' = -8,0 \text{ Kcal/mole}$

II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates

2^{ème} réaction: Oxydation du D-glucose-6-phosphate en 6 phosphogluconolactone avec formation du 1^{er} NADPH.



3^{ème} réaction: Hydratation du 6 phosphogluconolactone



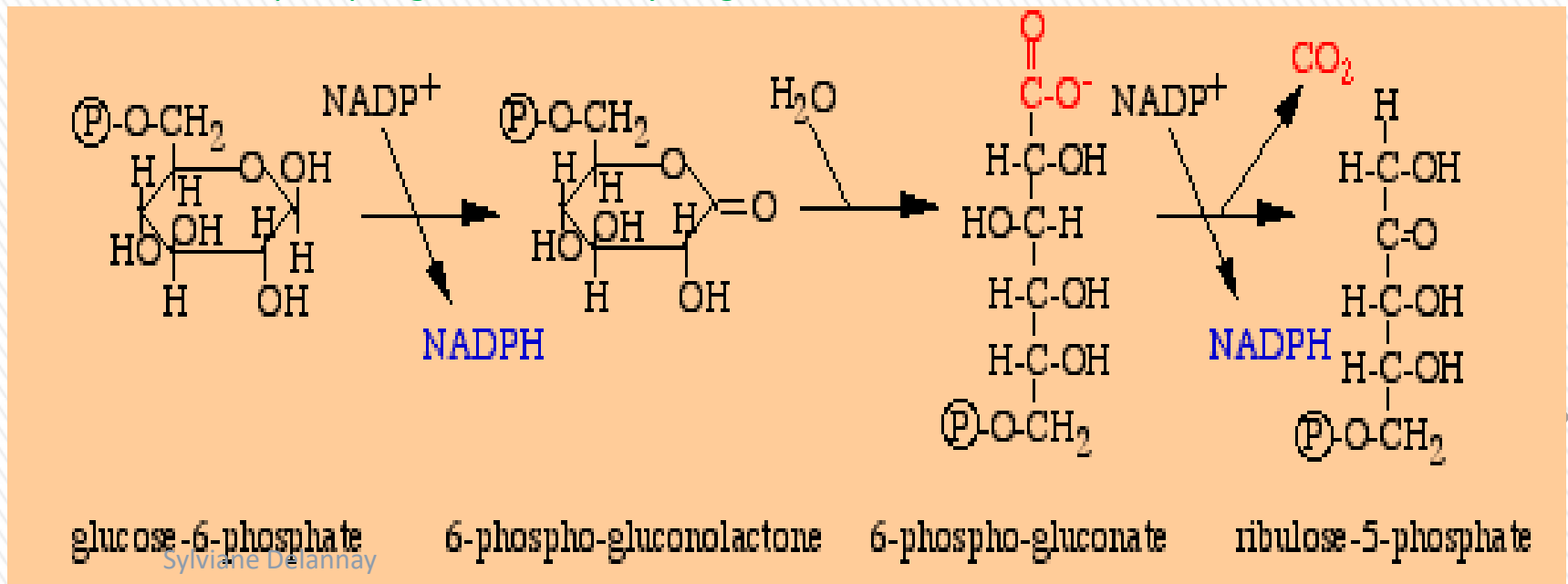
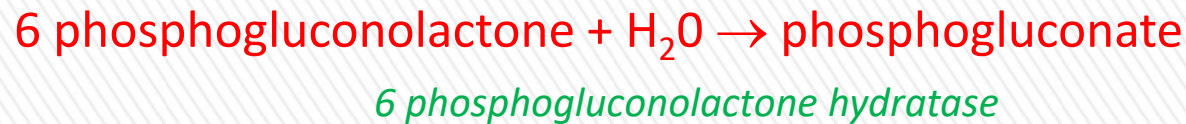
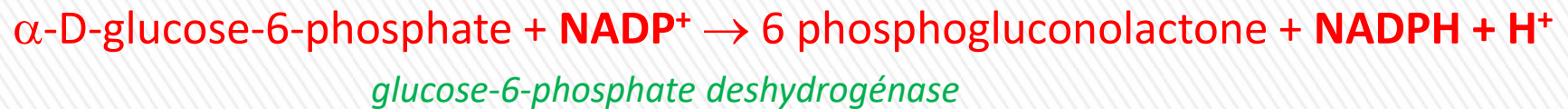
4^{ème} réaction: Oxydation du phosphogluconate avec formation du 2^{ème} NADPH et décarboxylation.



Cette séquence de 3 réactions est retrouvée dans de nombreuses voies cataboliques:

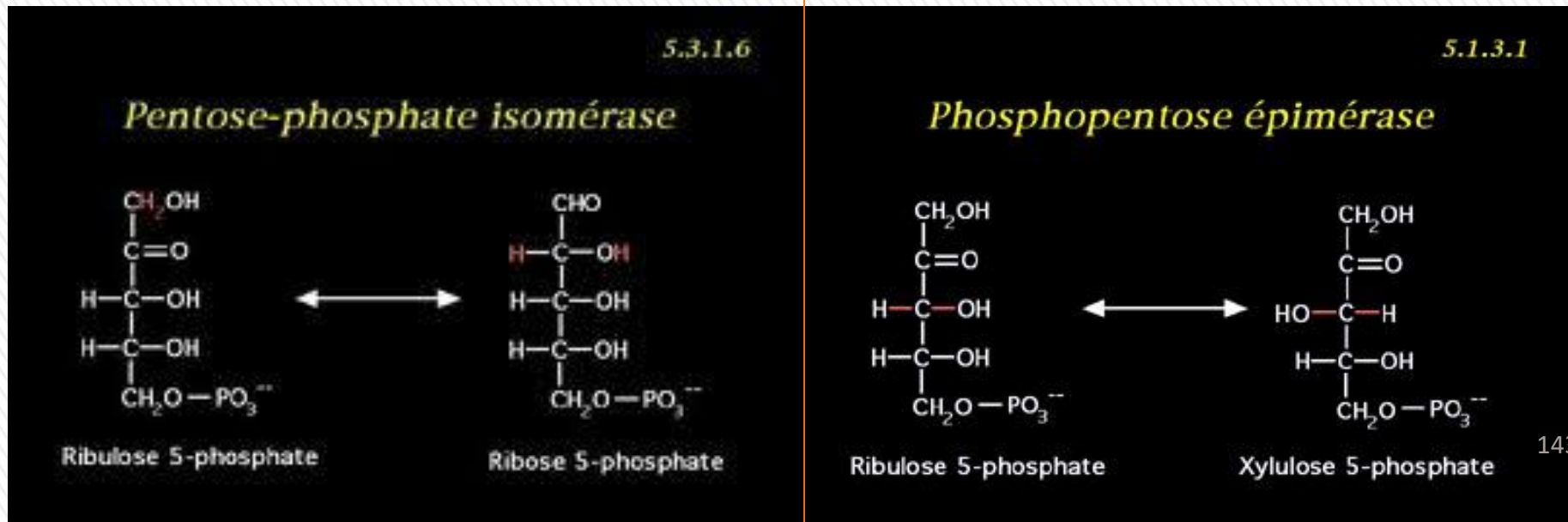
oxydation d'un Substrat – hydratation - oxydation du Substrat :
2 cofacteurs réduits sont formés lors des oxydoréductions

II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates



II – 3 La voie des pentoses phosphates = voie du phosphogluconate = shunt des pentoses phosphates = shunt des hexoses monophosphates

Grâce à l'intervention *d'isomérases et d'épimérases*, différents sucres à 5C (phosphorylés) peuvent être obtenus en fonction des besoins cellulaires : *interconversion (isomérisation et épimérisation) des pentoses phosphates.*



Lorsque trop de C5 P : reconversion des sucres en C5 P

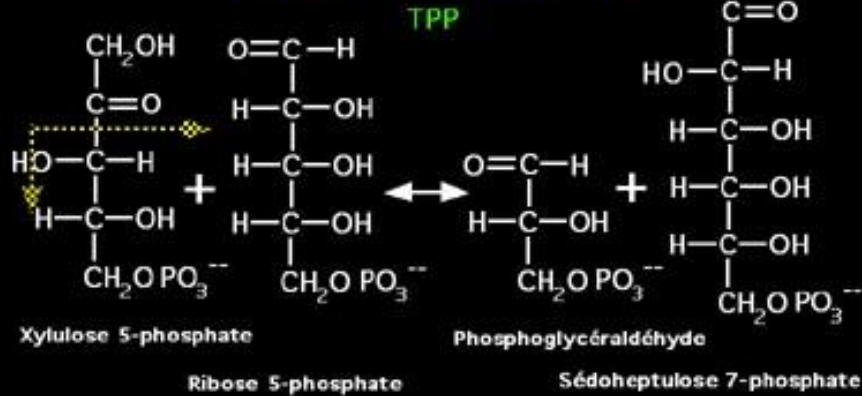


II – 3 La voie des pentoses phosphates

Reconversion des sucres en C5 P

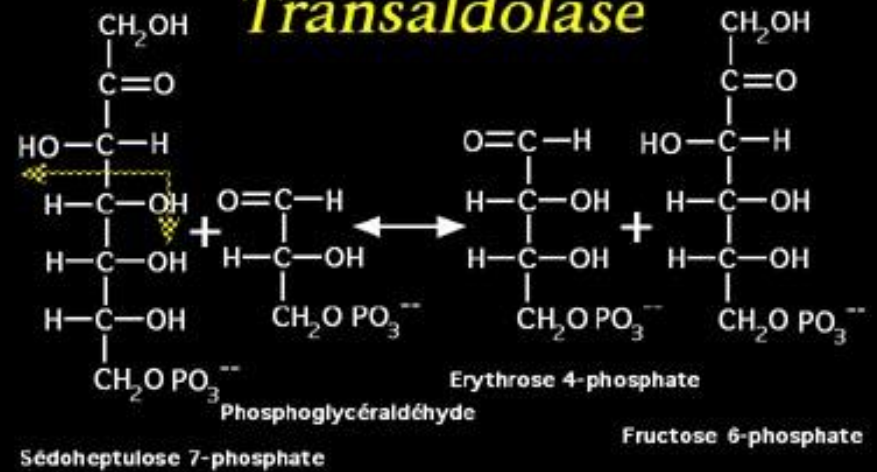
2.2.1.1

Transcétolase



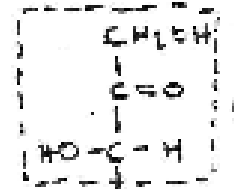
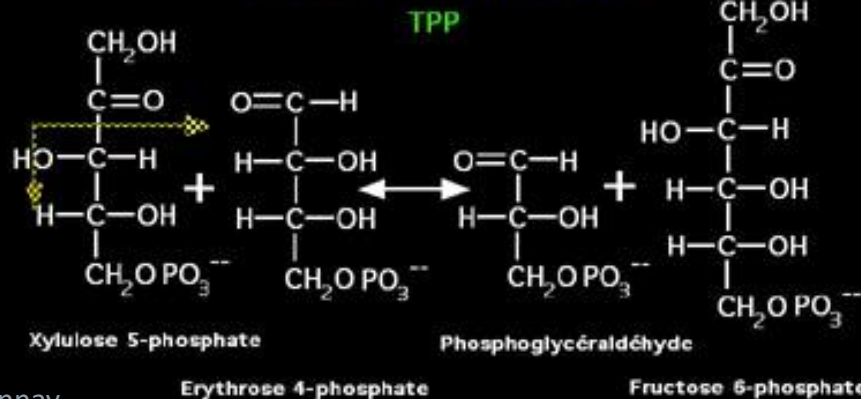
2.2.1.2

Transaldolase



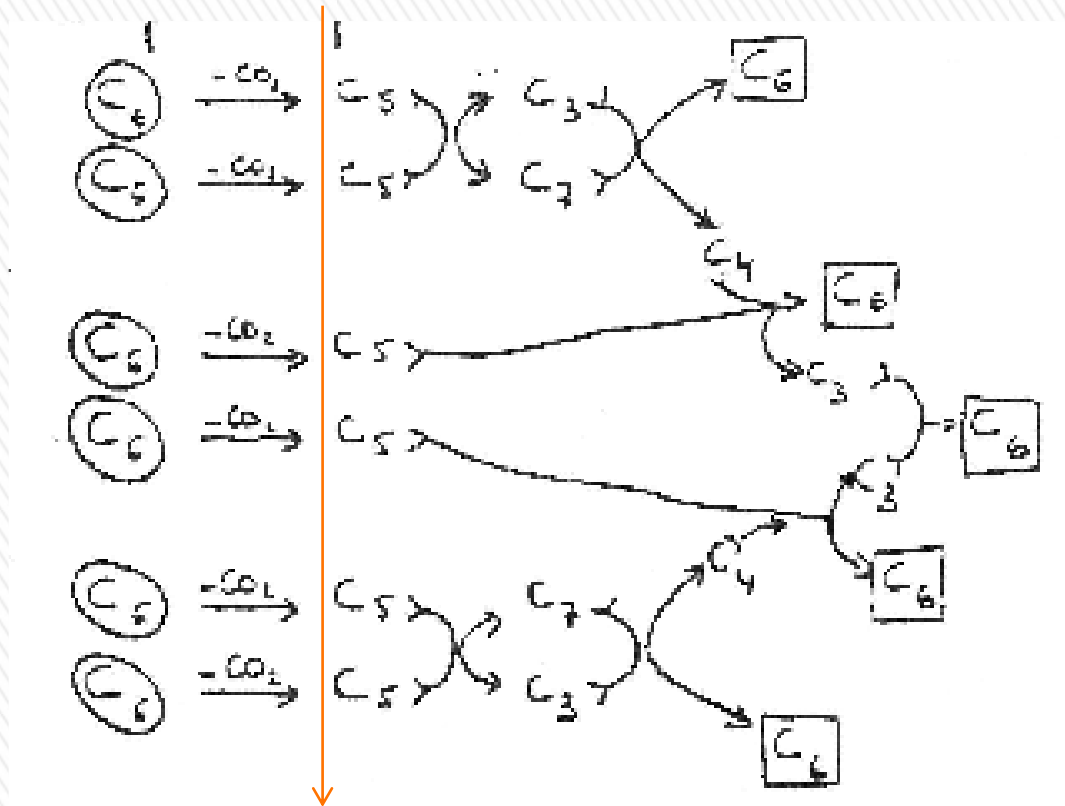
2.2.1.1

Transcétolase



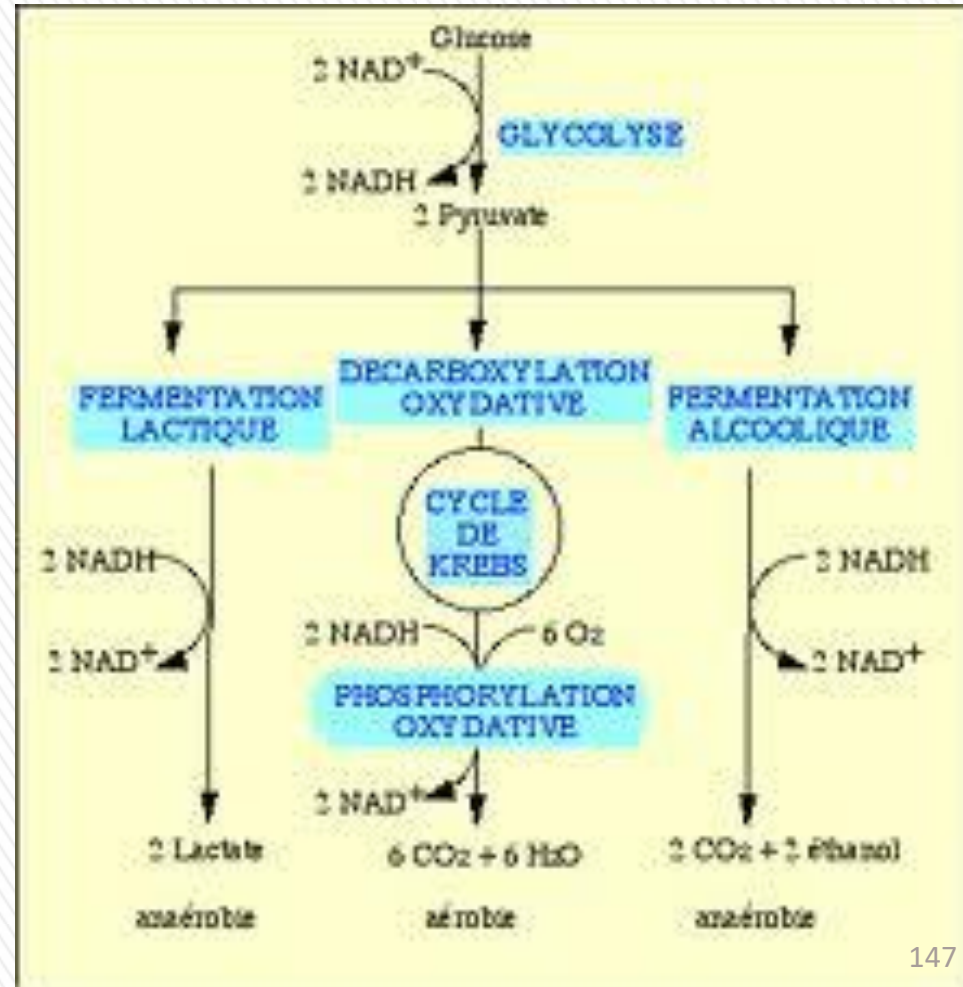
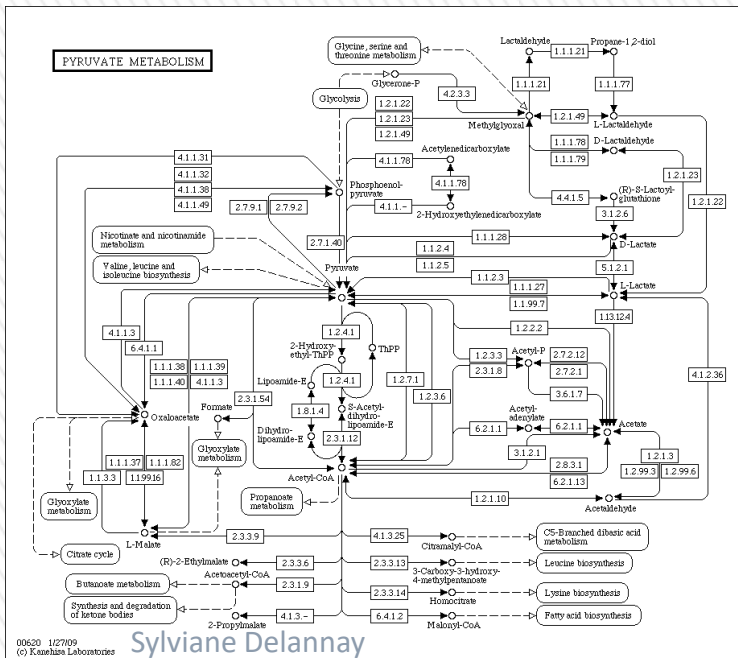
II – 3 La voie des pentoses phosphates

Reconversion des sucres en C5 P

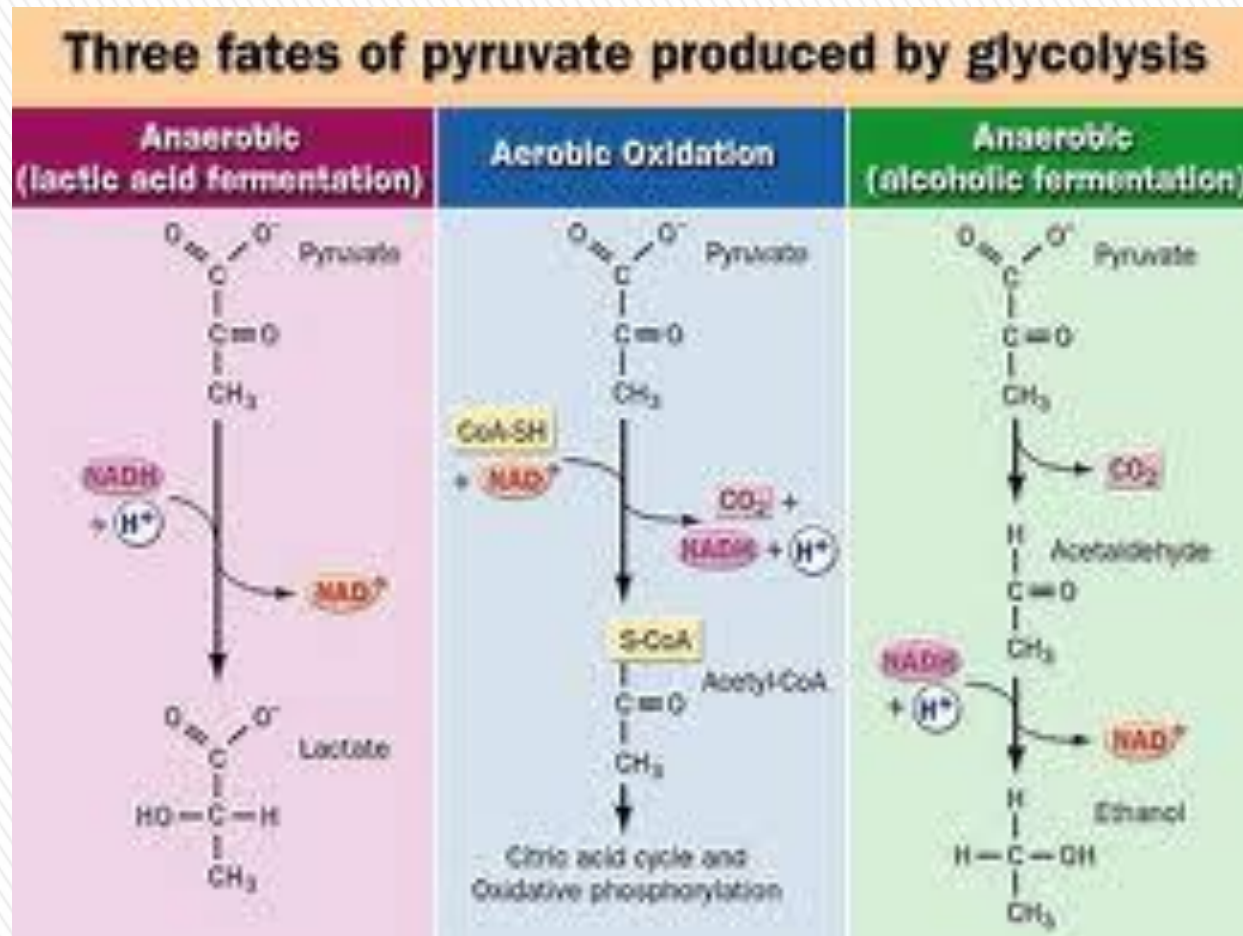


II - Les « devenirs » du pyruvate

En fonction des organismes vivants, des différents types de cellules tissulaires au sein d'un même organisme ou des conditions d'oxygénation des cellules, les "devenirs" du pyruvate peuvent différer.



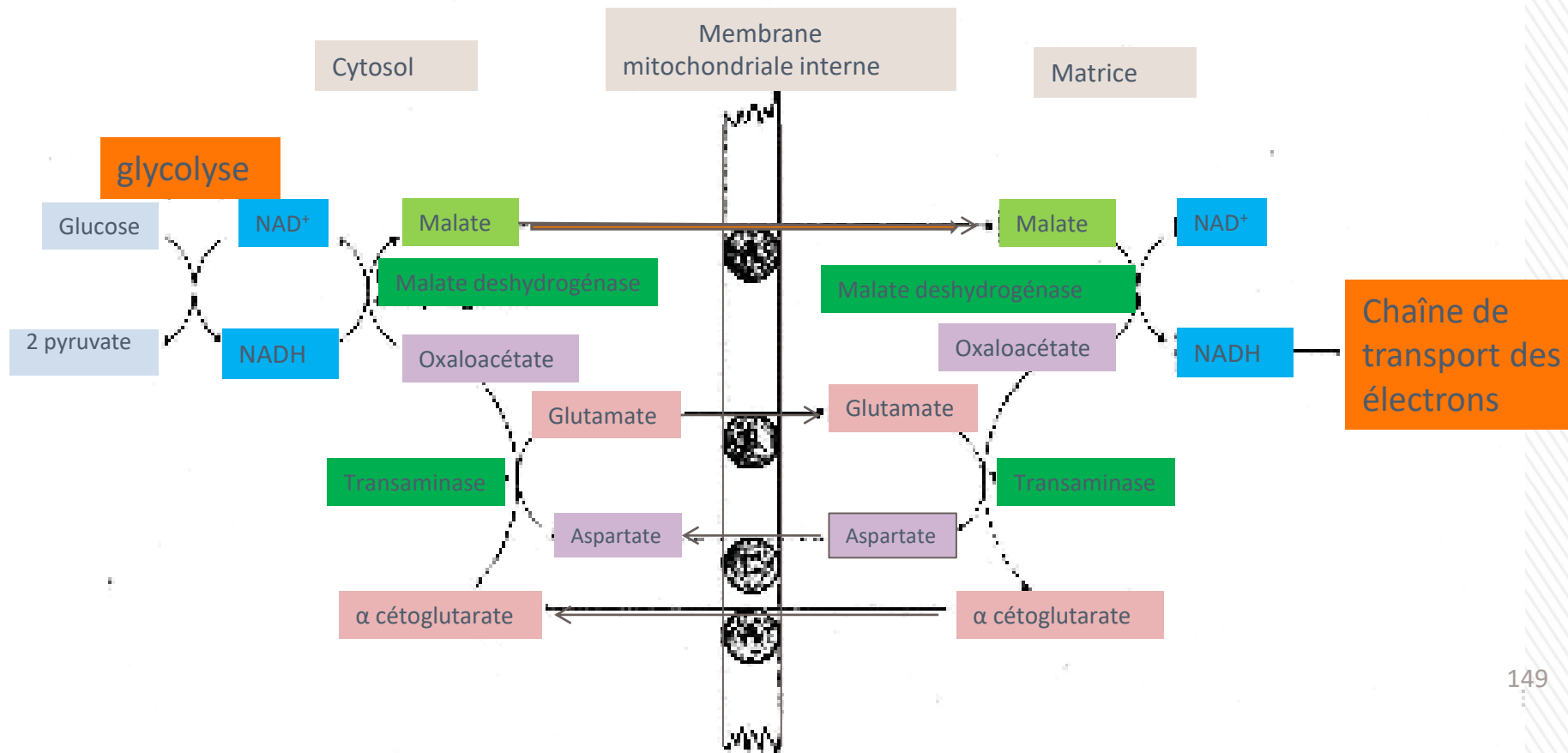
II - Les « devenirs » du pyruvate



En aérobiose:

Navettes nécessaires à l'oxydation du NADH extra-mitochondrial

Exemple de navette : « navette » ou « va-et-vient » du malate-aspartate

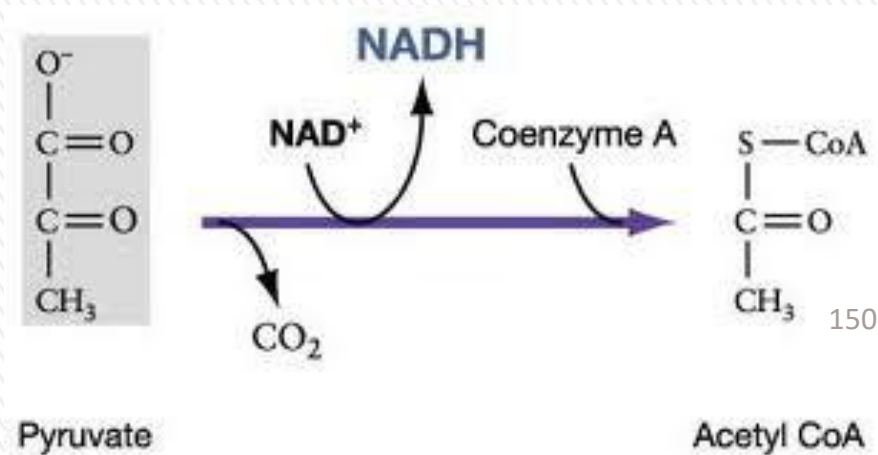
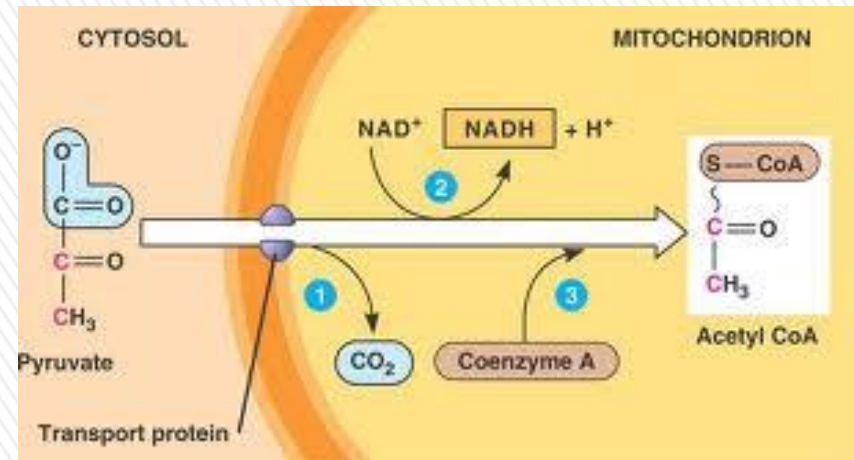


II - Les « devenirs » du pyruvate

En aérobiose:

Le mécanisme réactionnel de **mobilisation de l'acétyl CoA** se déroule **dans la mitochondrie**.

Le **pyruvate** va être transporté dans la mitochondrie grâce à une translocase et va être dégradé en **acétyl CoA** et CO_2



II - Les « devenirs » du pyruvate

En aérobiose:

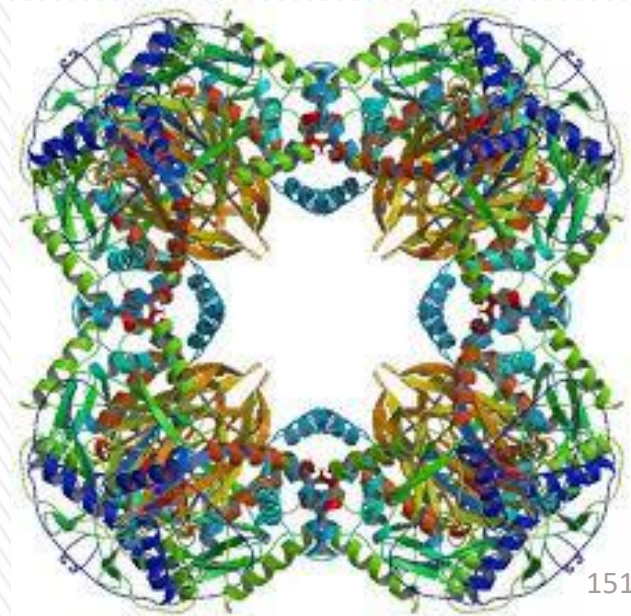


pyruvate deshydrogénase (décarboxylante)

$$\Delta G^{\circ} = - 8,0 \text{ Kcal/mole}$$

La réaction est irréversible dans les tissus animaux et est catalysée par **un complexe multienzymatique: *pyruvate deshydrogénase (décarboxylante)***.

Ce complexe multienzymatique, localisé dans la mitochondrie, a un poids moléculaire d'environ 7.000.000 et est constitué d'une centaine de chaînes polypeptidiques organisé en un polyèdre à 20 côtés.



II - Les « devenirs » du pyruvate

En aérobiose:

Le mécanisme réactionnel de mobilisation de l'acétyl CoA dans la mitochondrie:



L'enzyme est régulée:

- par un mécanisme covalent



- par un mécanisme non covalent = enzyme allostérique :

effecteur positif = Ca^{2+} ; effecteurs négatifs = ATP, NADH, acétyl CoA.

II - Les « devenirs » du pyruvate

Mobilisation de l'acétyl CoA

La décarboxylation oxydative du pyruvate met en jeu **5 étapes**:
le complexe multienzymatique peut être décomposé en **3 enzymes** et
nécessite **5 cofacteurs**.

E1 = pyruvate décarboxylase

TPP = thiamine pyrophosphate

E2 = dihydrolipoyl transacétylase

Acide lipoïque
Coenzyme A

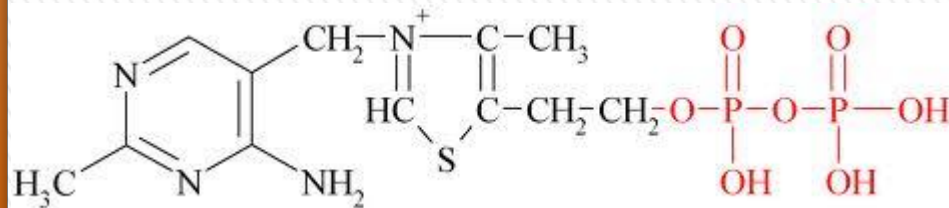
E3 = dihydrolipoyl deshydrogénase

FAD = Flavine Adénine Dinucléotide
NAD⁺ = Nicotinamide Adénine Dinucléotide

II - Les « devenirs » du pyruvate

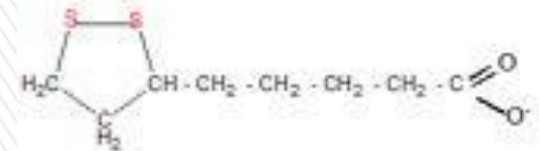
Les cofacteurs:

E1 - TPP = thiamine pyrophosphate

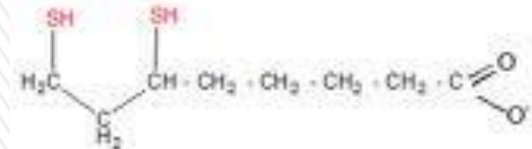


E2 - Acide lipoïque

Acide lipoïque - forme oxydée



Acide lipoïque - forme réduite



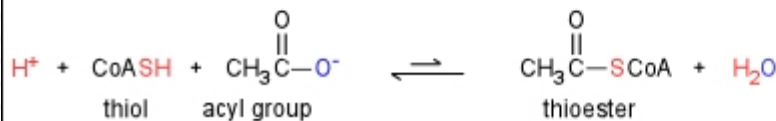
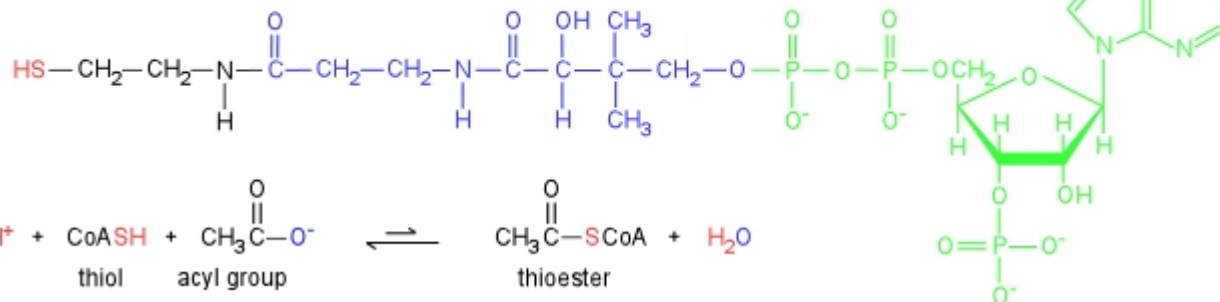
E2 Coenzyme A

Coenzyme A (CoA)

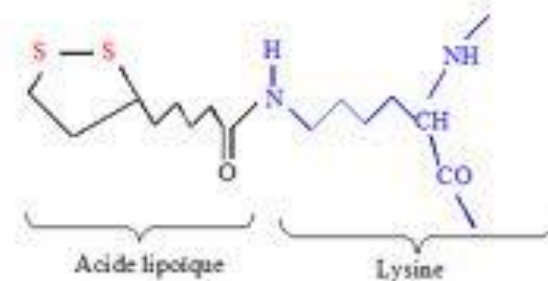
β-mercaptoethylamine

pantothenate

adenosine 3', 5'-
diphosphate



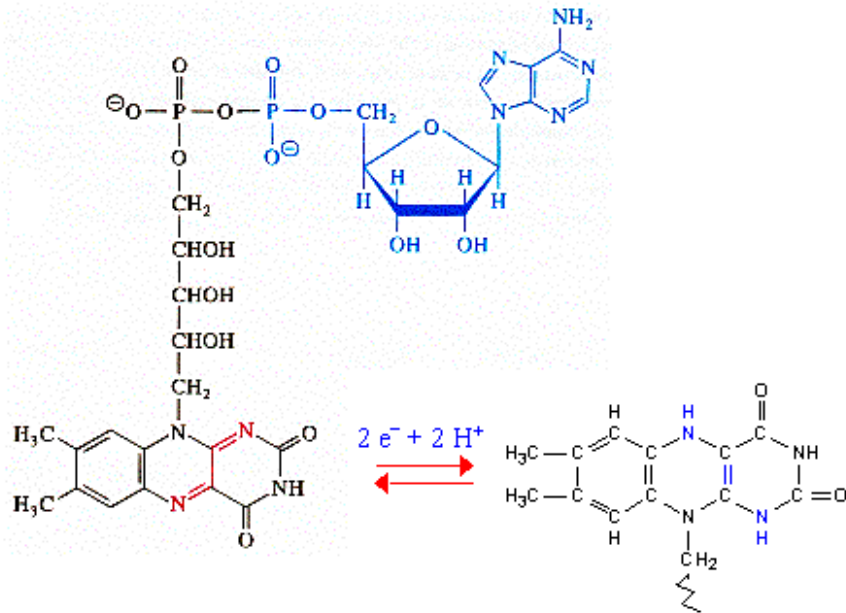
Complexe lipoamide (acide lipoïque - lysine)



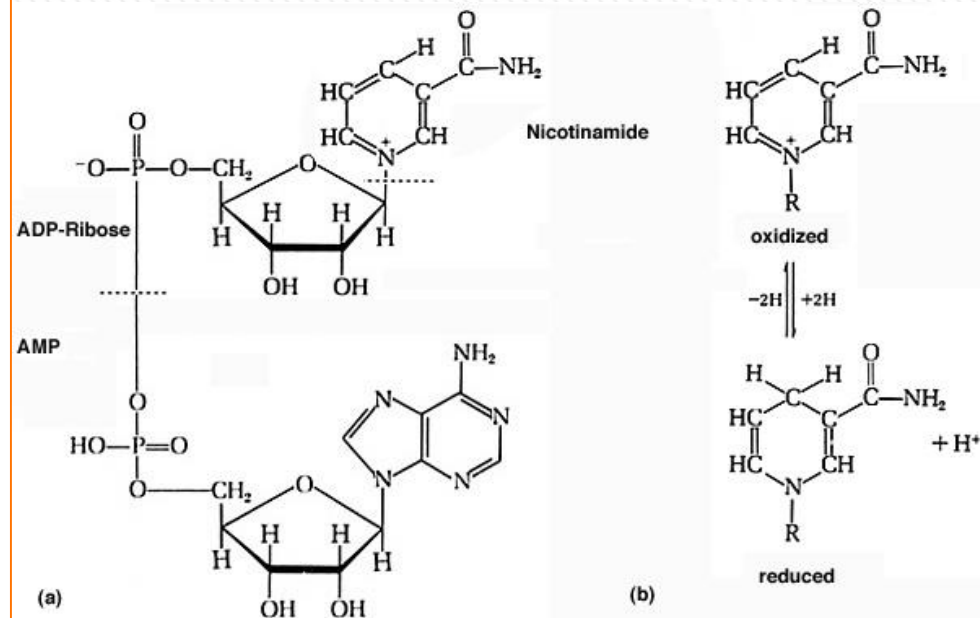
II - Les « devenirs » du pyruvate

Les cofacteurs:

E3 - FAD = Flavine Adénine Dinucléotide

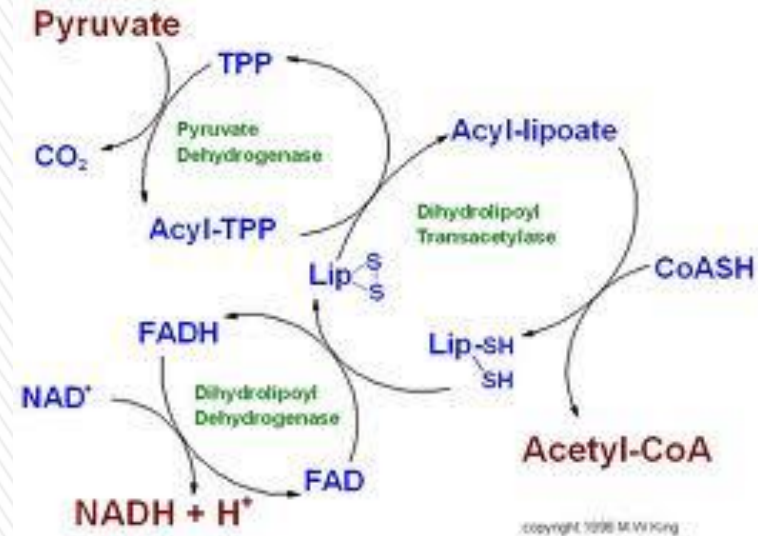


E3 NAD⁺ = Nicotinamide Adénine Dinucléotide

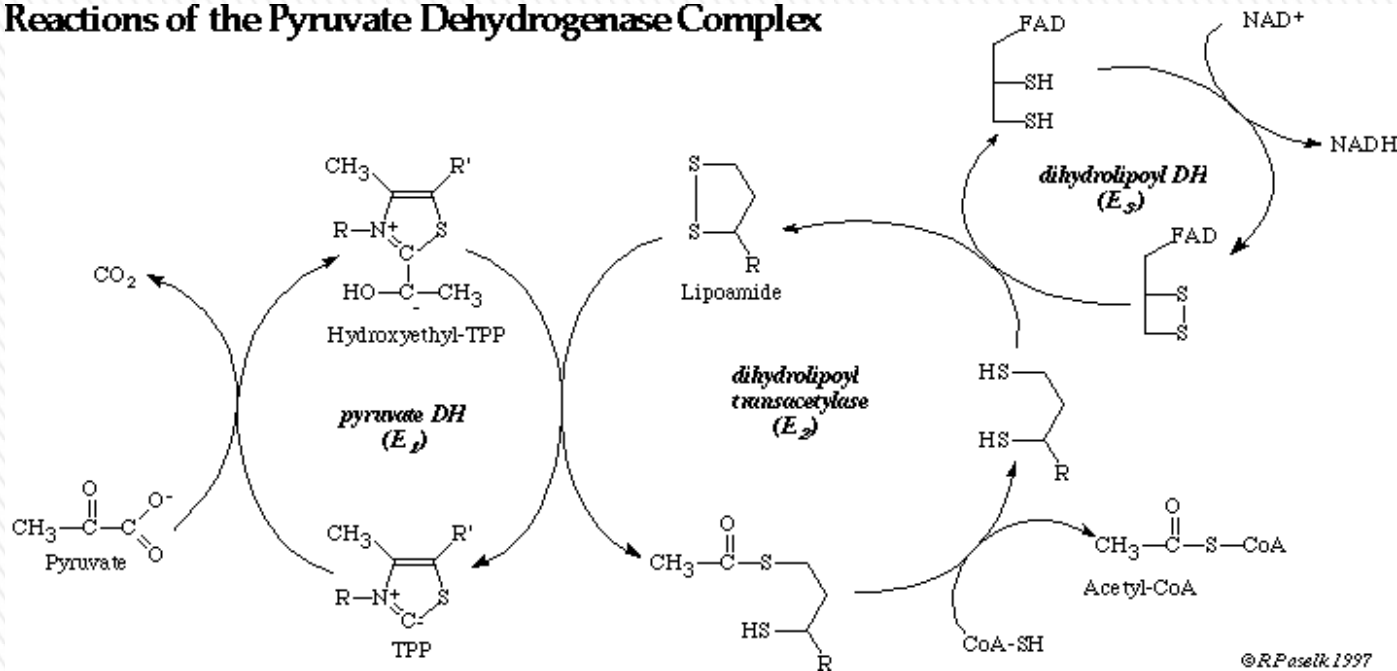


II - Les « devenirs » du pyruvate

Les 5 étapes de la décarboxylation oxydative du pyruvate dans la mitochondrie:



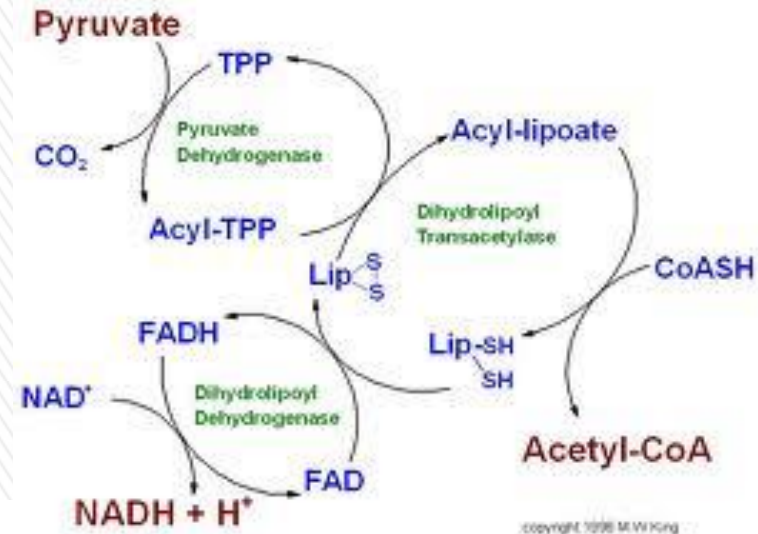
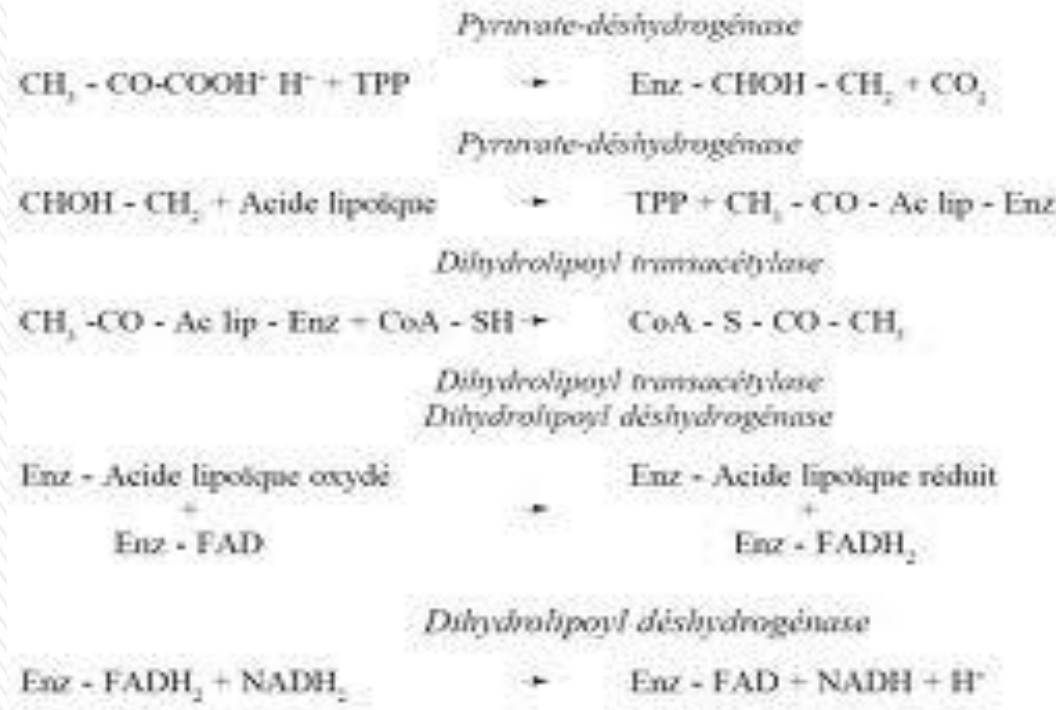
Reactions of the Pyruvate Dehydrogenase Complex



Le **NADH** généré est va être réoxydé en **NAD⁺** par transfert de ses électrons à la chaîne de transport des électrons.

II - Les « devenirs » du pyruvate

Les 5 étapes de la décarboxylation oxydative du pyruvate dans la mitochondrie:

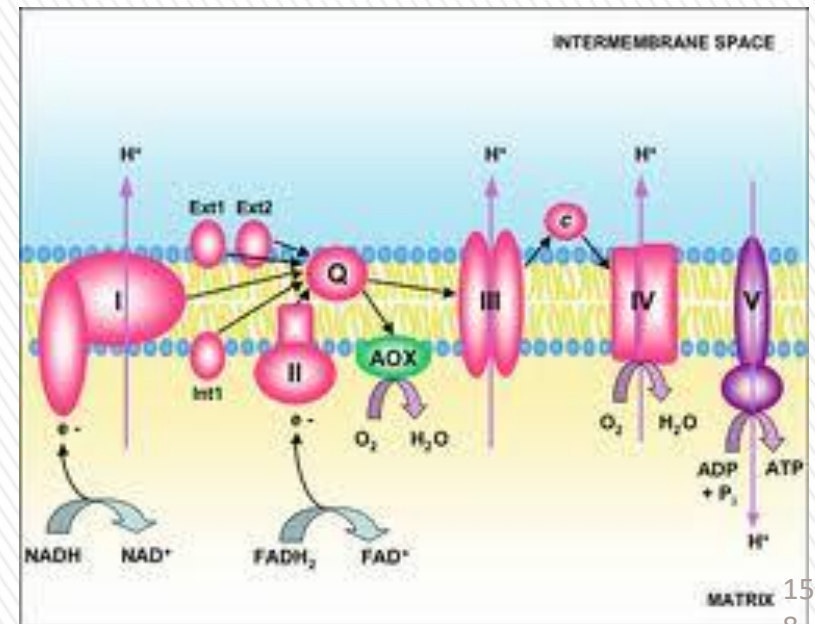
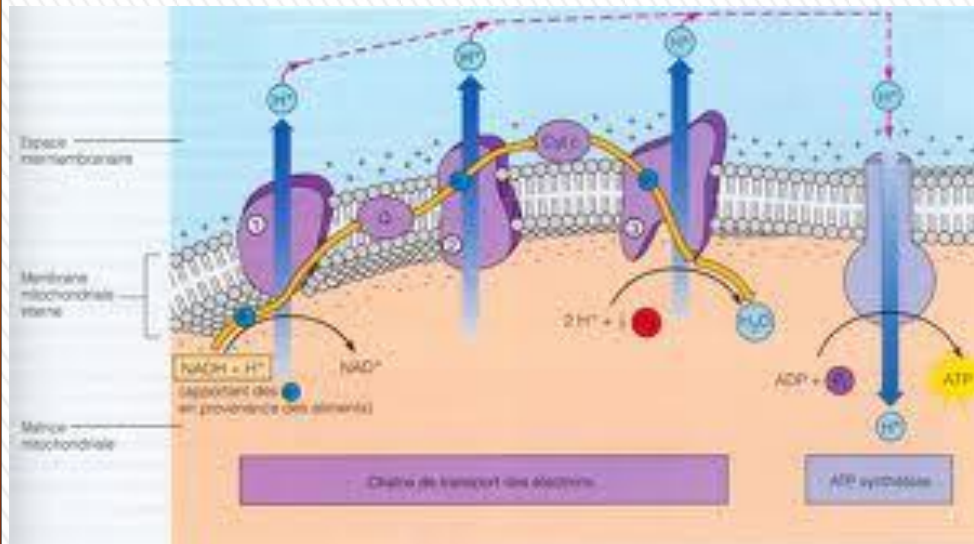


Le **NADH** généré est va être réoxydé en **NAD⁺** par transfert de ses électrons à la chaîne de transport des électrons.

II - Les « devenirs » du pyruvate

En aérobiose: Le mécanisme réactionnel de mobilisation de l'acétyl CoA dans la mitochondrie.

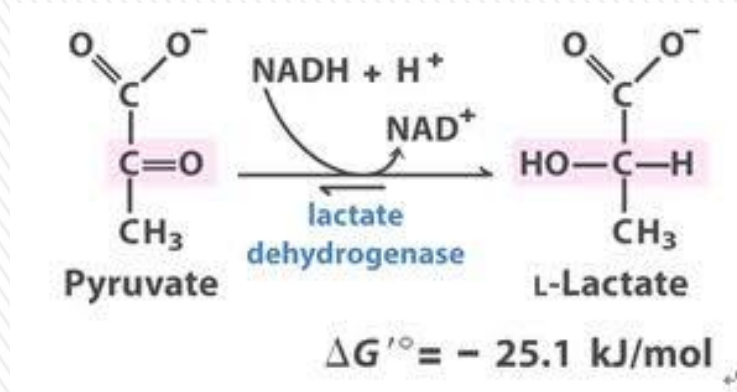
Le **NADH** généré est va être réoxydé en **NAD⁺** par transfert de ses électrons à la chaîne de transport des électrons.



II - Les « devenir » du pyruvate

En anaérobiose (fermentation lactique):

Cette réaction se déroule **dans le cytoplasme**.



lactate deshydrogénase = LDH ;

il existe 5 formes isoenzymatiques séparables par électrophorèse

$\Delta G'^{\circ} = -6,0 \text{ Kcal/mole}$

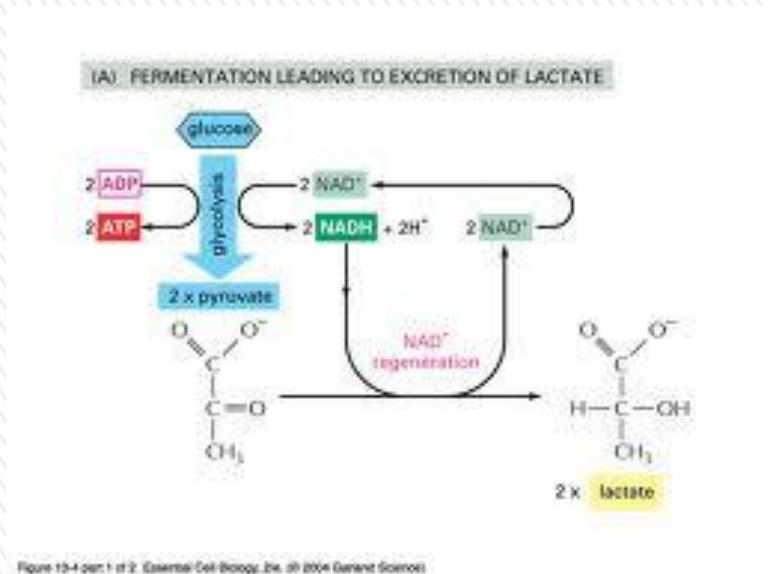
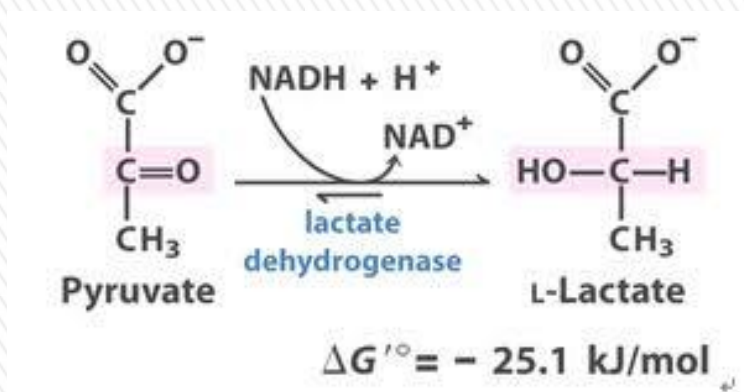
Le pyruvate est réduit en lactate au cours d'une **réaction pratiquement irréversible** dans les conditions cellulaires.

Une fraction du lactate pourra être récupérée ultérieurement par le foie pour une néosynthèse du glucose.

L'acide lactique produit devient toxique pour la cellule lorsqu'il s'accumule.

II - Les « devenirs » du pyruvate

En anaérobiose (fermentation lactique):



Le but de cette réaction est de réoxyder les 2 (NADH + H⁺) générés lors de la glycolyse pour permettre à cette voie de se poursuivre compte tenu que les quantités en NAD⁺ sont limitantes dans la cytoplasme et que l'oxydoréductase glycolytique (la glycéraldéhyde-3-phosphate deshydrogénase) a besoin du cofacteur sous forme oxydée. La cellule peut momentanément continuer à générer de l'énergie via cette voie.

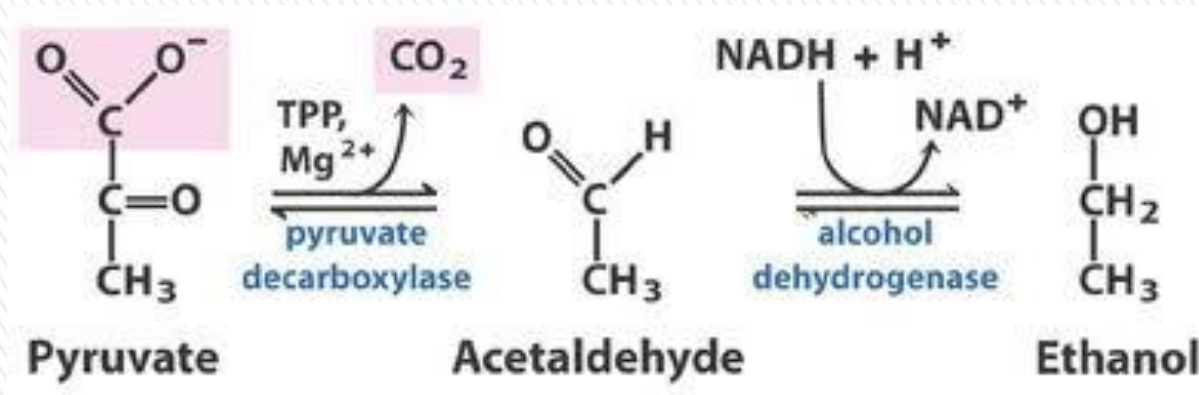
Cette réaction peut se dérouler de manière intense dans les cellules des muscles striés squelettiques lorsque les conditions d'oxygénation cellulaires ne sont pas suffisantes (lors d'un effort musculaire intense et d'un apport insuffisant en oxygène pour permettre un métabolisme totalement aérobie). L'accumulation dans les cellules d'acide lactique peut occasionner des douleurs dans les tissus concernés (crampes).

Exemple d'organisme réalisant la fermentation lactique en anaérobiose : bactérie lactique.

II - Les « devenirs » du pyruvate

En anaérobiose (fermentation alcoolique):

Cette réaction se déroule **dans le cytoplasme**.



Mg²⁺ et thiamine pyrophosphate

Pyruvate (C3) → Acétaldhédyde (CH₃ - CHO) + CO₂
pyruvate décarboxylase

Zn²⁺

Acétaldhédyde (C2) + NADH + H⁺ ↔ Ethanol (CH₃ - CH₂OH) + NAD⁺
alcool deshydrogénase

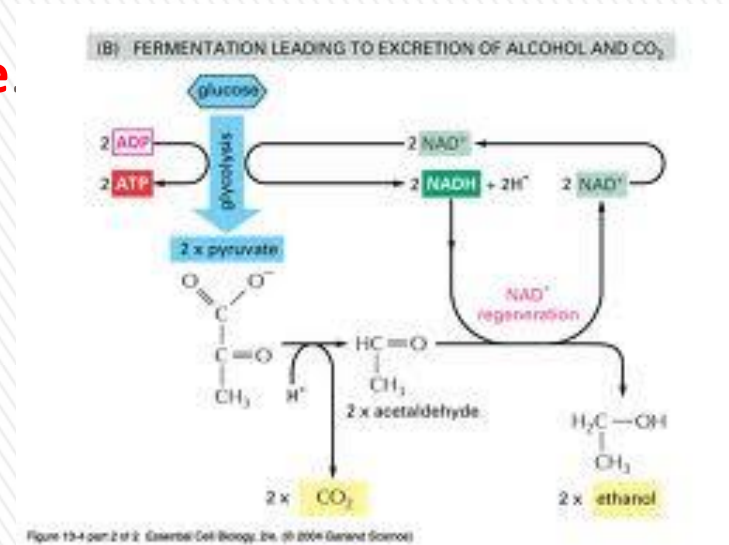
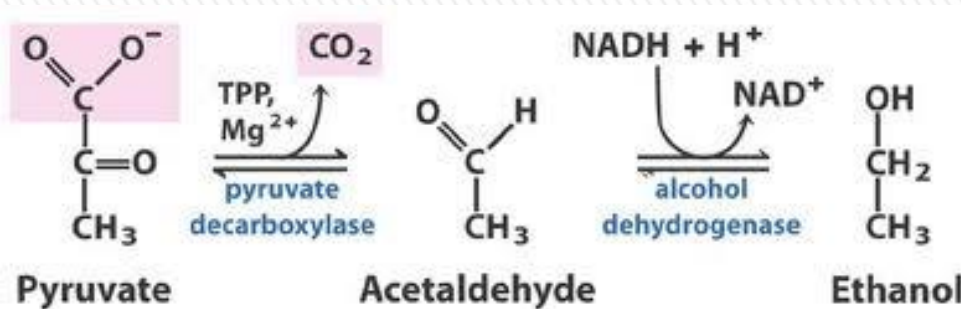
L'éthanol accumulé dans la cellule est également toxique tout comme l'acide lactique.

Sylviane Delannay

II - Les « devenirs » du pyruvate

En anaérobiose (fermentation alcoolique):

Cette réaction se déroule **dans le cytoplasme**.



Le but de cette réaction est de réoxyder les 2 ($\text{NADH} + \text{H}^+$) générés lors de la glycolyse dans le cytoplasme.

Remarques :

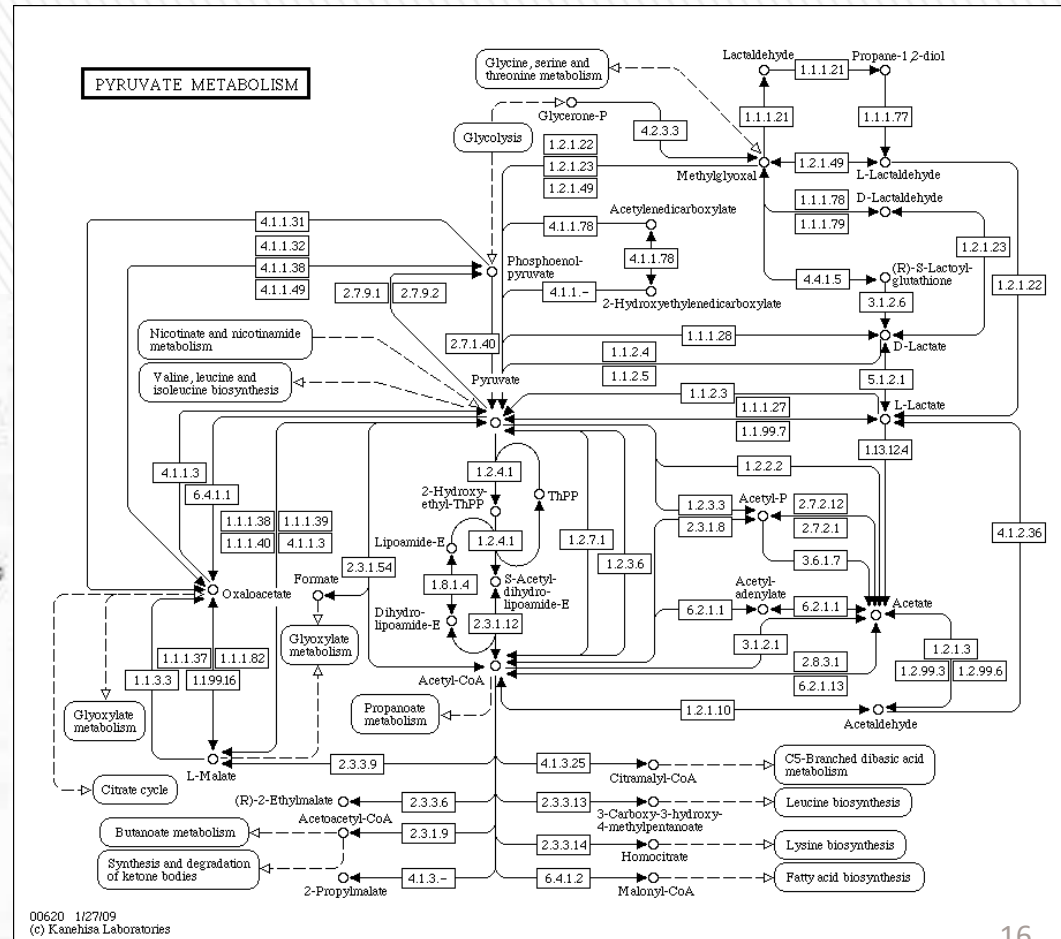
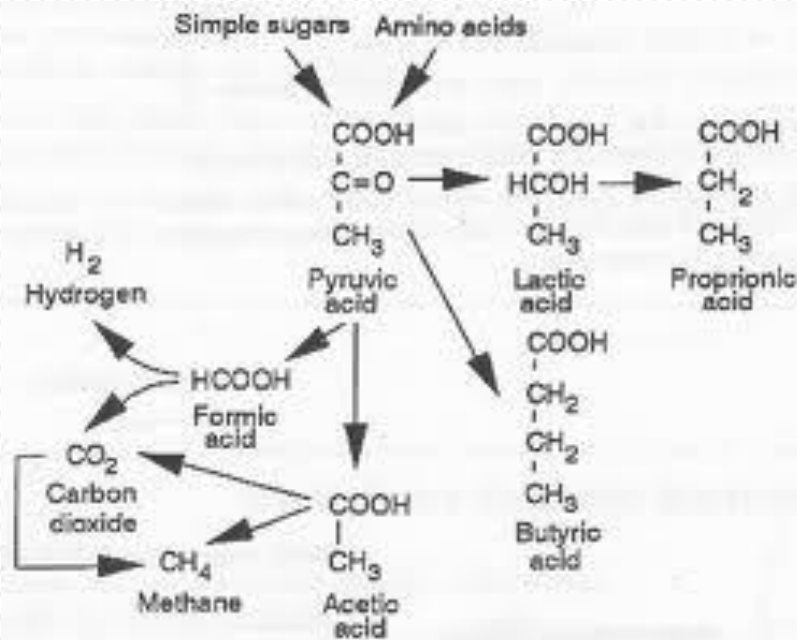
- l'alcool deshydrogénase peut être inhibée par l'entabuse et une substance présente dans la coprin noir d'encre (ces 2 substance sont des inhibiteurs pas des effecteurs négatifs) ;
- l'alcool deshydrogénase permet la transformation de l'alcool ingéré par catalyse de la réaction dans le sens gauche-droite.

Exemple d'organisme réalisant la fermentation alcoolique en anaérobiose : **levure de bière** (*Saccharomycès cerevisae*)

II - Les « devenirs » du pyruvate

Autres « devenirs » du pyruvate :

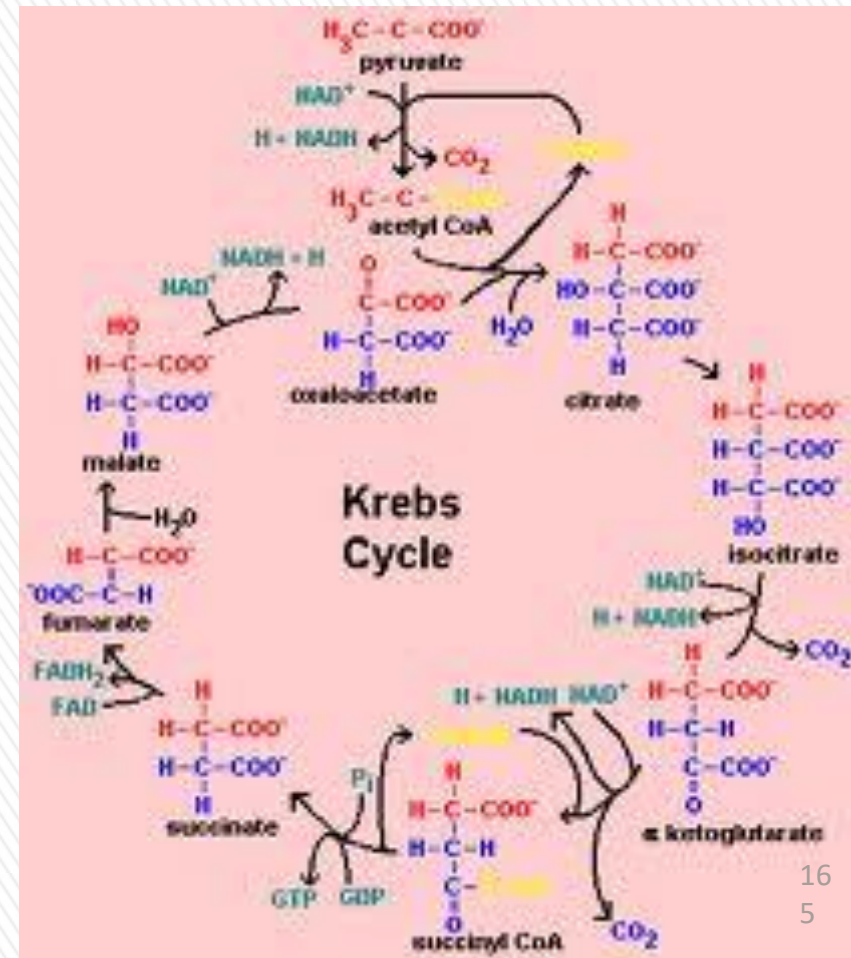
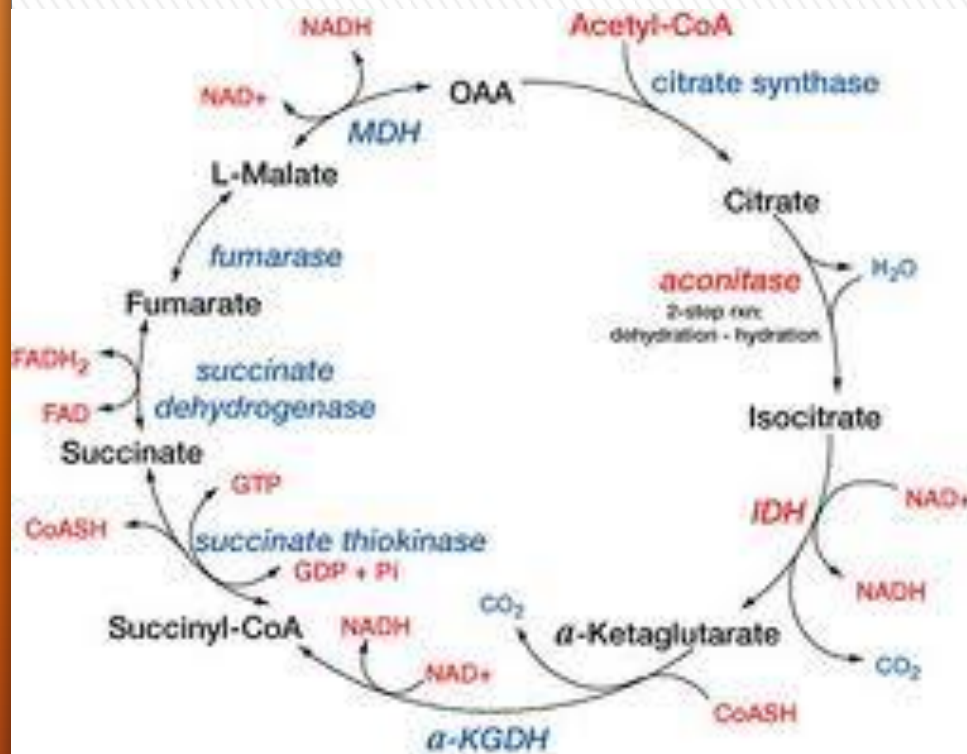
Certains microorganismes peuvent générer par fermentation d'autres composés organiques : acétone, butanol, acétate,...



Dans le domaine industriel (agro-alimentaire,...), l'exploitation du métabolisme anaérobie de beaucoup de microorganismes peut s'avérer très intéressante (biotechnologies traditionnelles et nouvelles).

III – Le cycle des acides tricarboxyliques =
cycle du citrate = cycle de l'acide citrique =
cycle de Krebs

III – Le cycle des acides tricarboxyliques = cycle du citrate = cycle de l'acide citrique = **cycle de Krebs**



cycle du citrate = cycle de l'acide citrique = cycle de Krebs

Étape 8 La dernière étape d'oxydation produit une autre mole de $\text{NADH} + \text{H}^+$ et régénère l'oxaloacétate, qui accepte un fragment à deux atomes de carbone de l'acétyl-CoA. Et le cycle recommence.

Étape 7 L'ajout de H_2O modifie les liaisons du substrat.

Étape 6 Pendant une autre étape d'oxydation, deux atomes d'hydrogène rejoignent la FAD qui devient FADH_2 .

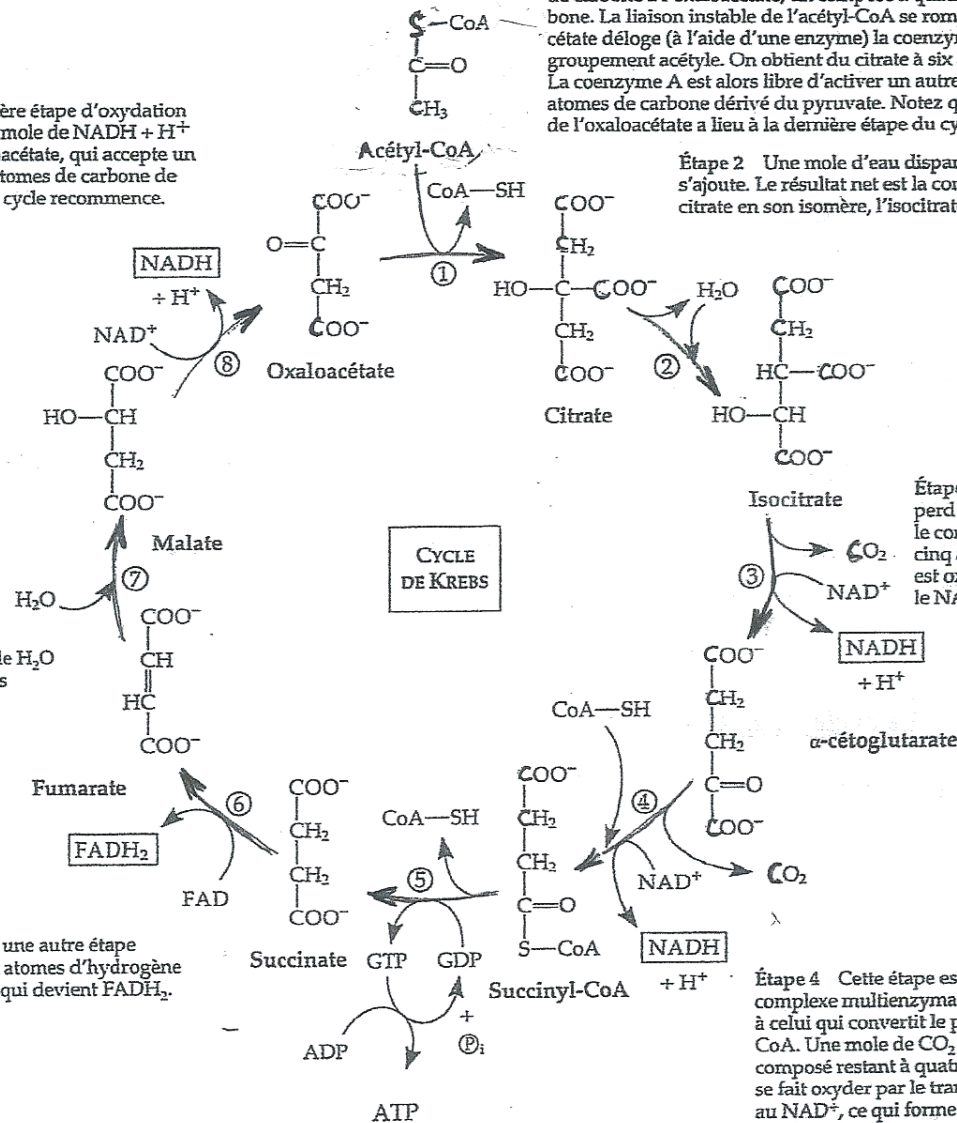
Étape 5 Une phosphorylation au niveau du substrat se produit à cette étape. Un groupement phosphate déloge la coenzyme A et est ensuite transféré à la guanosine diphosphate (GDP) pour former la guanosine triphosphate (GTP). La GTP ressemble à l'ATP qui se forme quand la GTP cède un groupement phosphate à l'ADP.

Étape 1 L'acétyl-CoA ajoute son fragment possédant deux atomes de carbone à l'oxaloacétate, un composé à quatre atomes de carbone. La liaison instable de l'acétyl-CoA se rompt lorsque l'oxaloacétate déloge (à l'aide d'une enzyme) la coenzyme A et s'attache au groupement acétyl. On obtient du citrate à six atomes de carbone. La coenzyme A est alors libre d'activer un autre fragment à deux atomes de carbone dérivé du pyruvate. Notez que la régénération de l'oxaloacétate a lieu à la dernière étape du cycle.

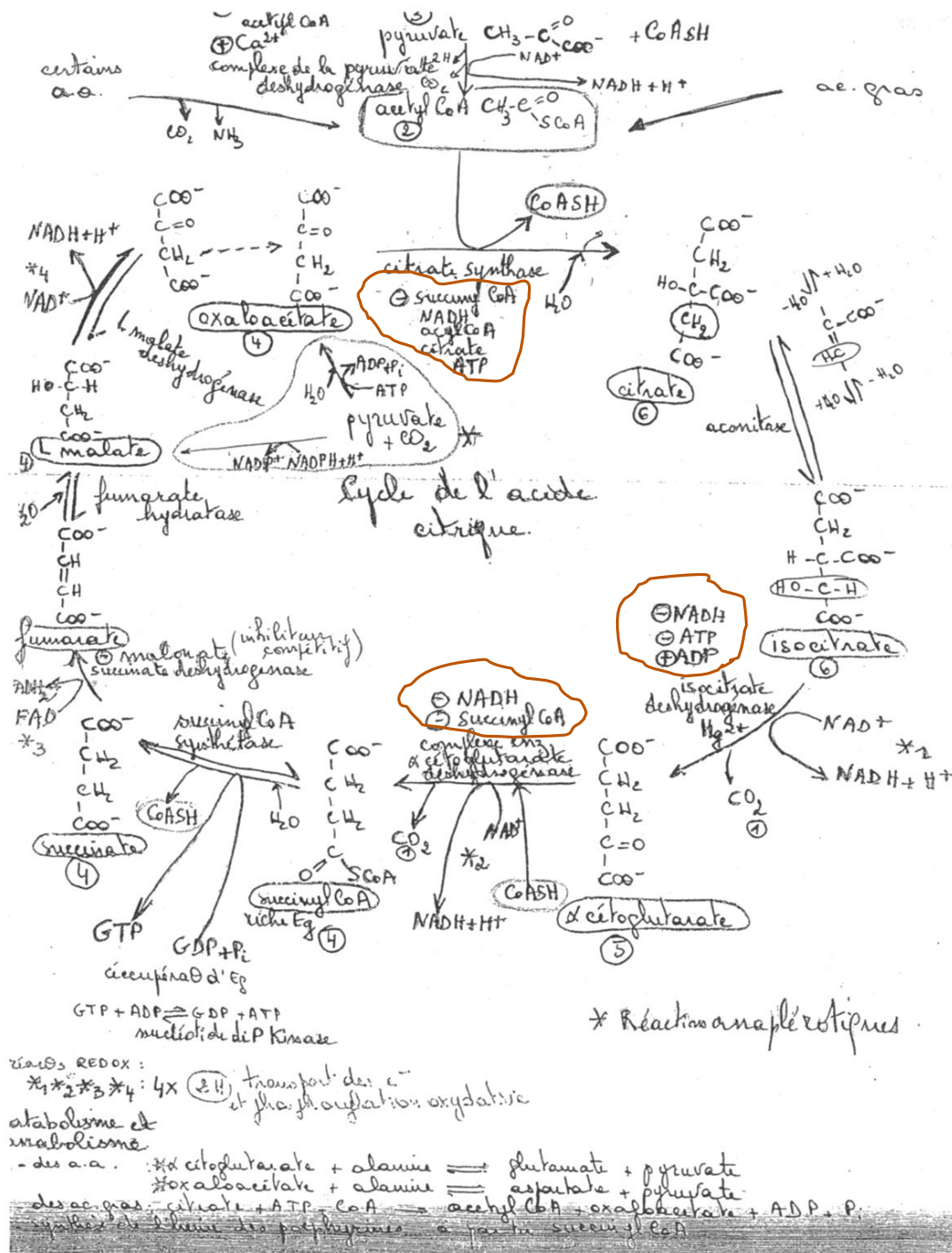
Étape 2 Une mole d'eau disparaît et une autre s'ajoute. Le résultat net est la conversion du citrate en son isomère, l'isocitrate.

Étape 3 Le substrat perd une mole de CO_2 et le composé restant à cinq atomes de carbone est oxydé, ce qui réduit le NAD^+ en $\text{NADH} + \text{H}^+$.

Étape 4 Cette étape est catalysée par un complexe multienzymatique très semblable à celui qui convertit le pyruvate en acétyl-CoA. Une mole de CO_2 est perdue; le composé restant à quatre atomes de carbone se fait oxyder par le transfert d'électrons au NAD^+ , ce qui forme du $\text{NADH} + \text{H}^+$, puis il se lie à la coenzyme A par une liaison instable.



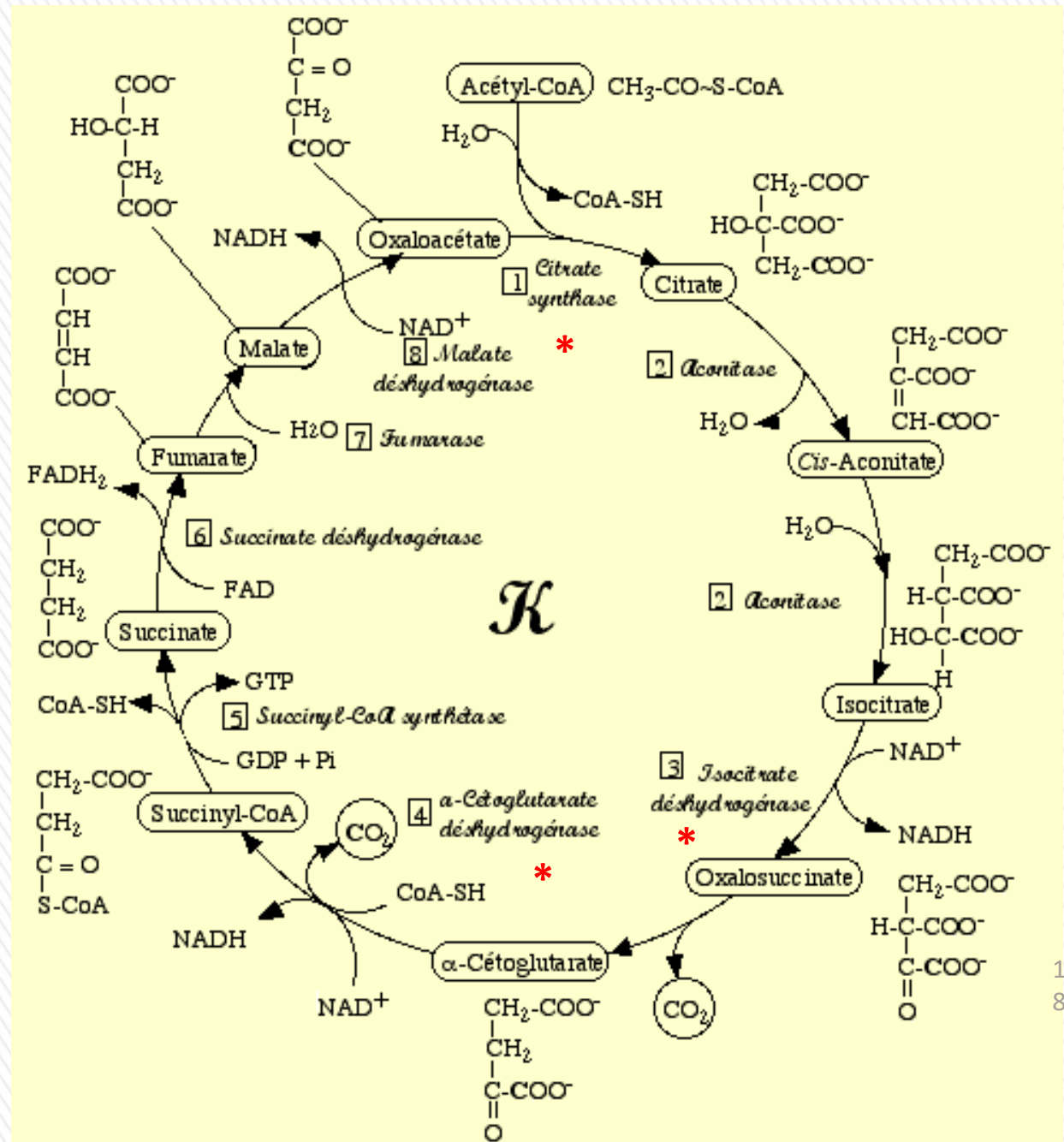
cycle du citrate =
cycle de l'acide
citrique =
cycle de Krebs



III – Le cycle des acides tricarboxyliques = cycle du citrate = cycle de l'acide citrique

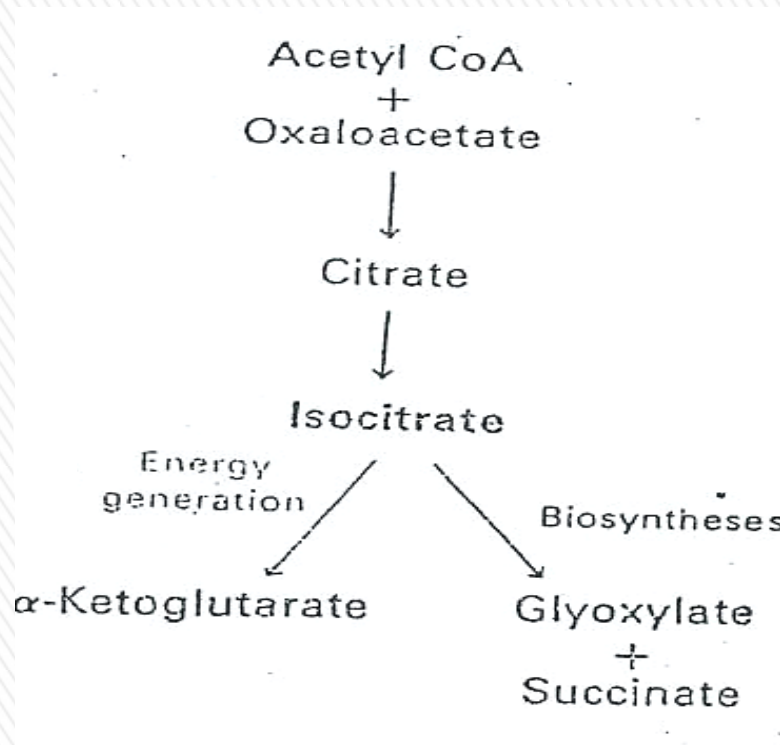
≡ **cycle de Krebs**

* étapes de régulation
catalysées par des
enzymes allostériques



III – Le cycle du glyoxylate

chez certains microorganismes, chez les végétaux (graines en germination)

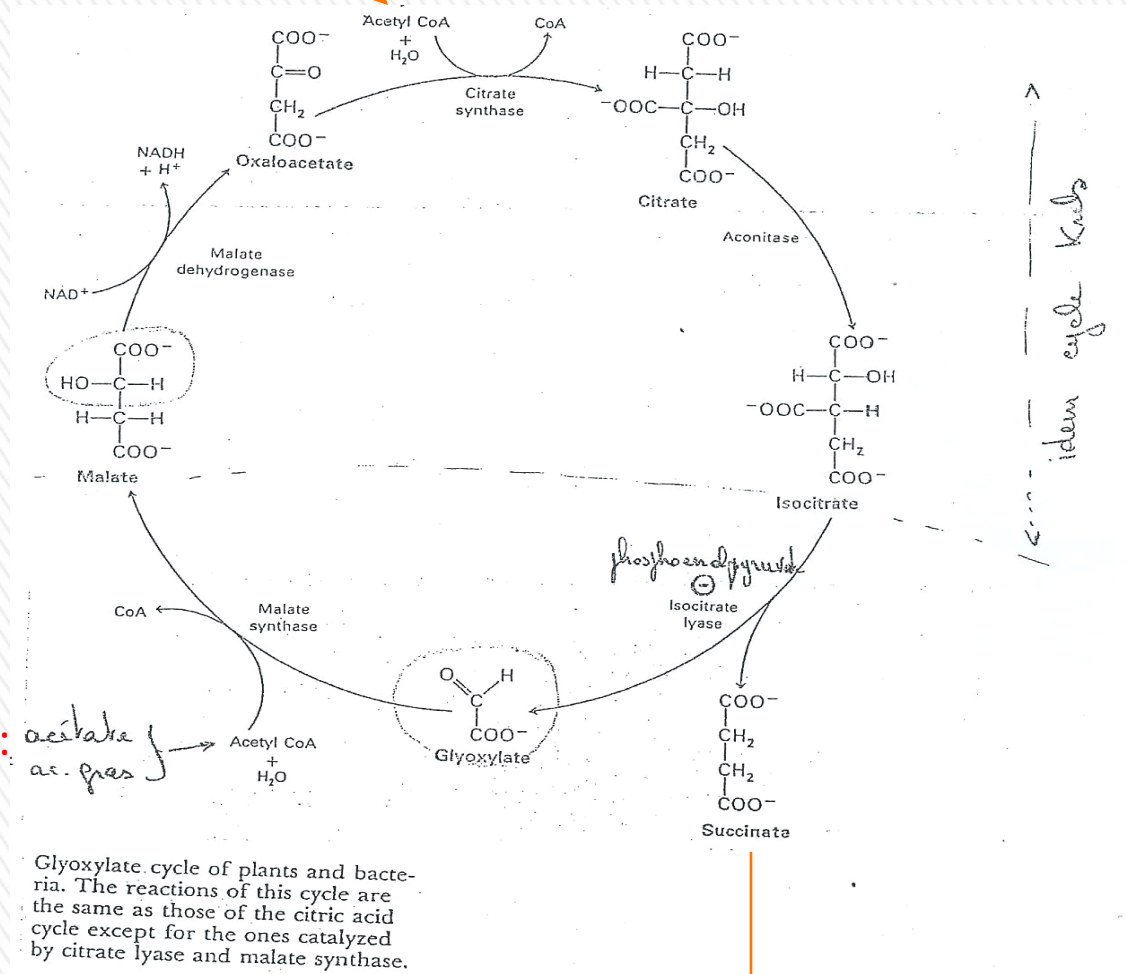


Cycle de Krebs

Cycle du glyoxylate

III – Le cycle du glyoxylate

Sources de Carbone: acétate, acides gras



Sources de Carbone: acétate, ac. gras

Glucides

III – Le cycle du glyoxylate

Bilan:



Consommation: 2 acétylCoA provenant d'une source de carbone comme acétate, acides gras,...

Formation : 1 succinate $\rightarrow$ glucides

IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 1 . Introduction

Les voies cataboliques comprennent un grand nombre de réactions d'oxydoréduction avec oxydation du substrat organique et transfert des électrons au niveau du cofacteur enzymatique spécifique.

Rappel de réactions d'oxydoréduction rencontrées:

- glycolyse (oxydation du phosphoglycéraldéhyde);
- mobilisation de l'acétyl CoA (pyruvate deshydrogénase);
- cycle des acides tricarboxyliques (oxydation d'intermédiaires)

Egalement dans les voies de dégradation des acides gras et des acides aminés.

Ces réactions sont caractérisées par le transfert d'électrons d'un donneur d'électrons (réducteur) sur un accepteur d'électrons (oxydant).

La réaction peut s'écrire simplement :

donneur d'électron (SH_2) $\leftrightarrow$ e^- + accepteur d'électrons.

IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 1 . Introduction

La **constante de la réaction** exprime la tendance d'un agent réducteur à céder un électron.

Cette propriété est généralement traduite par le **potentiel standard de réduction**, défini comme étant la force proton motrice (fem) fournie par le couple oxydant-réducteur (à une concentration de 1M, 25°C, pH 7) par rapport à un couple de référence (de potentiel standard d'oxydo-réduction connu).

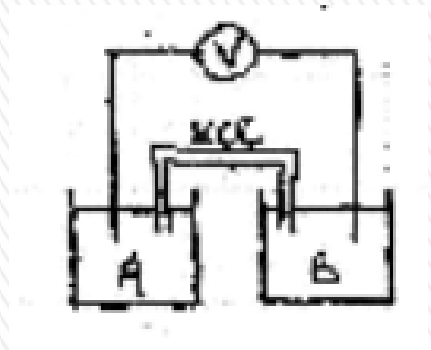
L'étalon de référence est le potentiel de réduction de la réaction



A pH 7 ($[\text{H}^+] = 10^{-7}\text{M}$), le potentiel standard de réduction du système = - 0,421 V.

La relation qui existe entre le potentiel standard de réduction d'un couple rédox donné, le potentiel mesuré et le rapport des concentrations de l'oxydant et du réducteur est donné par l'équation de NERNST :

$$E_n = E'_o + \frac{2,303 \text{ R T}}{n \text{ F}} \cdot \log \frac{[\text{accepteur d'électrons}]}{[\text{donneur d'électrons}]}$$



A = solution à étudier

B = cellule de référence

IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 1 . Introduction

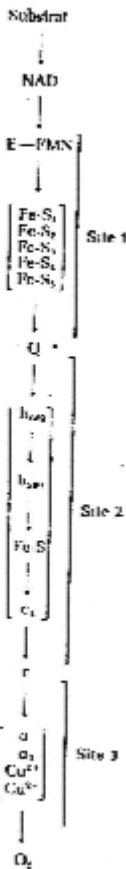
Les systèmes qui ont un potentiel standard de réduction **plus négatif** que celui du couple $2 \text{H}^+ + 2 \text{e}^- \leftrightarrow \text{H}_2$ ont une **tendance plus grande que l'hydrogène à perdre leurs électrons** ; ceux dont le potentiel standard de réduction est **plus positif**, au contraire, ont une **tendance plus faible à les perdre**.

La direction du flux des électrons d'un couple rédox vers un autre peut être déduite des potentiels standards d'oxydoréduction.

IV - 1 . Introduction

IV - 1 . Introduction

Equation à l'électrode	E_0 (V/K)
acétate + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ acétaldéhyde	-0,58
$2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2$	-0,421
α cétophtérate + $CO_2 + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ isocitrate	-0,38
acétylacétate + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons \beta$ -hydroxybutyrate	-0,346
$NAJ^+ + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons NAJH + H^+$	-0,320
acétaldéhyde + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ éthanol	-0,197
pyruvate + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ lactate	-0,185
oxalacétate + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ malate	-0,166
formate + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ succinate	-0,031
ubiquinone + $2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons$ ubiquinol	+0,000
1 cytochrome b (ox.) + $2e^- \rightleftharpoons$ 1 cytochrome b (red.)	+0,03
1 cytochrome c (ox.) + $2e^- \rightleftharpoons$ 1 cytochrome c (red.)	+0,254
1 cytochrome a_3 (ox.) + $2e^- \rightleftharpoons$ 1 cytochrome a_3 (red.)	+0,385
$\frac{1}{2} O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightleftharpoons H_2O$	+0,816



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

Les voies cataboliques comprennent un grand nombre de réactions d'oxydoréduction avec oxydation du substrat organique et transfert des électrons au niveau du coenzyme NAD^+ grâce à une déshydrogénase spécifique = **deshydrogénase à pyridine nucléotide**

Exemples:

glycolyse :

phosphoglyceraldéhyde déshydrogénase,

mobilisation de l'acétyl CoA :

pyruvate déshydrogénase,

cycle des acides tricarboxyliques :

oxydation d'intermédiaires par

des déshydrogénases spécifiques,

voies de dégradation des acides gras

et des acides aminés.

Tableau 17-11 Quelques réactions importantes catalysées par des déshydrogénases à NAD (ou NADP)

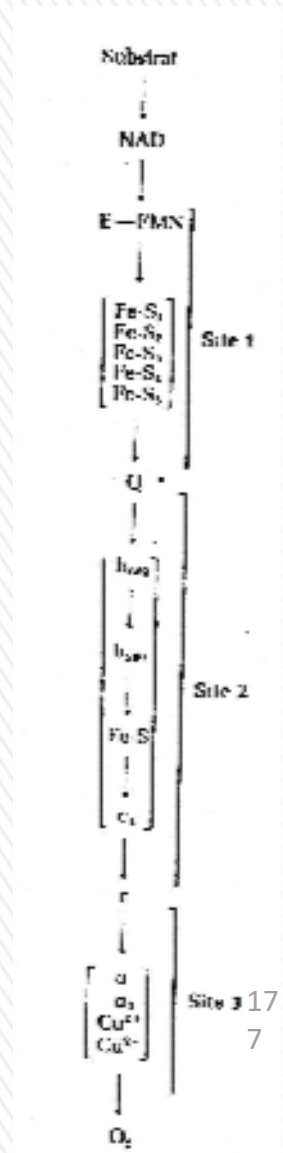
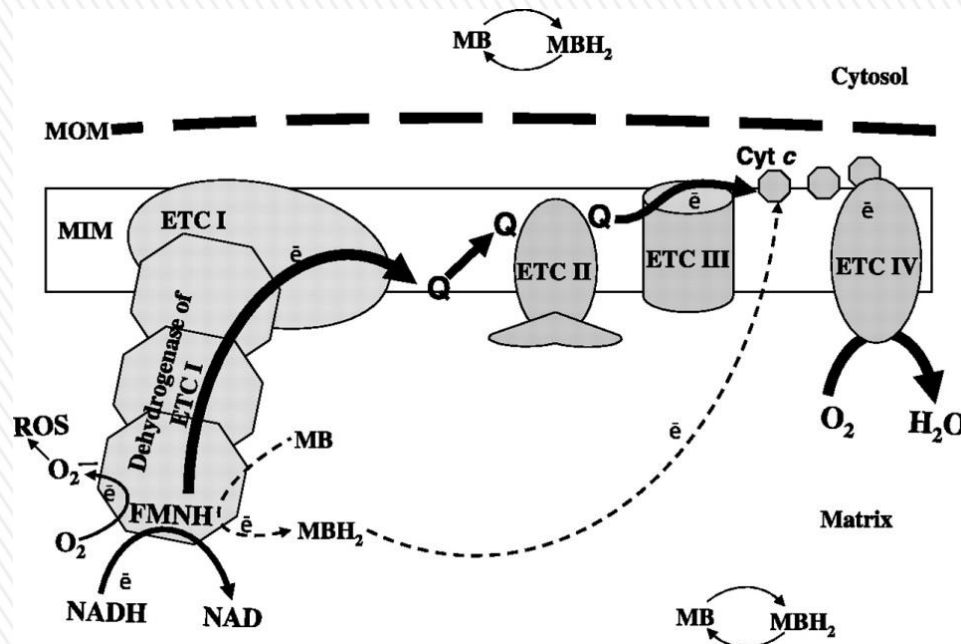
	Localisation *
NAD-A	
Isocitrate + $\text{NAD}^+ \rightleftharpoons$ α -Cétoglutarate + CO_2 + $\text{NADH} + \text{H}^+$	M
α -Cétoglutarate + CoA + $\text{NAD}^+ \rightleftharpoons$ succinyl CoA + CO_2 + $\text{NADH} + \text{H}^+$	M
L-Malate + $\text{NAD}^+ \rightleftharpoons$ oxaloacétate + $\text{NADH} + \text{H}^+$	M et C
Pyruvate + CoA + $\text{NAD}^+ \rightleftharpoons$ acétyl CoA + CO_2 + $\text{NADH} + \text{H}^+$	M
Glyceraldéhyde 3-phosphate + P_i + $\text{NAD}^+ \rightleftharpoons$ 1,3-diphosphoglycerate + $\text{NADH} + \text{H}^+$	C
Lactate + $\text{NAD}^+ \rightleftharpoons$ pyruvate + $\text{NADH} + \text{H}^+$	C
NADP-A	
Isocitrate + $\text{NADP}^+ \rightleftharpoons$ α -Cétoglutarate + CO_2 + $\text{NADPH} + \text{H}^+$	M et C
Glucose 6-phosphate + $\text{NADP}^+ \rightleftharpoons$ 6-phosphogluconate + $\text{NADPH} + \text{H}^+$	C
NAD ou NADP	
L-Glutamate + H_2O + NAD^+ (NADP $^+$) $\rightleftharpoons$ α -Cétoglutarate + NH_3 + NADH (NADPH) + H^+	M

* M = mitochondrie et C = cytosol.

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

A l'issue de ces réactions, du **NADH+ H⁺** est produit dans la mitochondrie (sauf dans le cas particulier de l'oxydoréduction de la glycolyse dans le cytoplasme).

Le NADH+ H⁺ produit va transférer ses 2 électrons au 1^{er} complexe de la chaîne de transport des électrons dont le site actif est orienté côté matrice mitochondriale.



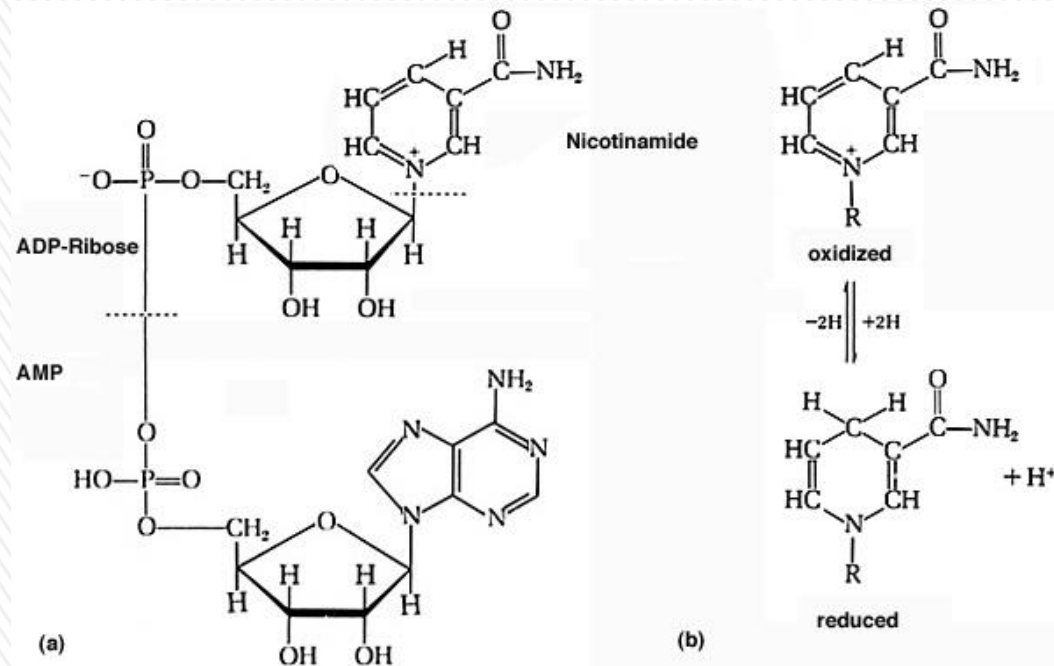
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

Caractéristiques des déshydrogénases à pyridines nucléotides (utilisant comme coenzyme le NAD^+).

Le NAD^+ (Nicotinamide Adénine Dinucléotide) est un cofacteur pour de nombreuses déshydrogénases spécifiques, il intervient comme accepteur d'électrons; la prise en charge des électrons se fait au niveau du noyau nicotinamide (vitamine B3).

Le NADH libéré du site actif des déshydrogénases spécifiques va transmettre ses 2 électrons au 1^{er} complexe de la chaîne de transport des électrons.



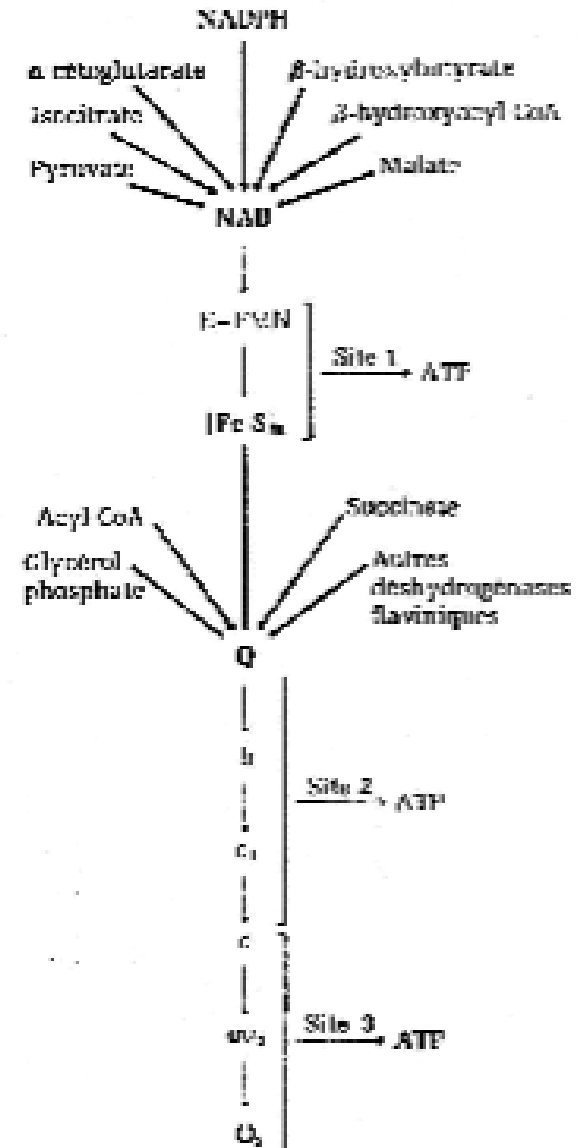
Le NAD^+ est un co-enzyme c-à-d une molécule organique liée par liaisons faibles au niveau du site actif de l'enzyme; sa présence est indispensable pour la réaction catalytique.

IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

Caractéristiques des déshydrogénases à pyridines nucléotides (utilisant comme coenzyme le NAD^+).

Le NAD^+ joue le rôle de collecteur d'électrons provenant de différents substrats.

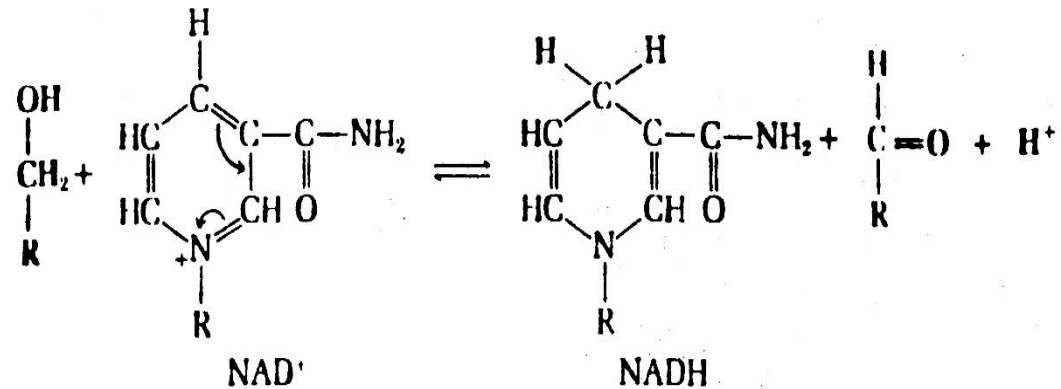


IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

Caractéristiques des déshydrogénases à **pyridines nucléotides** (utilisant comme coenzyme le NAD^+).

Les nucléotides pyridiniques jouent le rôle de collecteurs



Mécanisme réactionnel général d'une oxydation de substrat par une oxydoréductase utilisant comme cofacteur NAD^+ :

la réduction du NAD^+ s'effectue par transfert enzymatique d'un ion hydrure (:H^-) du substrat réduit (**S désigné par $\text{R-CH}_2\text{-OH}$**) à la position 4 du noyau nicotinamide du NAD^+ ; celui-ci est réduit en position 1 et 4 $\Rightarrow \text{NADH}$ (les 2 équivalents réducteurs sont transférés du substrat au NAD^+); l'autre atome d'hydrogène de la molécule de substrat apparaît sous forme de H^+ dans le milieu:

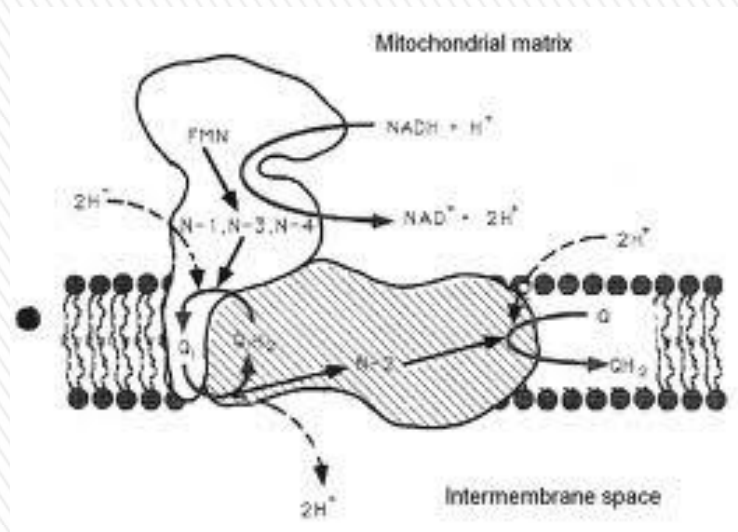


IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

Quelques remarques préliminaires :

- la plupart des **biomolécules sont associées et forment des complexes ancrés dans la membrane interne de la mitochondrie**, d'autres sont localisées cependant dans la matrice mitochondriale (déshydrogénases à NAD^+) ou dans l'espace intra membranaire (cytochrome c);
- ces complexes sont **orientés** dans la membrane ;



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

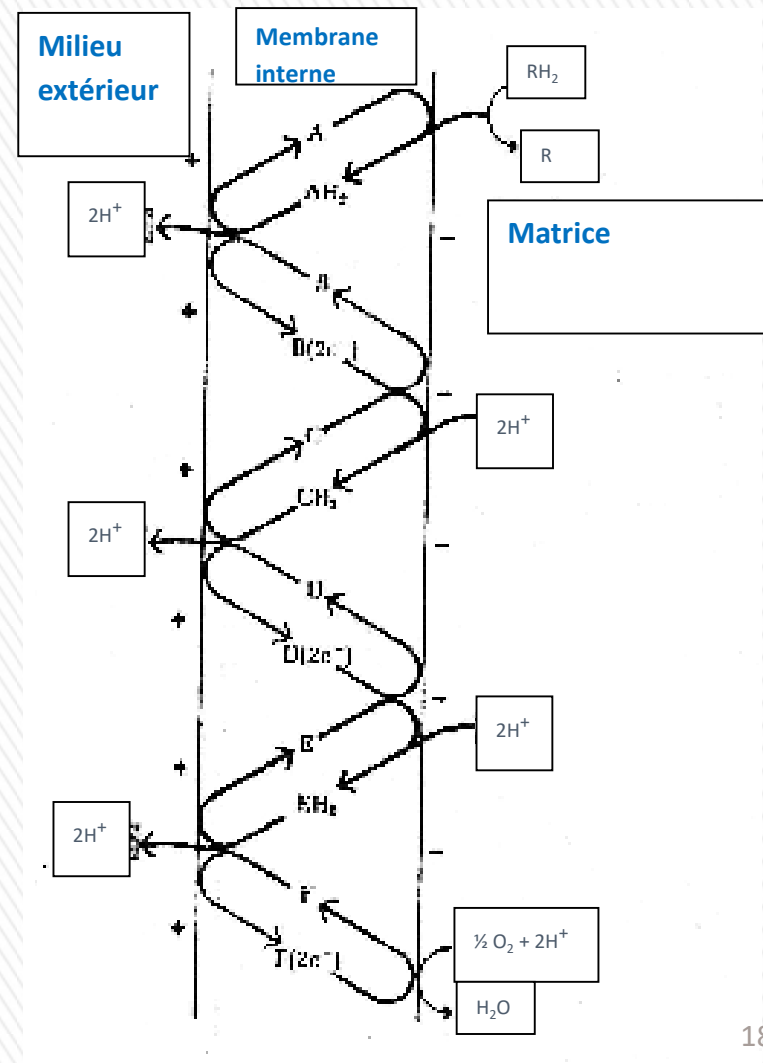
IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

Quelques remarques préliminaires :

- toutes les biomolécules prennent en charge un ou plusieurs électrons ; certaines prennent également des H^+ , d'autres pas.

Les H^+ sont prélevés dans la matrice mitochondriale et sont « abandonnés » à l'extérieur de la mitochondrie, ce qui génère lors du transfert un gradient transmembranaire d' H^+ (de part et d'autre de la membrane interne) car la membrane interne est imperméable à tout composé.

Le gradient transmembranaire d' H^+ détient une énergie potentielle chimique;

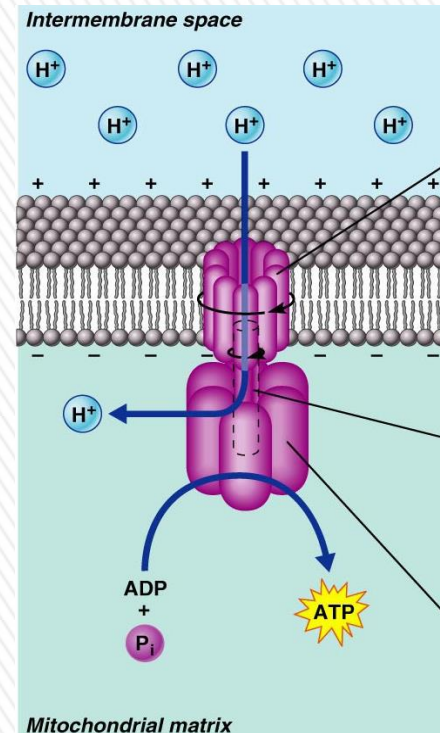


IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

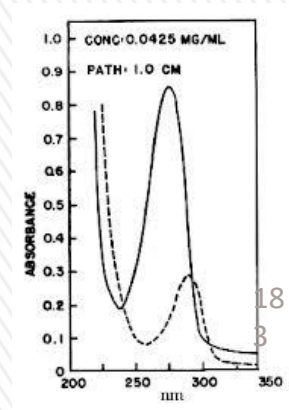
Quelques remarques préliminaires :

- Le passage des H^+ dans la partie transmembranaire de l'ATP synthétase libère dans la partie protubérante de la protéine (qui détient l'activité enzymatique) de l'énergie ; celle-ci est utilisée pour unir les substrats ADP et P_i et former de l'ATP ;



- le spectre des biomolécules sous forme réduite ou oxydée diffère ;

- l'organisation de la séquence de transfert repose sur le principe décrit : **transport des électrons du couple rédox de E^o le plus négatif vers le couple rédox le plus positif c-à-d l' O_2 dernier accepteur d'électrons de la chaîne.**



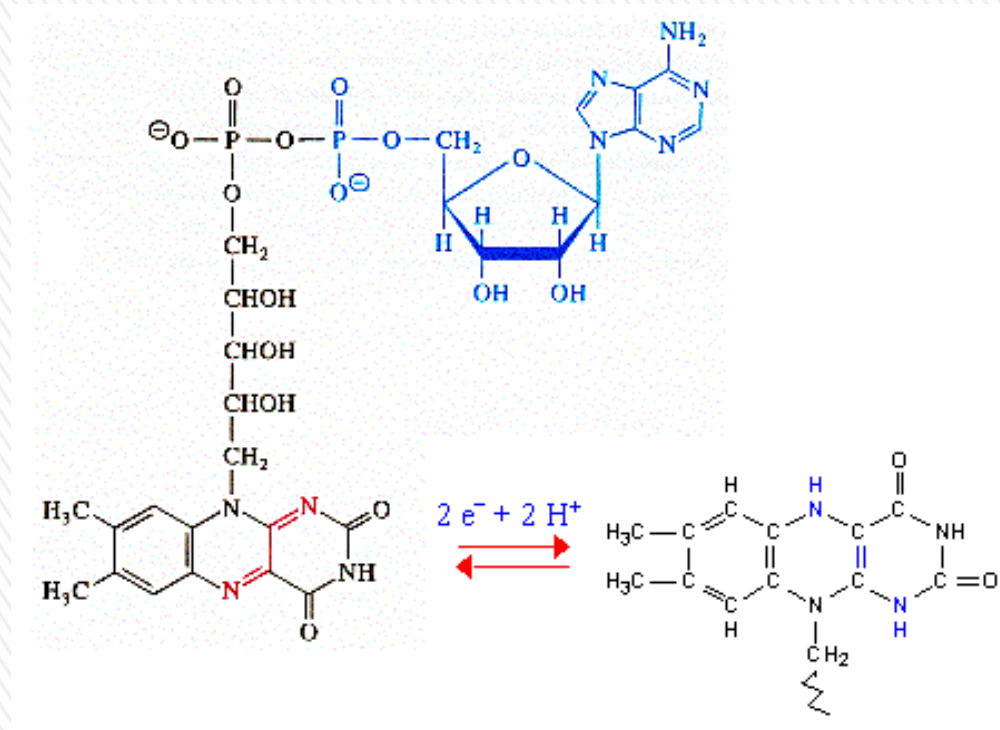
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

1°) les déshydrogénases flaviniques qui utilisent comme groupement prosthétique, soit du Flavine Adénine Dinucléotide (FAD), soit du Flavine Mono Nucléotide (FMN)



Le **FAD** (Flavine Adénine Dinucléotide) est un cofacteur pour de nombreuses déshydrogénases spécifiques, il intervient comme accepteur d'électrons; la prise en charge des **2 électrons** et des **2 H⁺** se fait au niveau du noyau flavinique (vitamine B).



Le FAD est un groupement prosthétique c-à-d une molécule organique liée par liaisons covalente au niveau du site actif de l'enzyme; sa présence est indispensable pour la réaction catalytique.

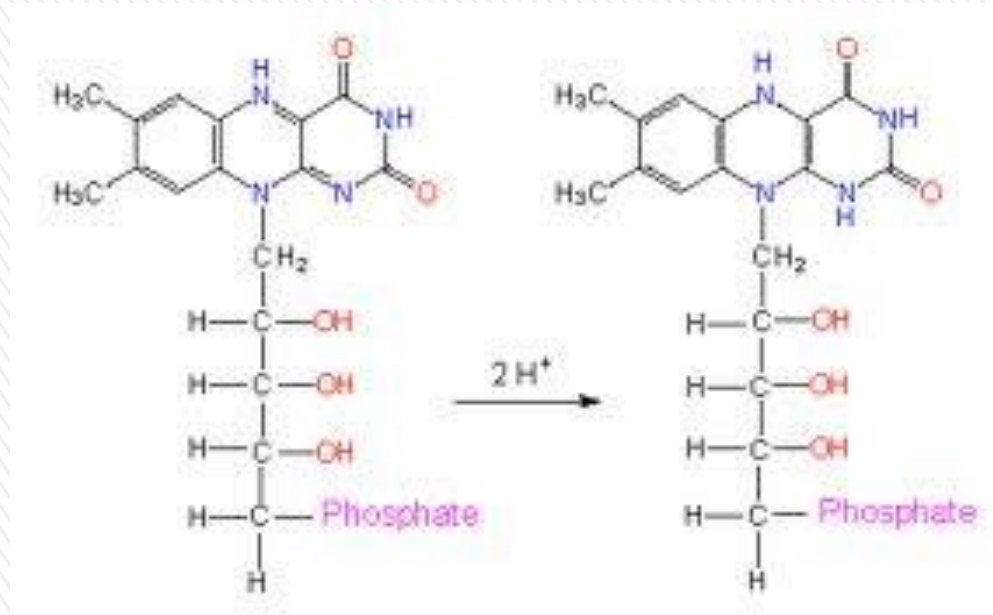
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

1°) les déshydrogénases flaviniques qui utilisent comme groupement prosthétique, soit du Flavine Adénine Dinucléotide (FAD), soit du Flavine Mono Nucléotide (FMN)



Le FMN (Flavine Mono Nucléotide) est un cofacteur pour de déshydrogénases spécifiques, il intervient comme accepteur d'électrons; la prise en charge des **2 électrons** et des **2 H⁺** se fait au niveau du noyau flavinique (vitamine B).



Le FMN est un groupement prosthétique c-à-d une molécule organique liée par liaisons covalente au niveau du site actif de l'enzyme; sa présence est indispensable pour la réaction catalytique.

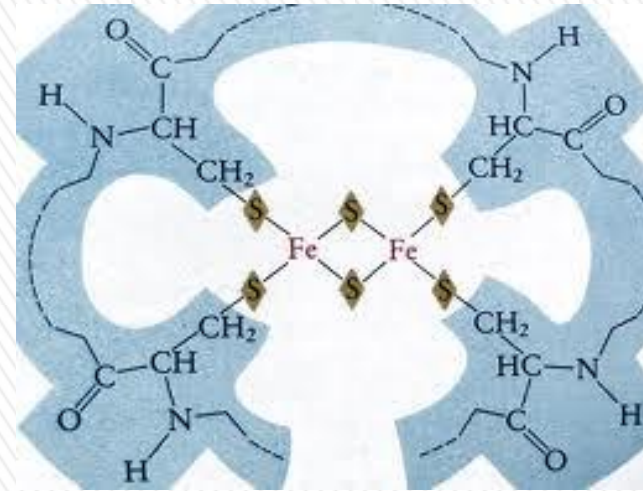
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

2°) les protéines dites « fer – soufre » = hétéroprotéines avec un centre (amas) Fer- Soufre

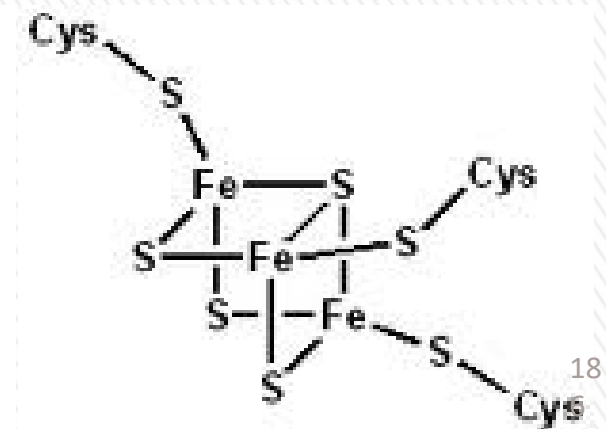
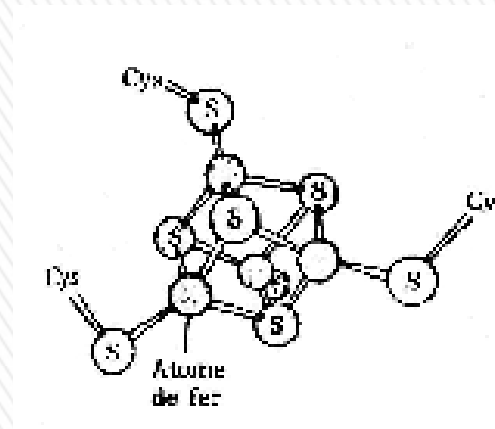
Les protéines Fer – Soufre acceptent des électrons au niveau de leurs atomes de Fer ($\text{Fe}^{3+} \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$) ;

elles ne prennent pas d' H^+ !!!



Elles peuvent comprendre 2Fe et 2S ou 4Fe et 4S...

et donc **accepter des électrons au prorata du nombre d'atomes de Fer présent**



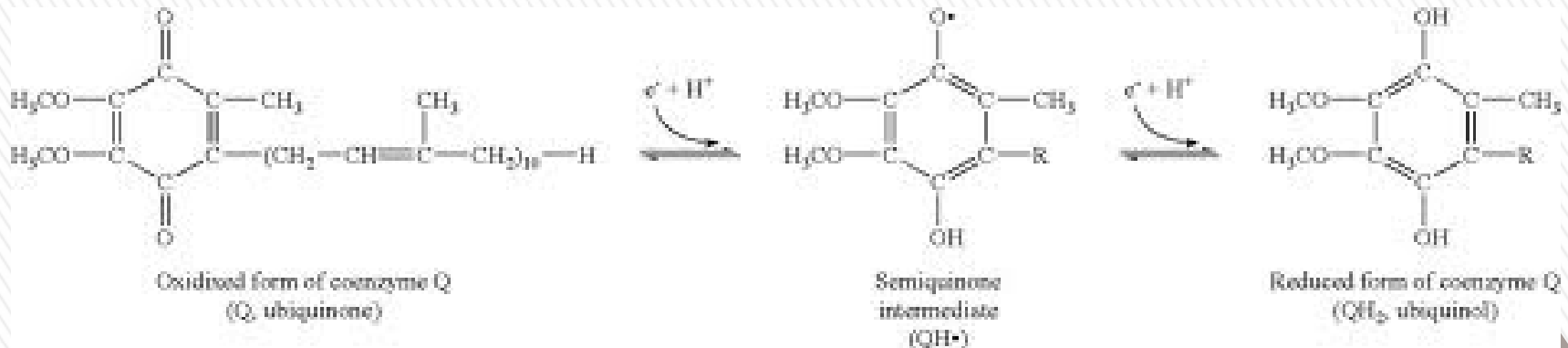
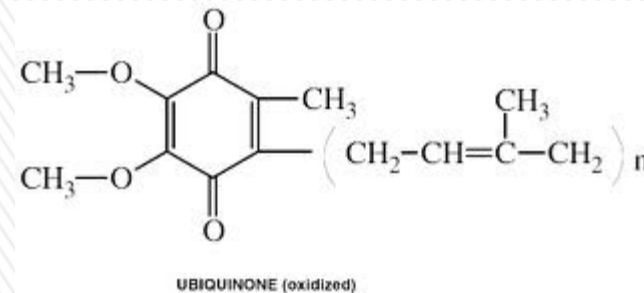
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

3°) l'ubiquinone ou le coenzyme Q liposoluble

Q (Ubiquinone) $\leftrightarrow$ QH₂ (Ubiquinol)

L'ubiquinone peut accepter
2 électrons et 2 H⁺.

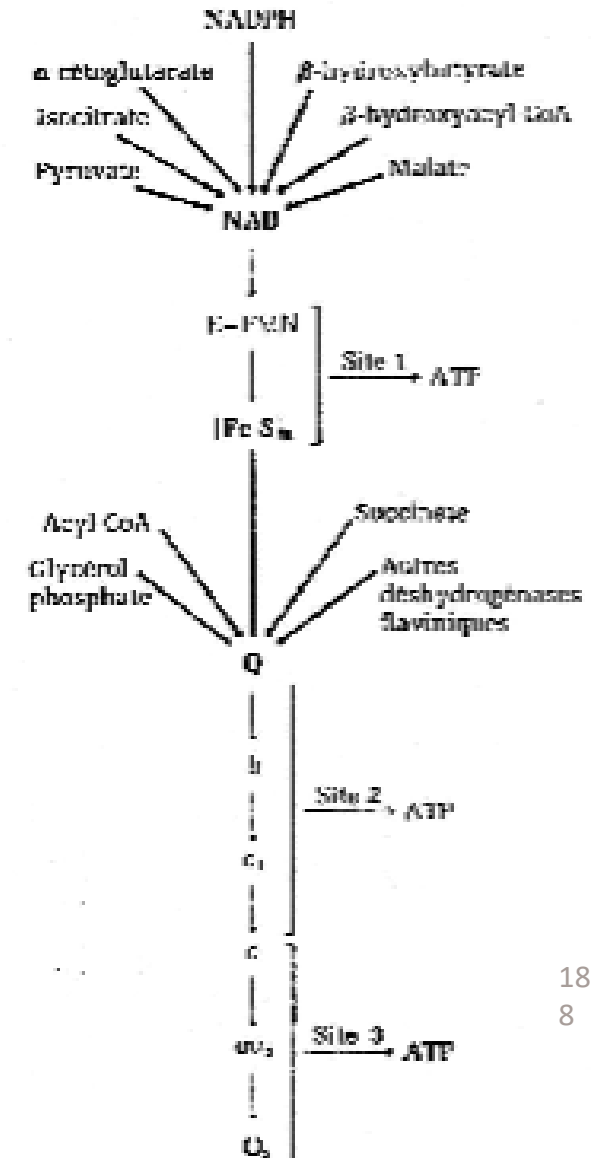


IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

3°) l'ubiquinone ou le coenzyme Q liposoluble

L'Ubiquinone joue le rôle de collecteur d'électrons provenant de différents substrats; les électrons sont transmis en cours de chaîne.



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

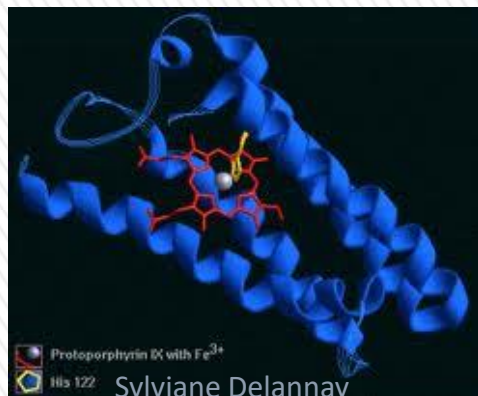
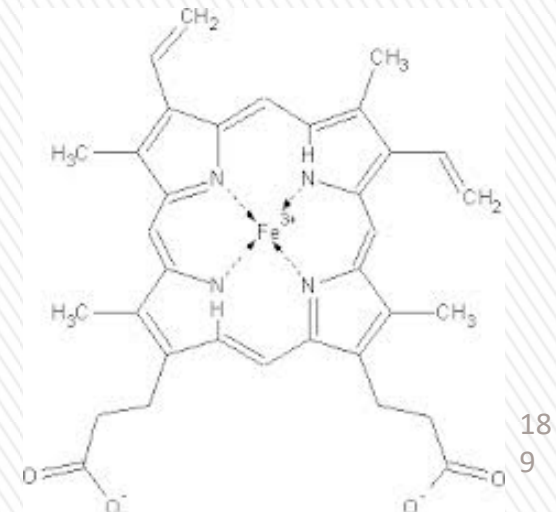
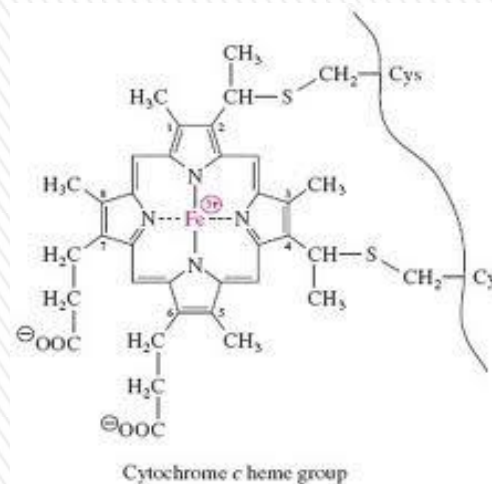
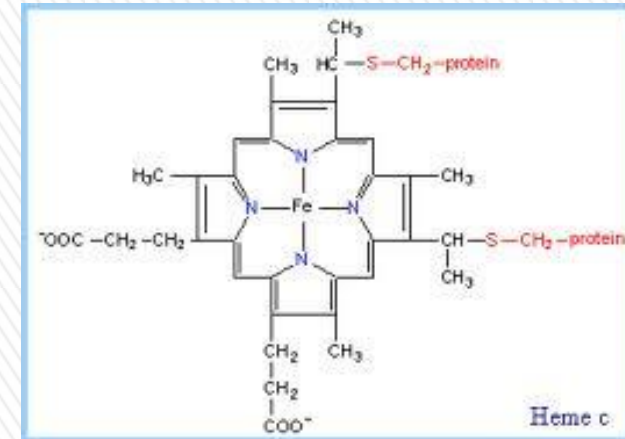
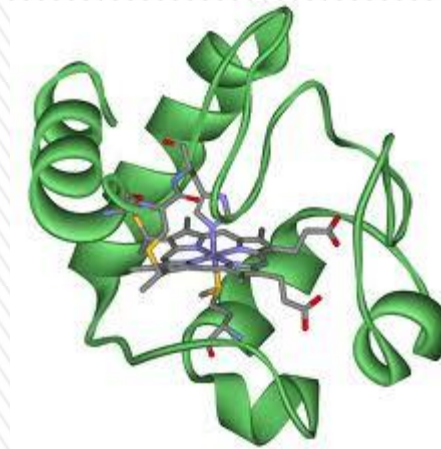
4°) les cytochromes = hétéroprotéines avec un hème (porphyrine -Fe)

Les cytochromes

acceptent **1 électron** au niveau de leur atome de Fer ($\text{Fe}^{3+} \leftrightarrow \text{Fe}^{2+}$) ;

ils ne prennent pas d' H^+ !!!

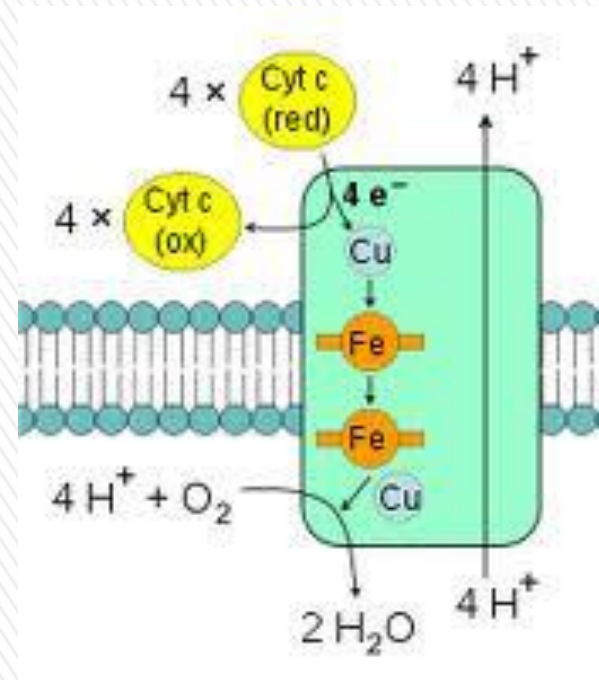
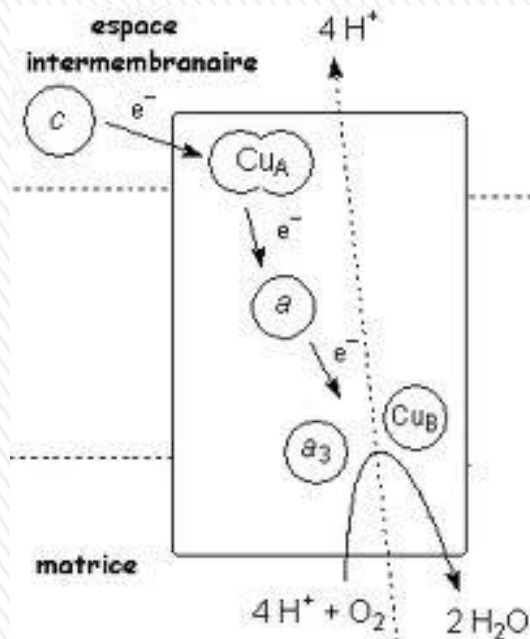
Il existe différents cytochromes: a, a3, b, c, c1...: ils diffèrent par la séquence en acides aminés de la partie protéique et par la nature des chaînes latérales unies au noyau tétrapyrrolique



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

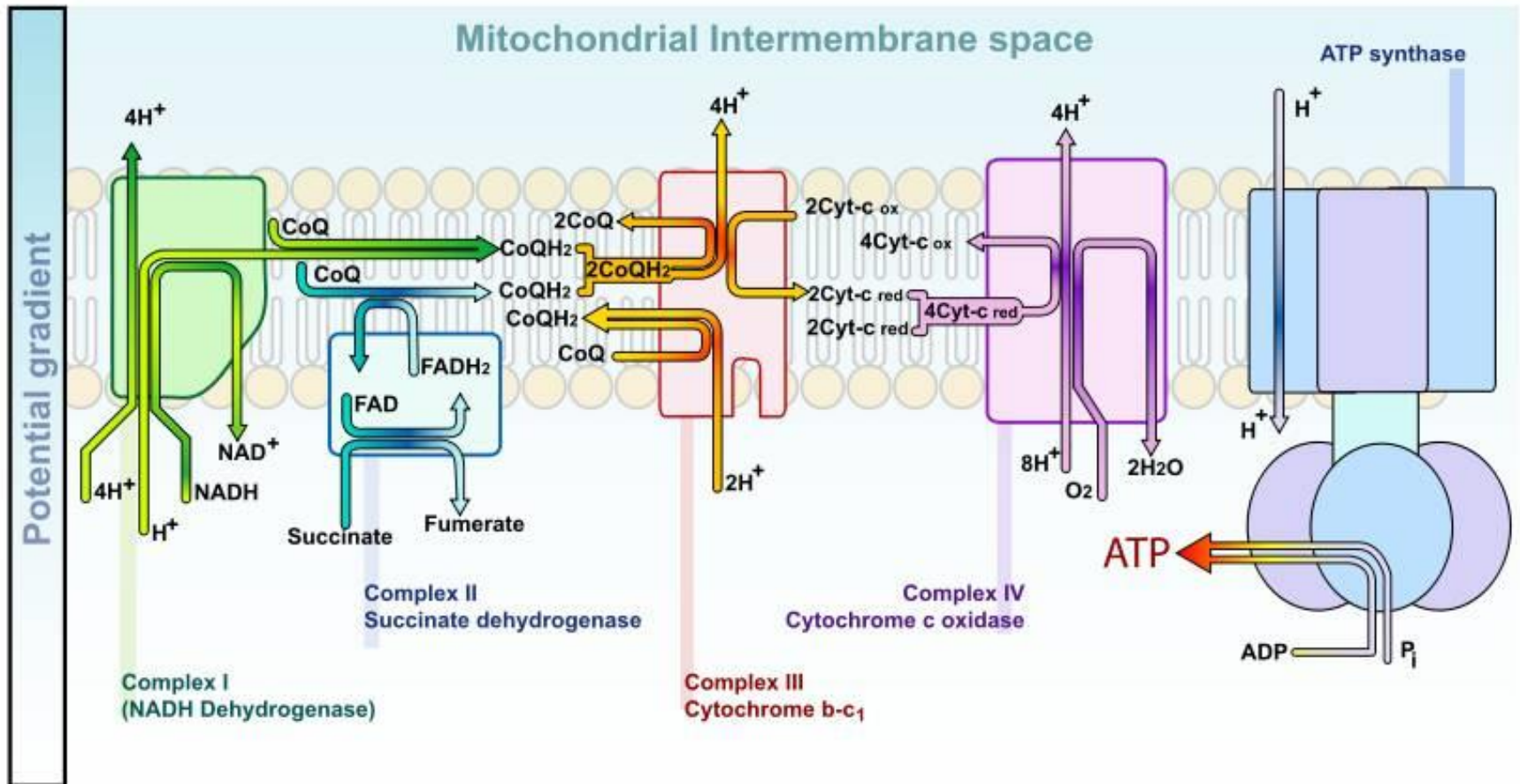
IV - 2 Biomolécules participant au transfert des électrons

5°) l'oxygène



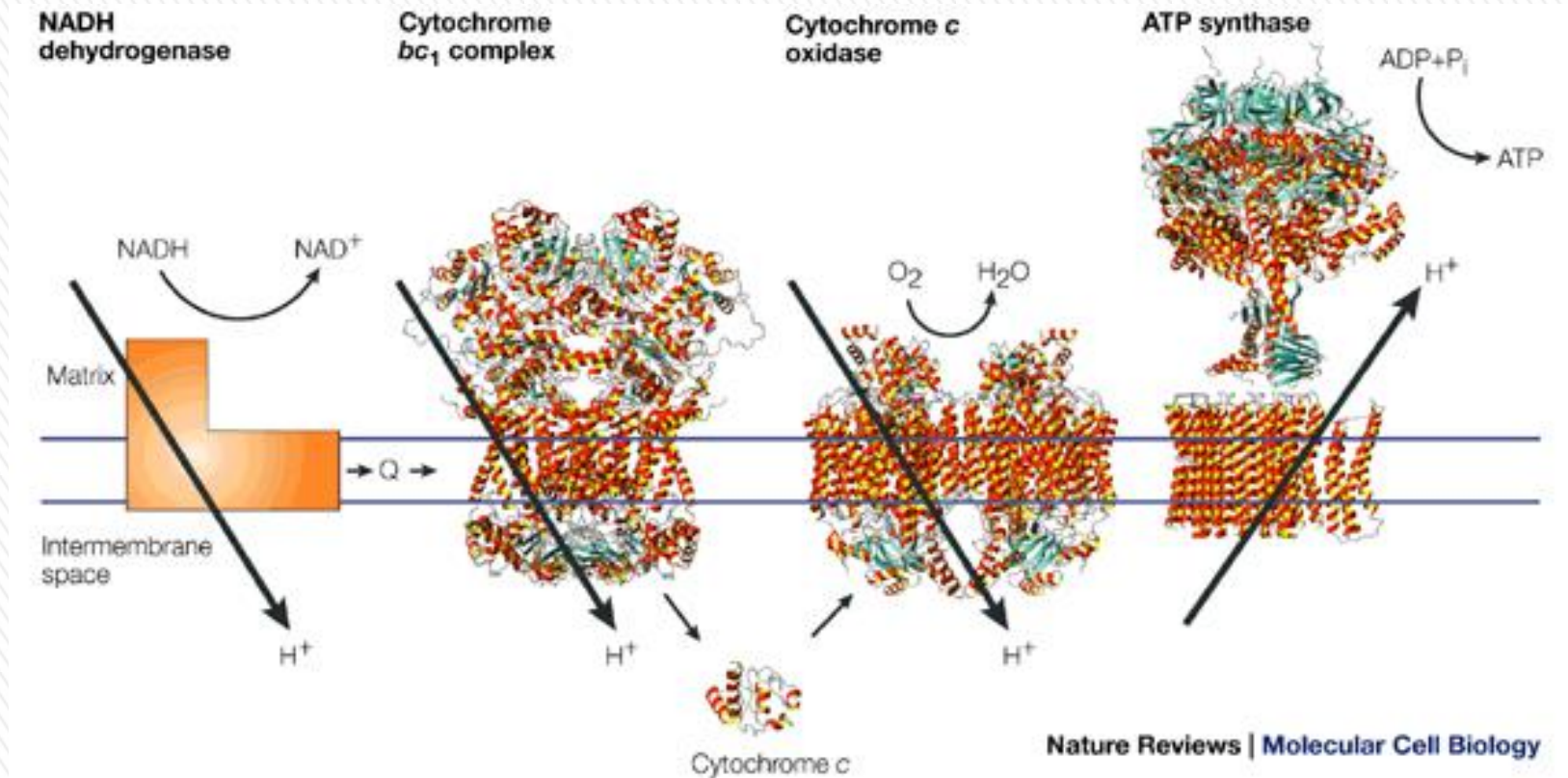
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 3 Chaîne de transfert des électrons



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

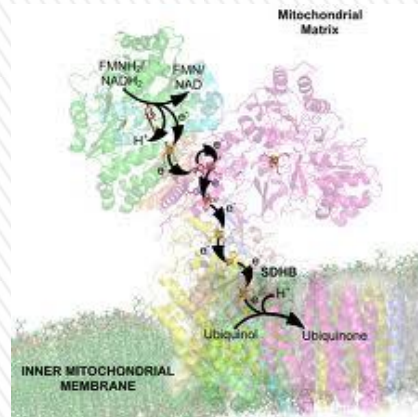
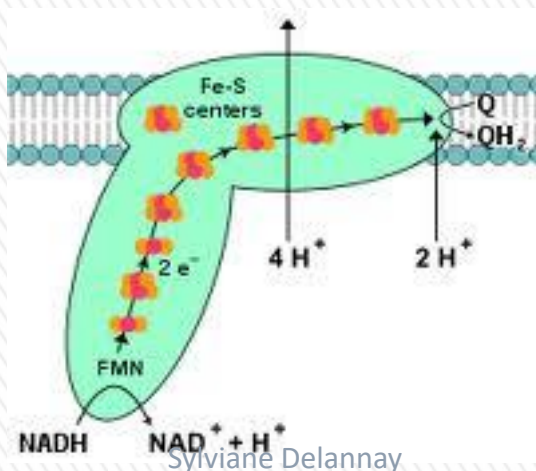
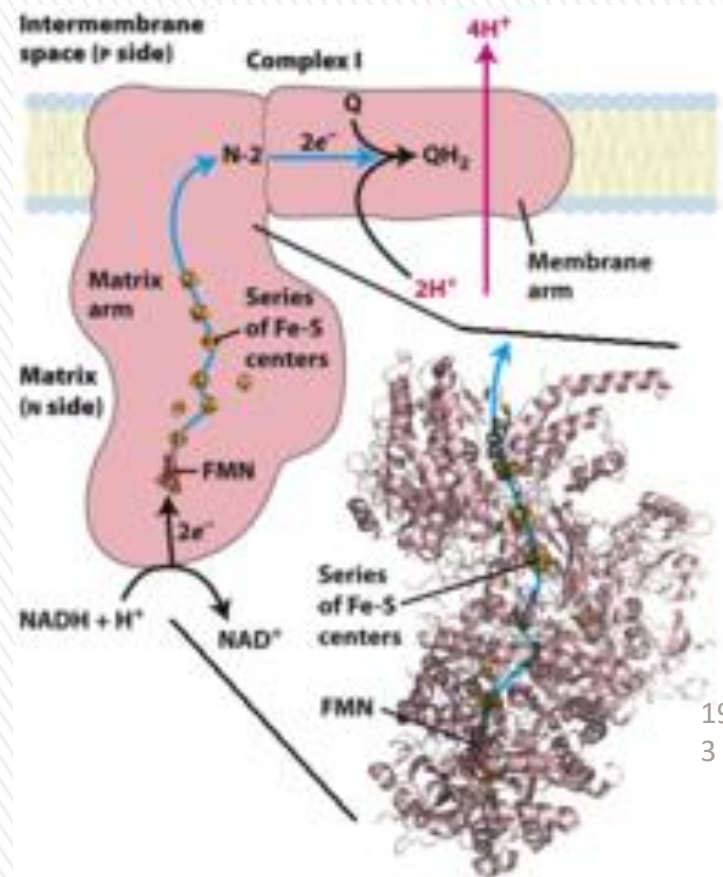
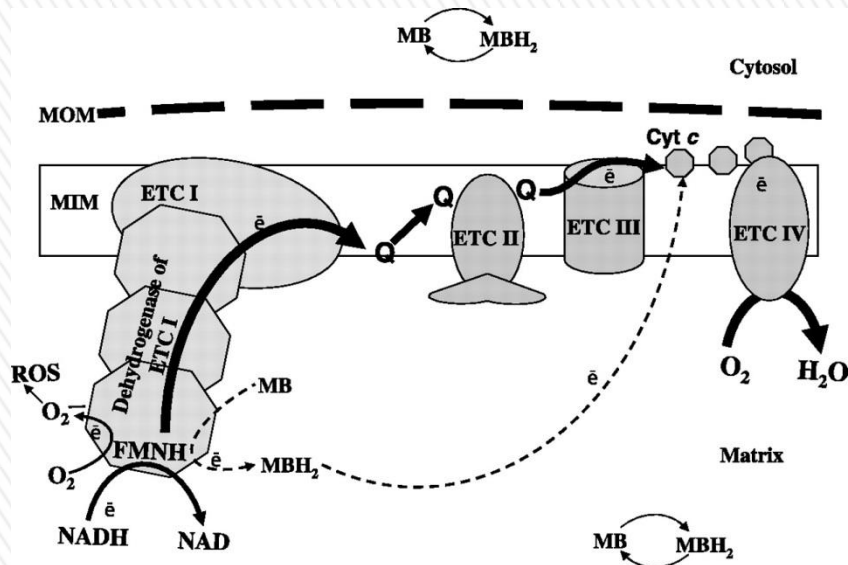
IV – 3 Chaîne de transfert des électrons



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 3 Chaîne de transfert des électrons

NADH → Complexe 1 = NADH déshydrogénase = déshydrogénase-FMN associée à protéine Fe-S → Ubiquinone Q



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 3 Chaîne de transfert des électrons

Ubiquinone Q collecte des électrons d'autres complexes comme la succinate déshydrogénase = déshydrogénase-FAD associée à protéine Fe-S

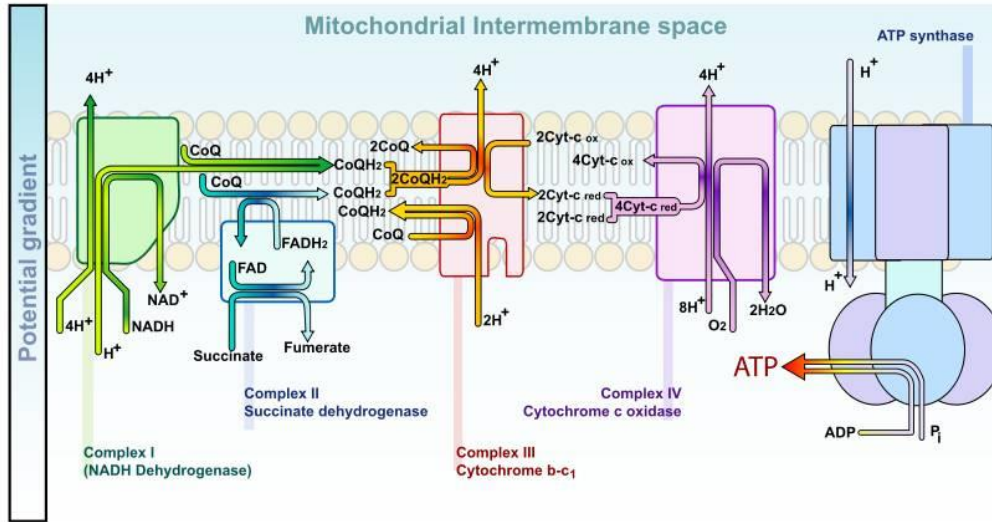
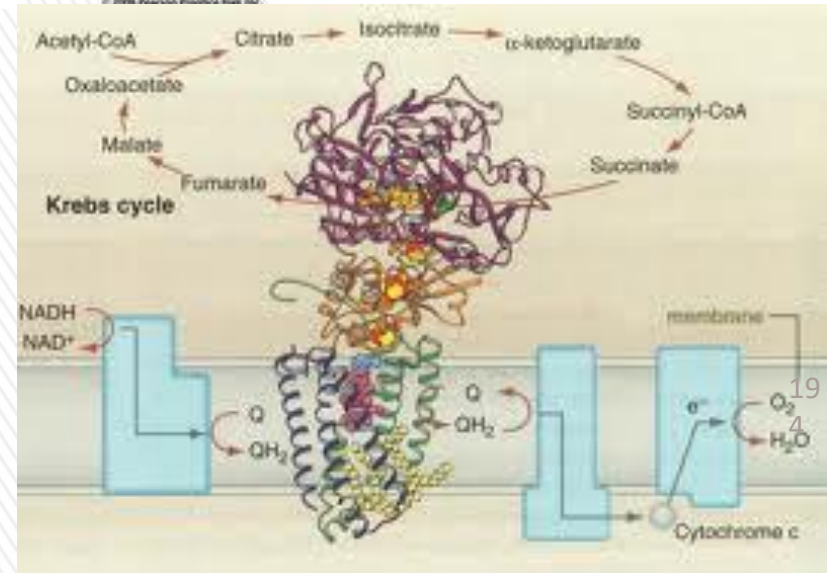
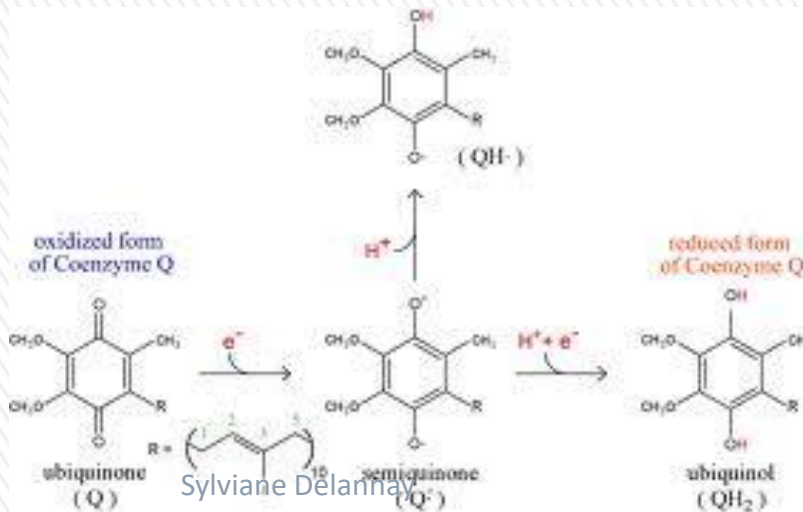


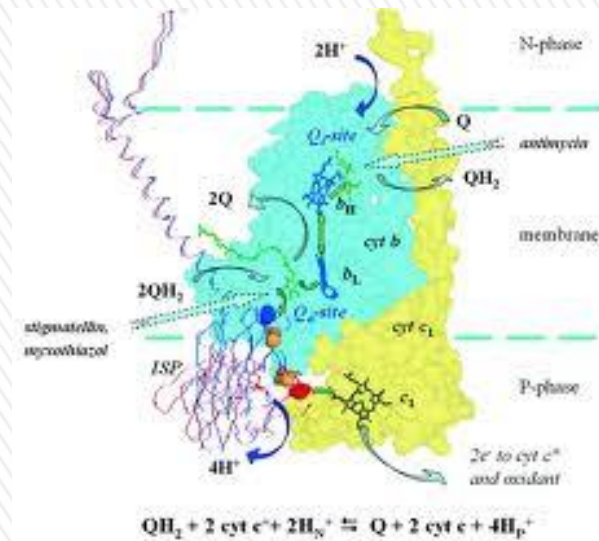
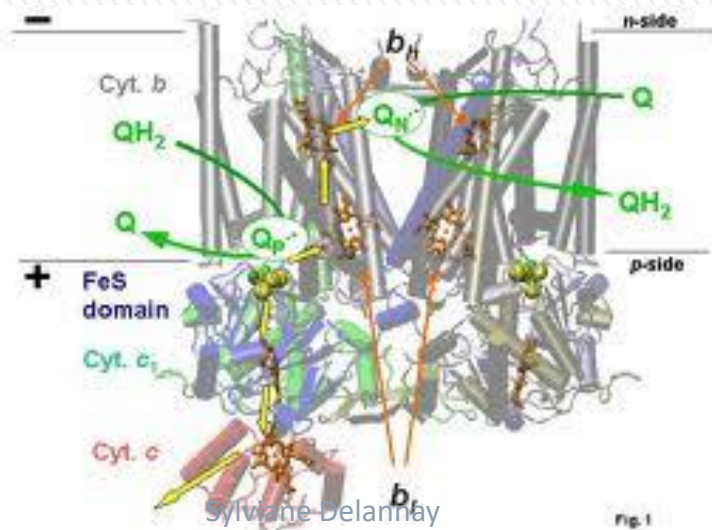
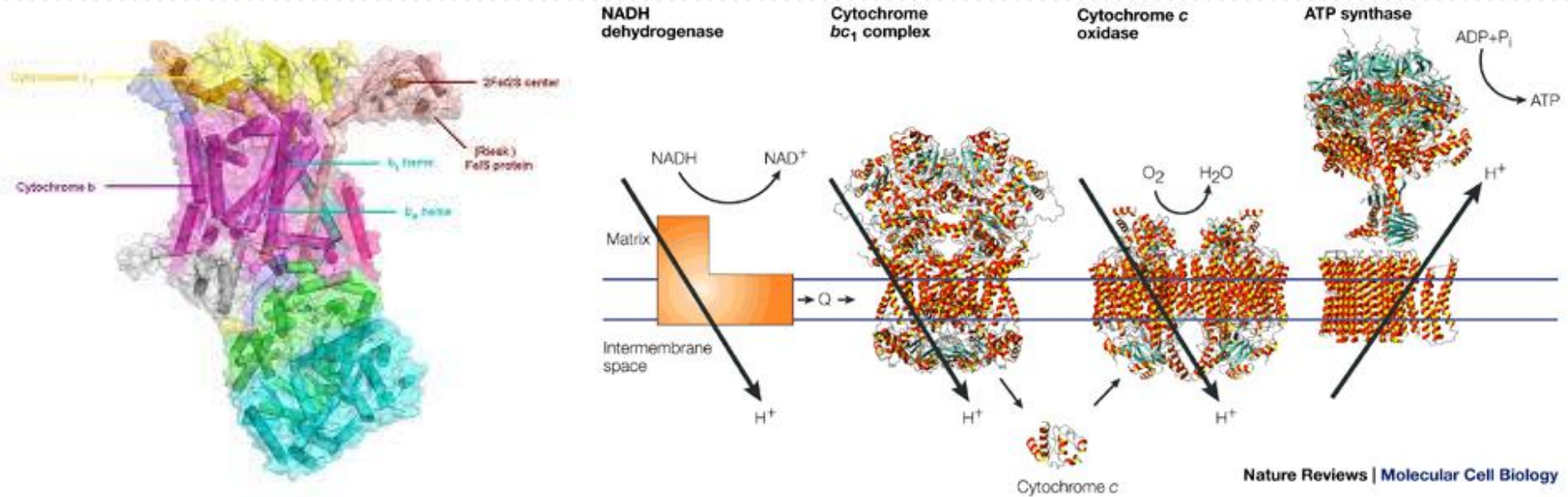
Figure 14-9 Principles of Biochemistry, 4/e
© 2004 Garland Science, a Harcourt Health Sciences Company



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 3 Chaîne de transfert des électrons

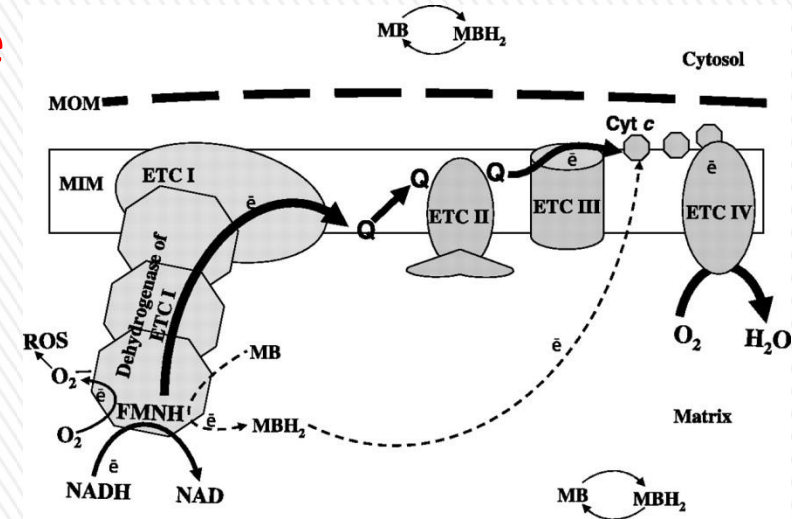
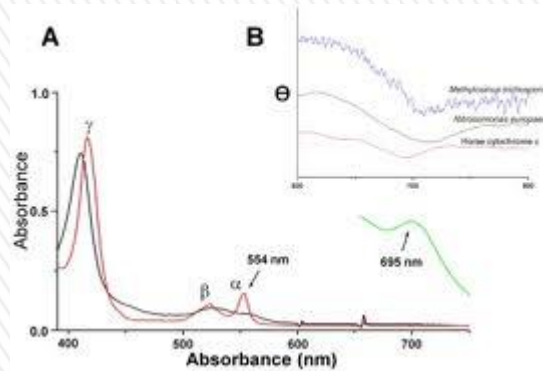
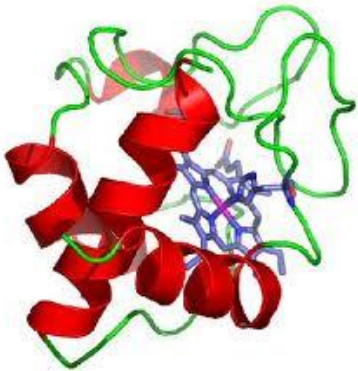
Ubiquinol $QH_2 \rightarrow$ complexe cytochromes b c1 associé à des protéines Fe-S



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 3 Chaîne de transfert des électrons

complexe cytochromes b c1 → cytochrome c
localisé dans l'espace intra membranaire

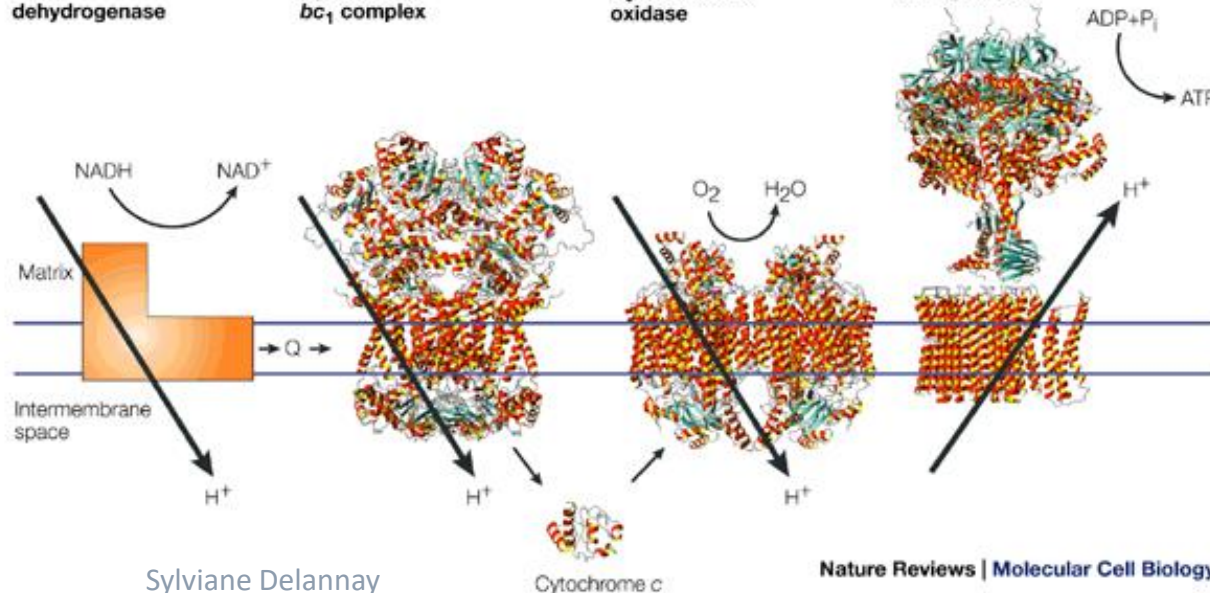


NADH dehydrogenase

Cytochrome bc₁ complex

Cytochrome c oxidase

ATP synthase



Sylviane Delannay

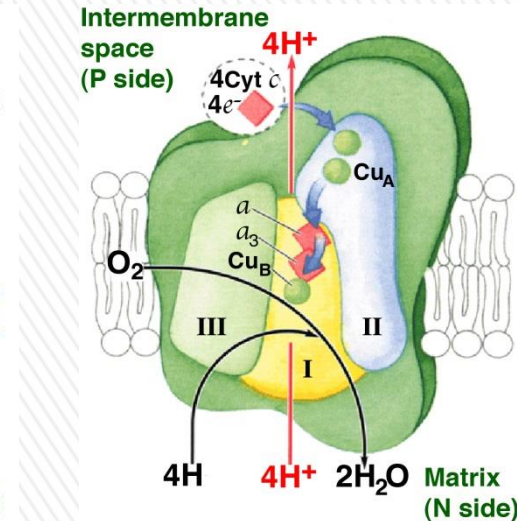
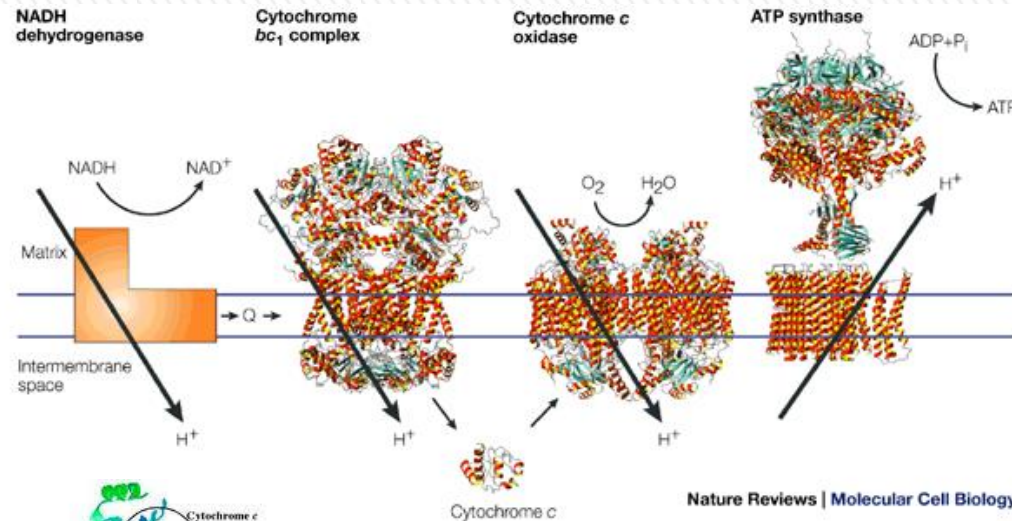
Cytochrome c

Nature Reviews | Molecular Cell Biology

IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

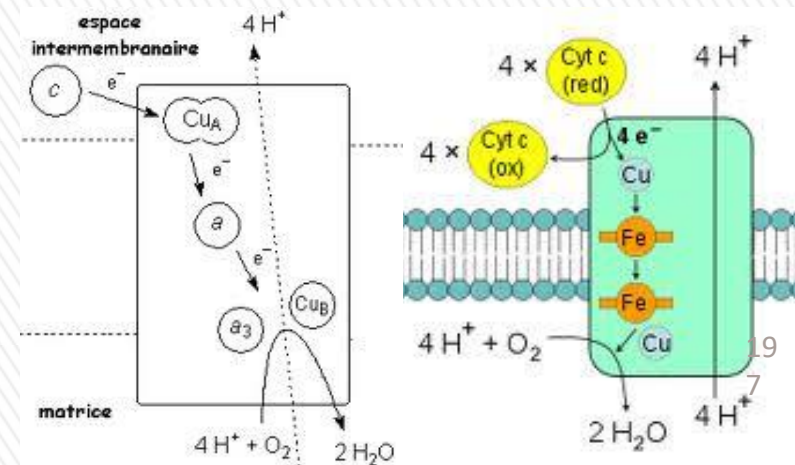
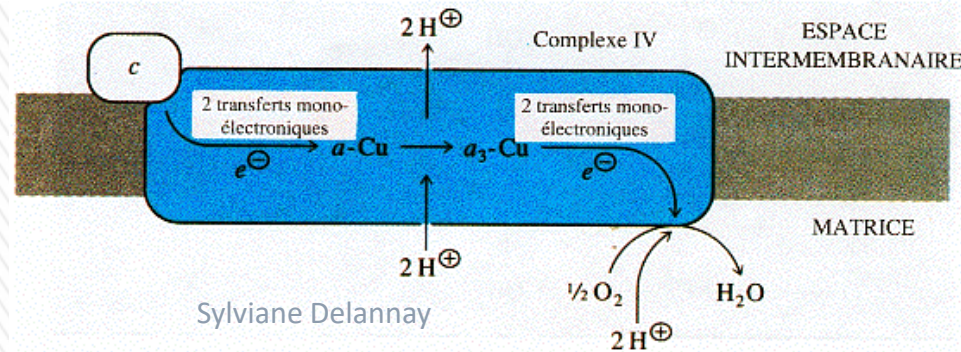
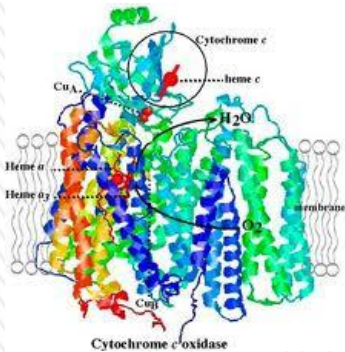
IV – 3 Chaîne de transfert des électrons

cytochrome C → cytochrome oxydase = cytochromes a Cu²⁺ a₃ Cu²⁺



→ O₂

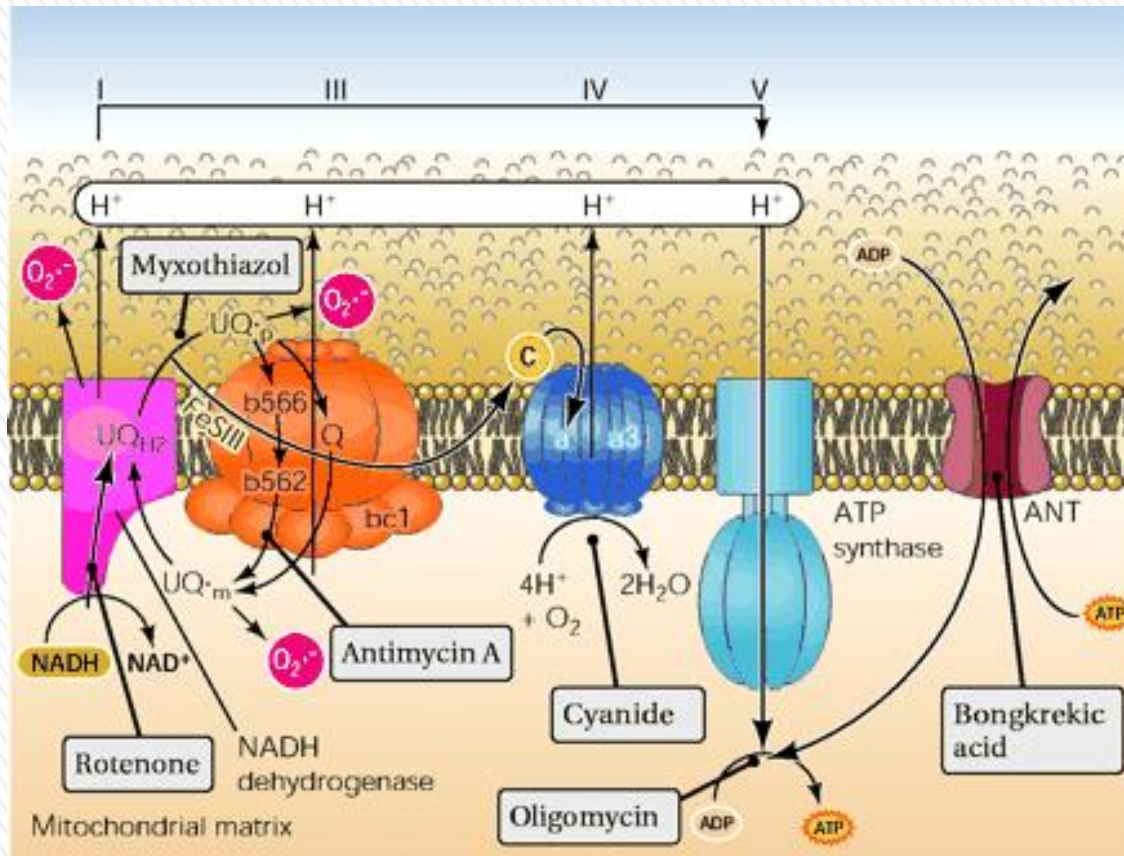
catalyse le transfert de 4 électrons provenant de 4 cytochromes c à l'O₂ :



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 3 Chaîne de transfert des électrons

Exemples de composés bloquant la chaîne de transport des électrons



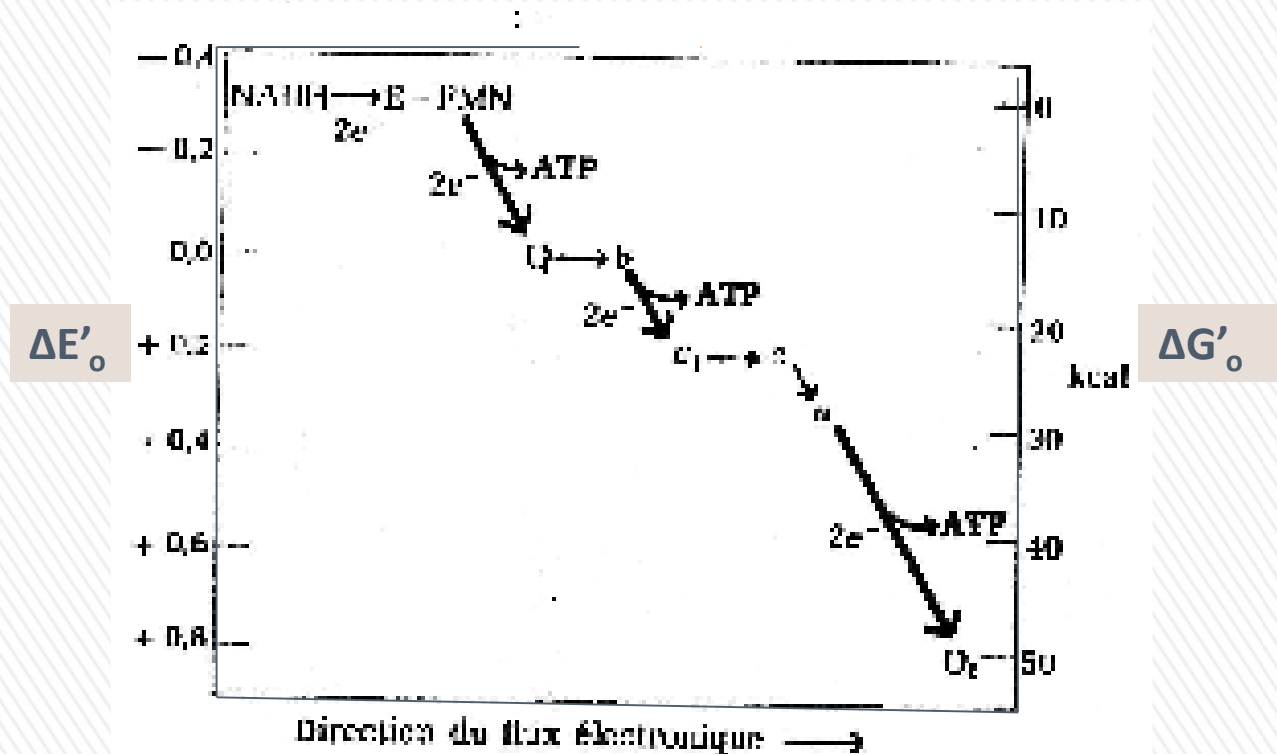
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 4 Variation d'énergie lors du transfert des électrons

du NADH à l' O_2 : $\Delta G_o' = - n F \Delta E_o' = - 52,7 \text{ Kcal/mole}$

⇒ théoriquement 7 ATP pourraient être formés ($\Delta G_o'$ de l'hydrolyse de l'ATP= 7,3Kcal/mole).

⇒ en réalité, 3 ATP seront formés par le couplage chimio osmotique expliquant



le transport des électrons et le mécanisme de phosphorylation oxydative conduit:

$NADH + H^+ + 3 ADP + 3 Pi + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow NAD^+ + H_2O + 3 ATP$ (électrons transférés en début de chaîne)

$FADH_2 + 2 ADP + 2 Pi + \frac{1}{2} O_2 \rightarrow FAD + H_2O + 2 ATP$ (électrons transférés à l'ubiquinone en cours de chaîne)

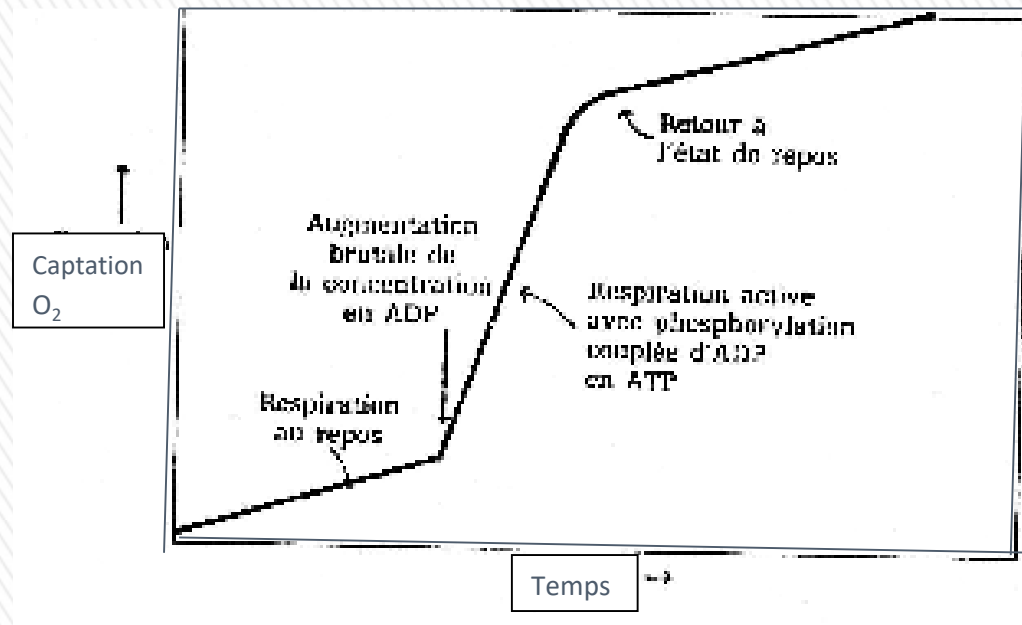
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 5 Formation d'ATP

exploration de l'ultrastructure de la mitochondrie



Conformation orthodoxe: au repos = en absence d'ADP

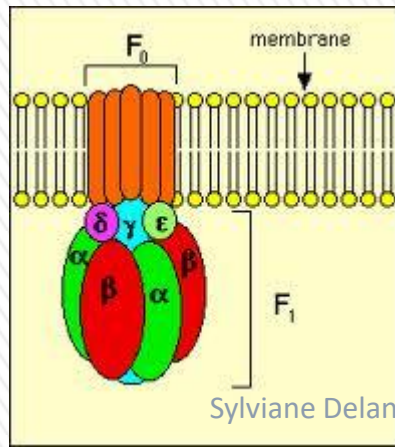
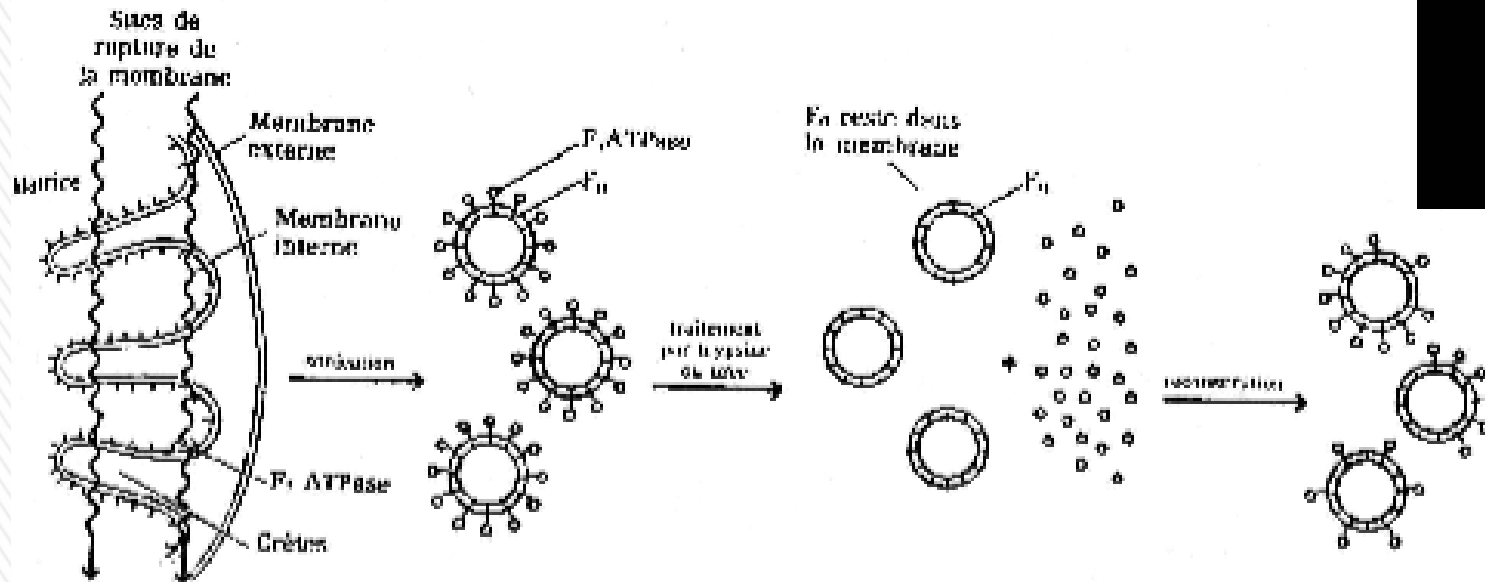
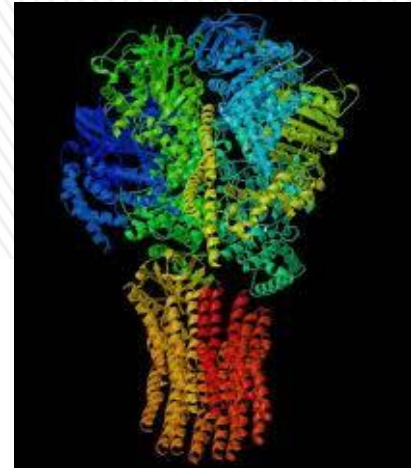


Conformation condensée: en respiration rapide = en présence d'ADP

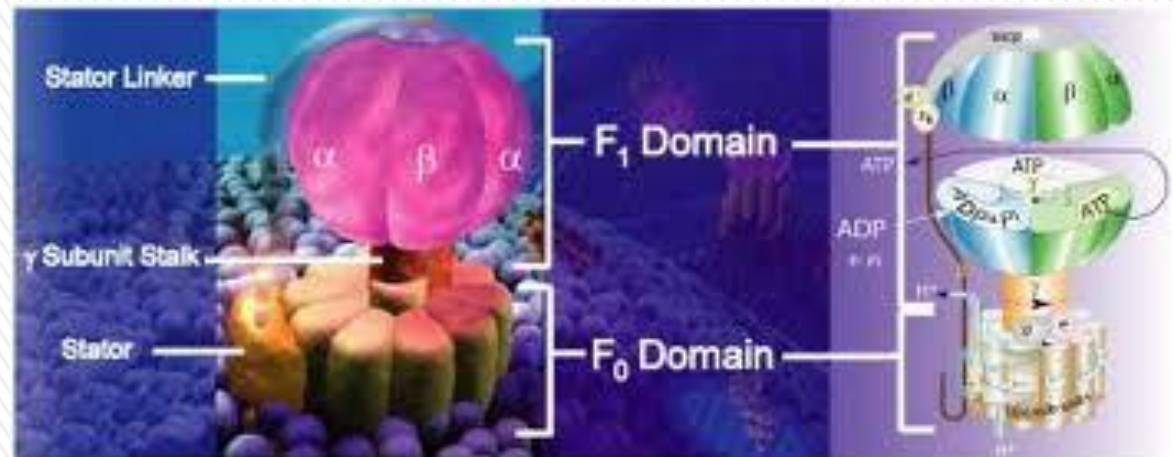
IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 5 Formation d'ATP

exploration de l'ultrastructure de la mitochondrie :
mise en évidence de l'ATP synthétase (F_0F_1 ATPase)



Sylviane Delannay

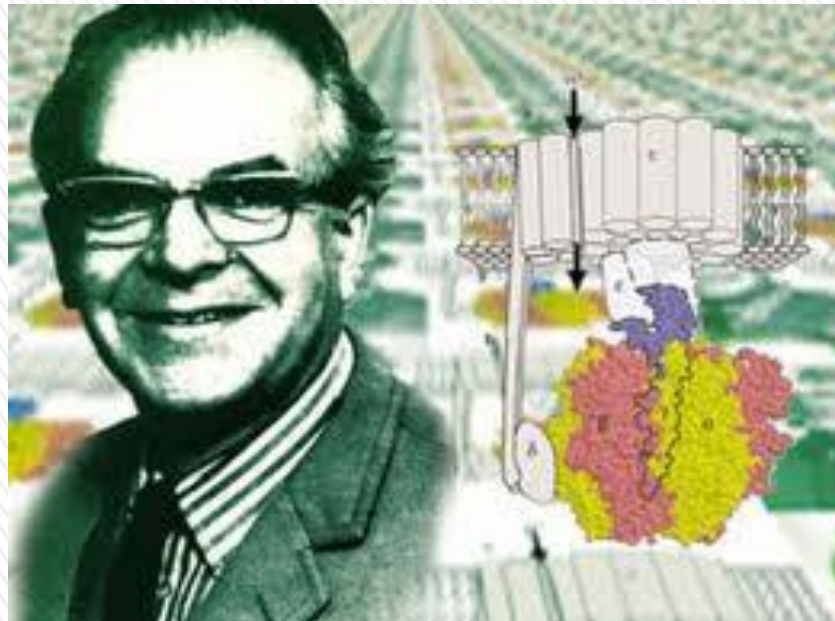


IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 5 Formation d'ATP

Trois hypothèses pour expliquer le mécanisme de phosphorylation oxydative :

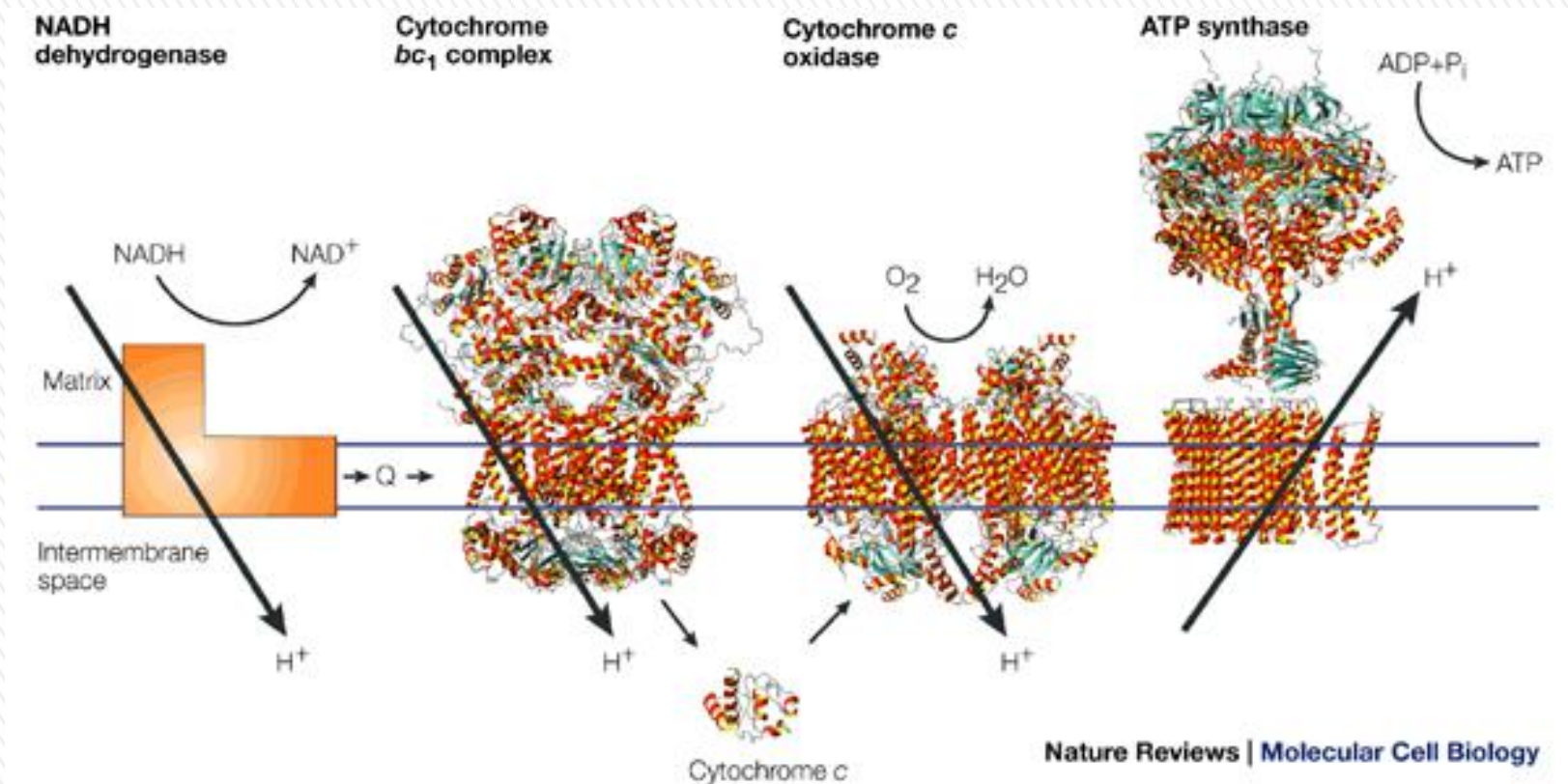
- hypothèse du couplage chimique;
- hypothèse du couplage conformationnel;
- **hypothèse du couplage chimio-osmotique => force protons motrice**



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 5 Formation d'ATP

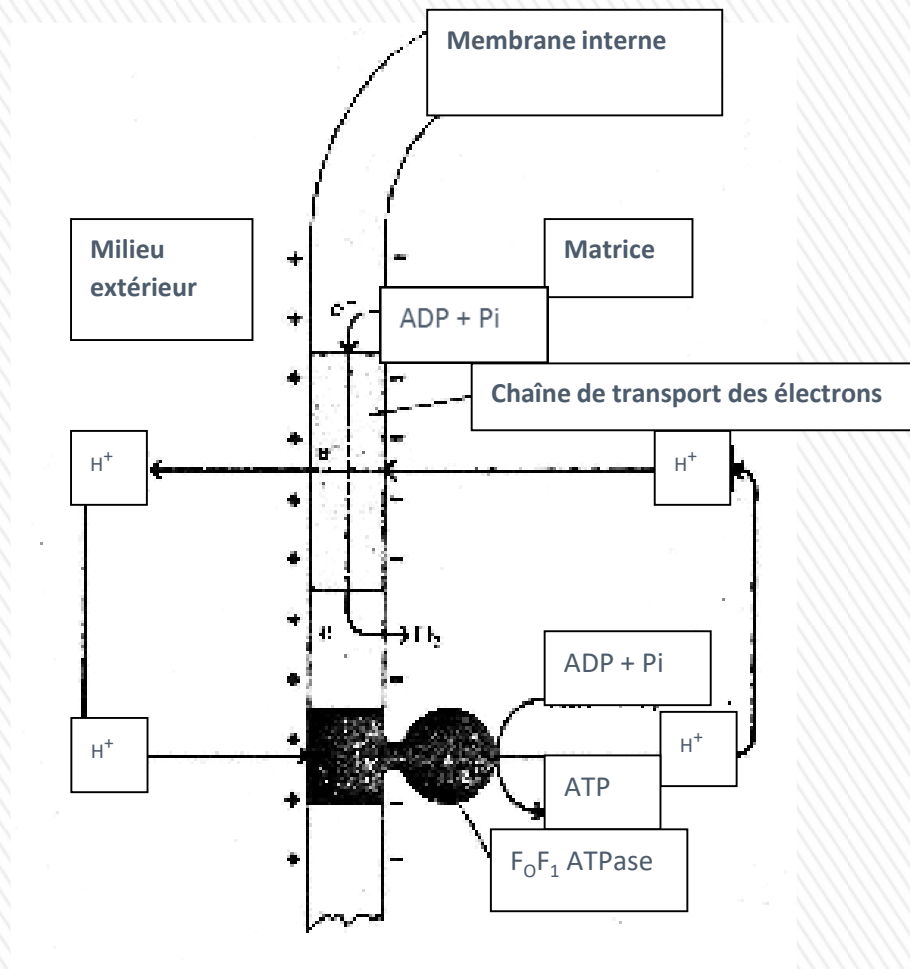
mécanisme de phosphorylation oxydative : théorie de couplage chimio-osmotique => force protons motrice



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 5 Formation d'ATP

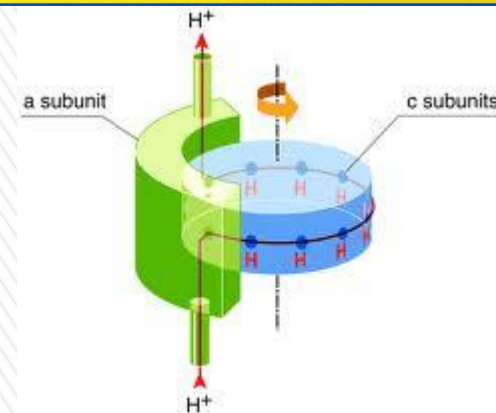
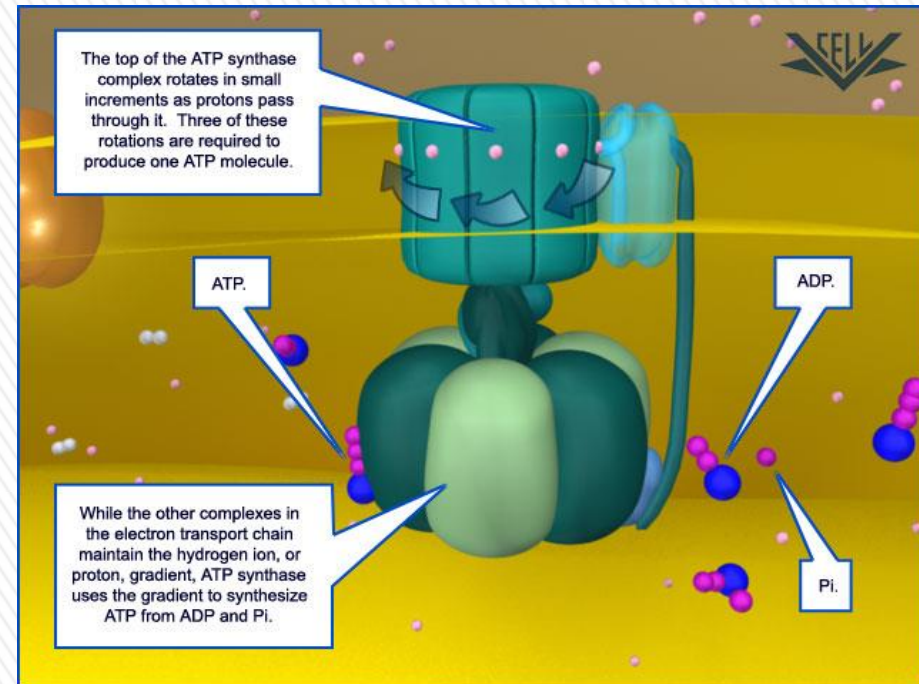
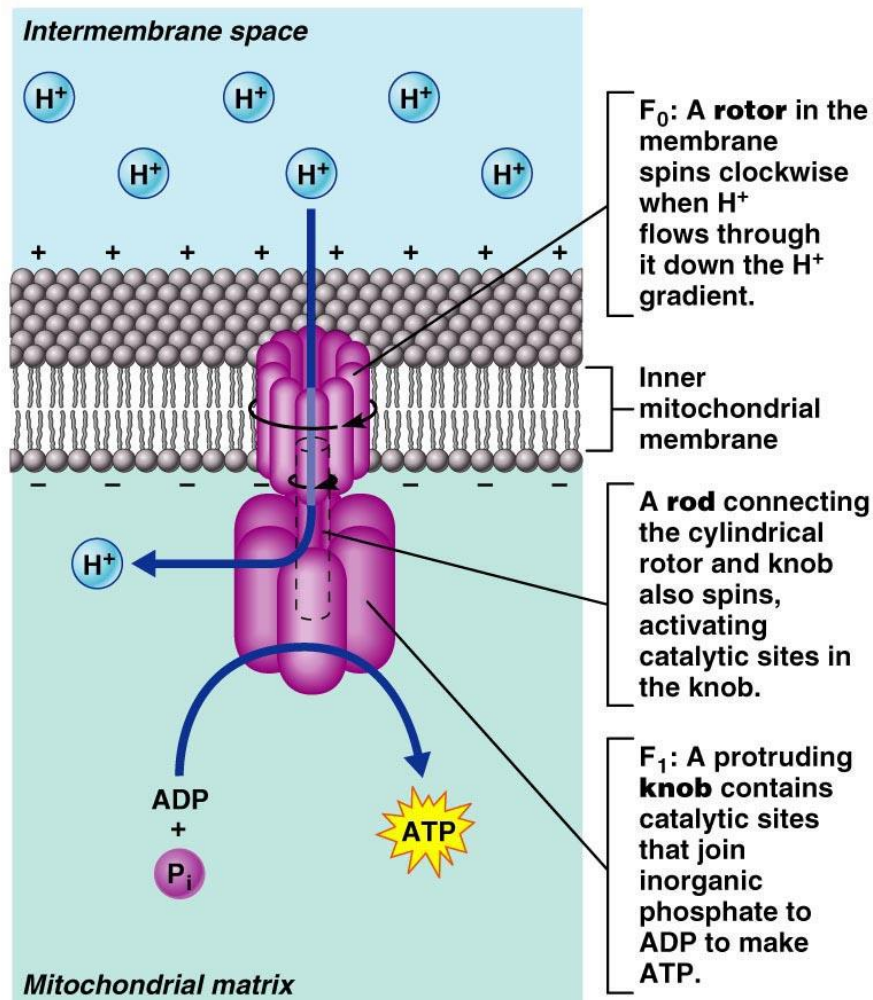
mécanisme de phosphorylation oxydative : théorie de couplage chimio-osmotique => force protons motrice



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 5 Formation d'ATP

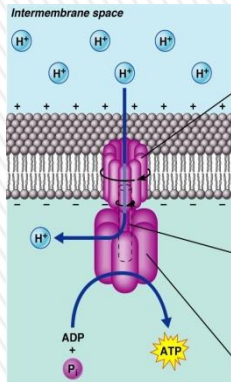
identification de l'ATP synthétase et du mécanisme de synthèse de l'ATP



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 6 Autres rôles du gradient transmembranaire d'H⁺

Oltre le rôle primordial (la synthèse d'ATP grâce à l'ATP synthétase),
le gradient transmembranaire d'H⁺ a d'autres fonctions:



synthèse d'ATP

transport d'ADP et P_i

ΔH^+

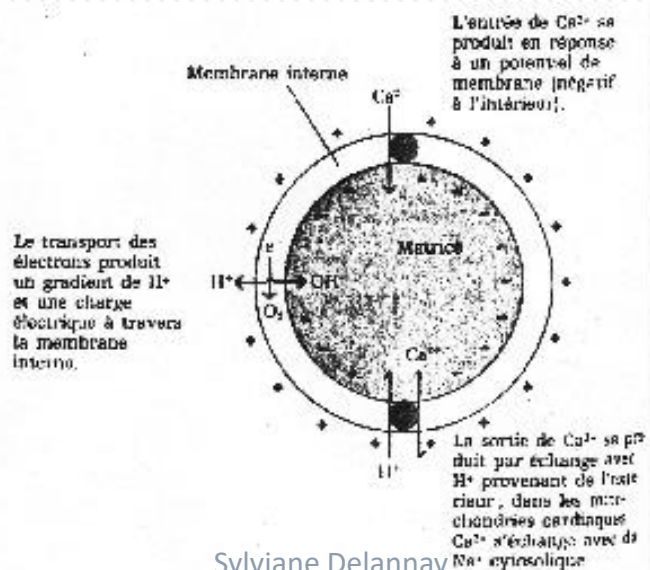
gradient

transmembranaire

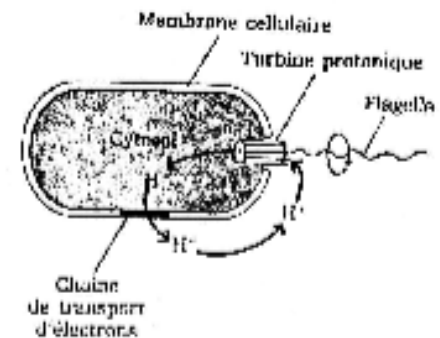
transport de Ca²⁺,
de phosphate inorganique
et d'autres ions

chaleur

Rq: rotation des flagelles
bactériens

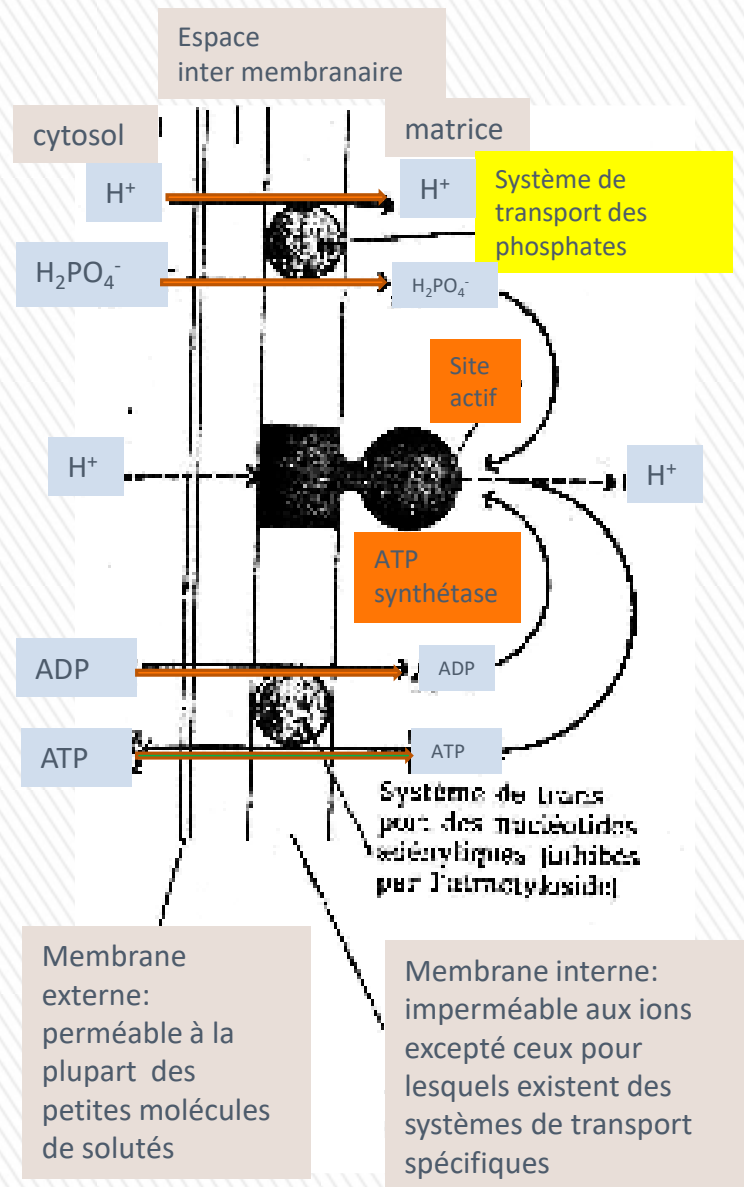


Sylviane Delannay



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 6 Autres rôles du gradient transmembranaire d' H^+ transport de P_i , d'ADP, d'ATP et d' H^+

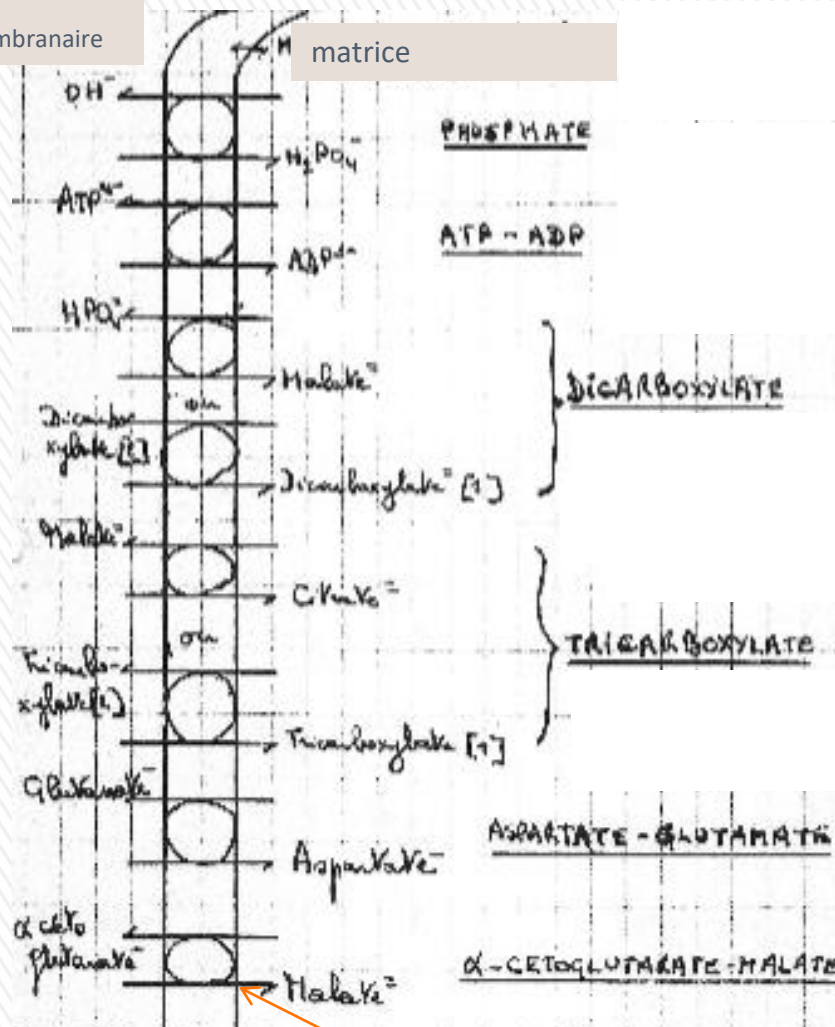


IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 7 Systèmes de transport de métabolites dans la mitochondrie grâce aux translocases spécifiques = protéines de transport.

Espace
inter membranaire

matrice



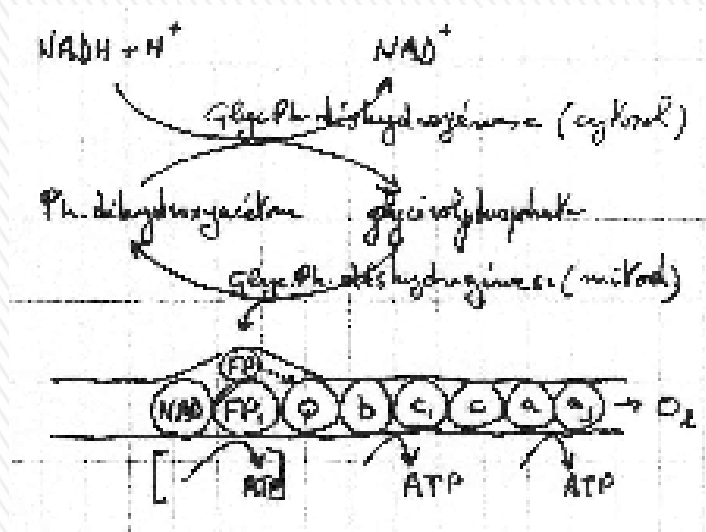
Membrane
interne

translocases

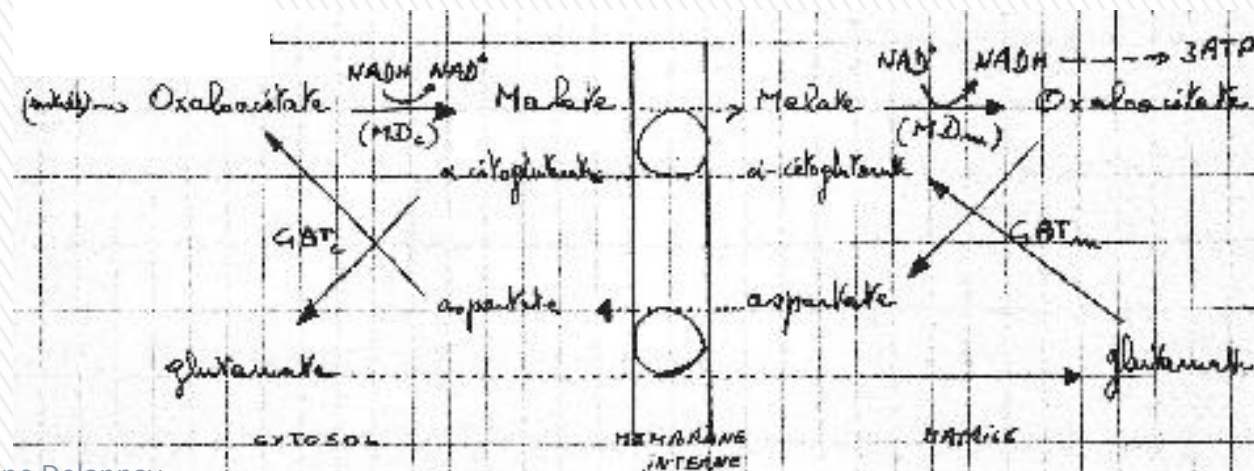
IV – 7 Systèmes de transport de métabolites dans la mitochondrie

Navettes nécessaires à l'oxydation du NADH extra-mitochondrial

**« navette » ou « va-et-vient »
du glycérol-phosphate**



« navette » ou « va-et-vient » du malade-aspartate

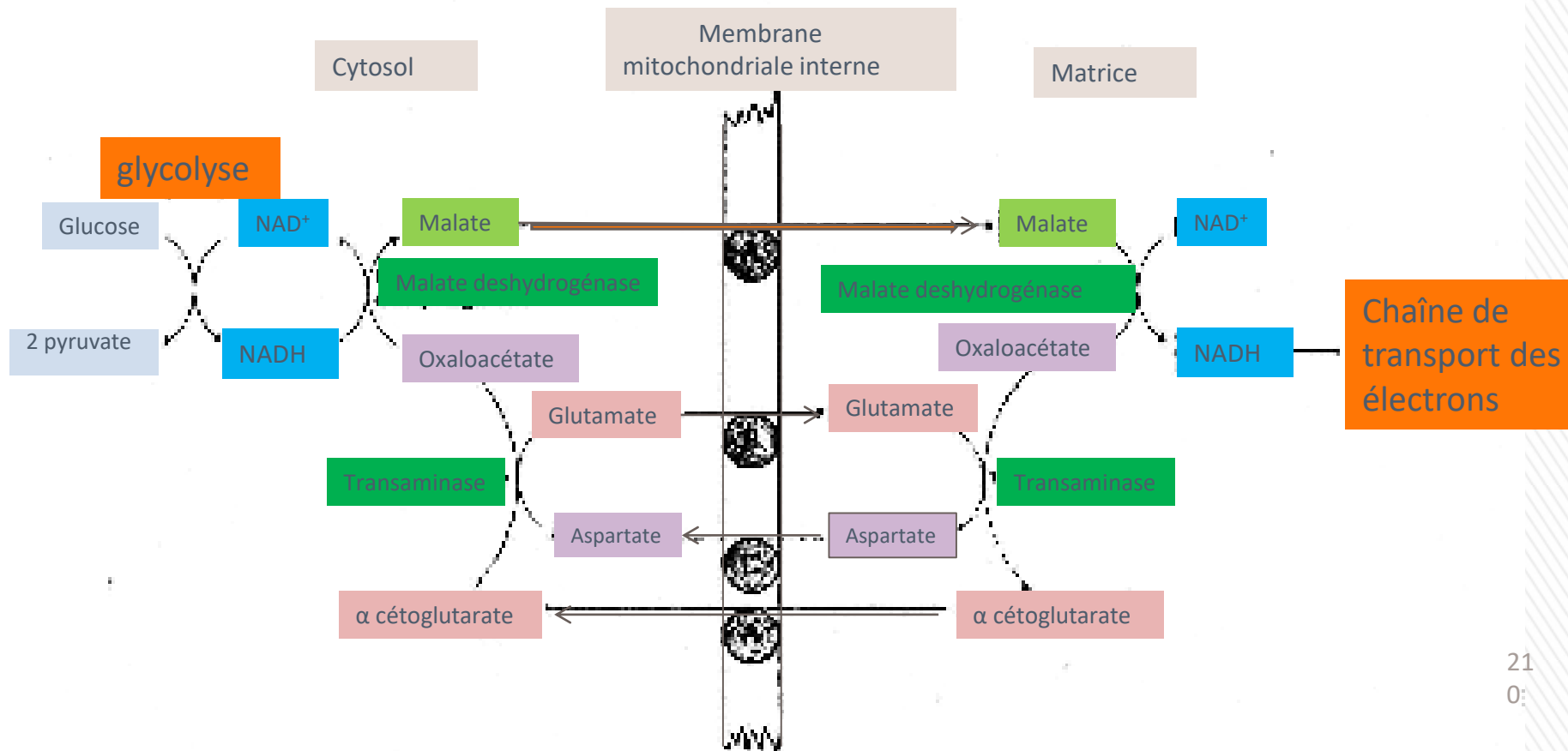


IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 7 Systèmes de transport de métabolites dans la mitochondrie

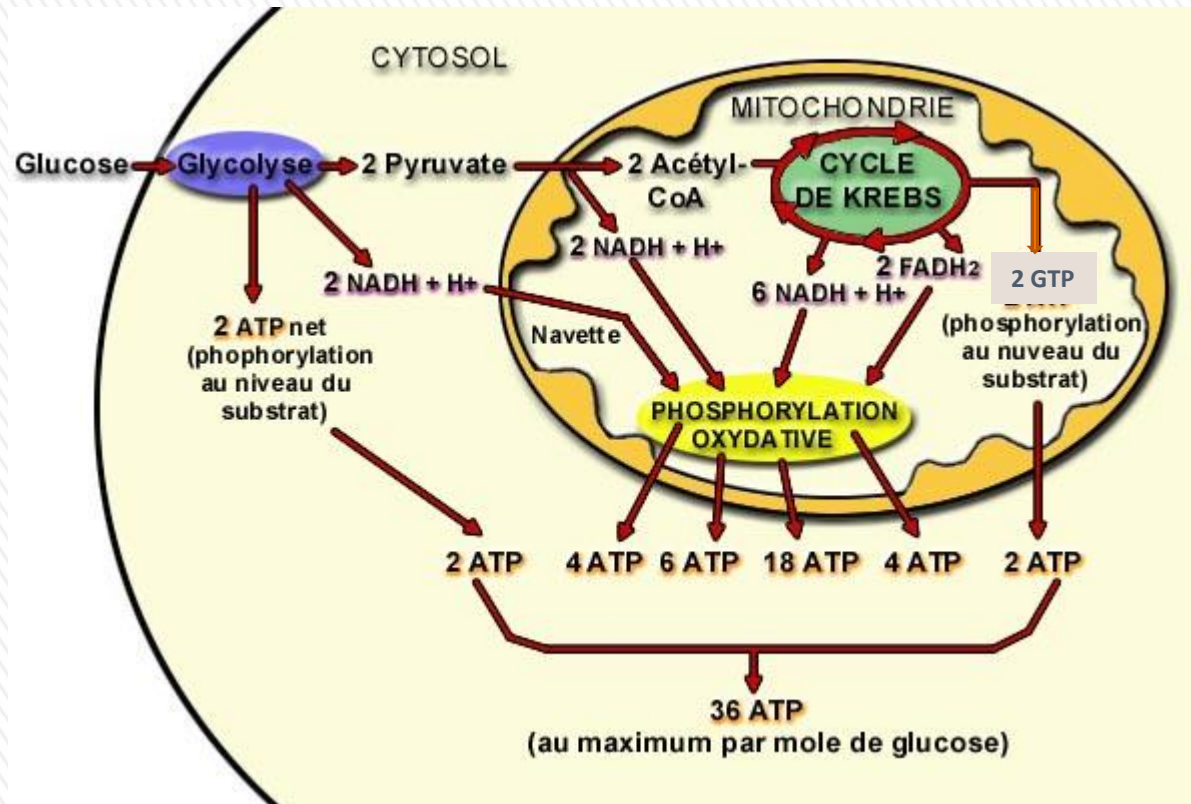
Navettes nécessaires à l'oxydation du NADH extra-mitochondrial

« navette » ou « va-et-vient » du malate-aspartate



IV - Le transport des électrons et la phosphorylation oxydative

IV – 8 Bilan de l'oxydation du glucose



Equivalent de 38 ou 36 ATP (fonction du type de navette)

Les lipides - Définition :

1. Introduction.

1.1 Rappel de biochimie structurale : les lipides.

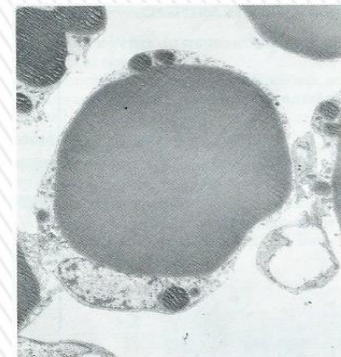
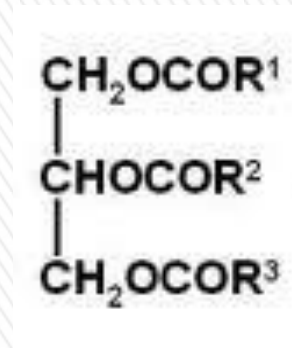
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.2 Rôle énergétique des acides gras.

Les acides gras ont un rôle important comme **fournisseurs d'énergie** chez les animaux supérieurs et les végétaux.

Les cellules peuvent accumuler des **triacylglycérols (lipides de réserve)** en quantité importante ; ils sont stockés sous forme de gouttelettes presque anhydres dans le cytoplasme.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.2 Rôle énergétique des acides gras.

Chez les vertébrés, on estime que l'oxydation des acides gras fournit normalement plus de 40% des besoins énergétiques.

En période de jeûne chez les oiseaux migrateurs et les animaux qui hibernent, les acides gras sont pratiquement l'unique source d'énergie (le glycogène est vite consommé et s'épuise donc rapidement en période de jeûne).

Les acides gras constituent d'une manière générale la source énergétique la plus importante d'un point de vue quantitatif.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.3 Origines des acides gras.

Les sources d'acides gras sont :

les **acides gras ingérés** : après un repas riche en lipides, les lipides se retrouvent momentanément dans la circulation sanguine (après absorption par la **lymphe (chyle) des vaisseaux lymphatiques** drainant les cellules épithéliales des microvillosités des intestins).

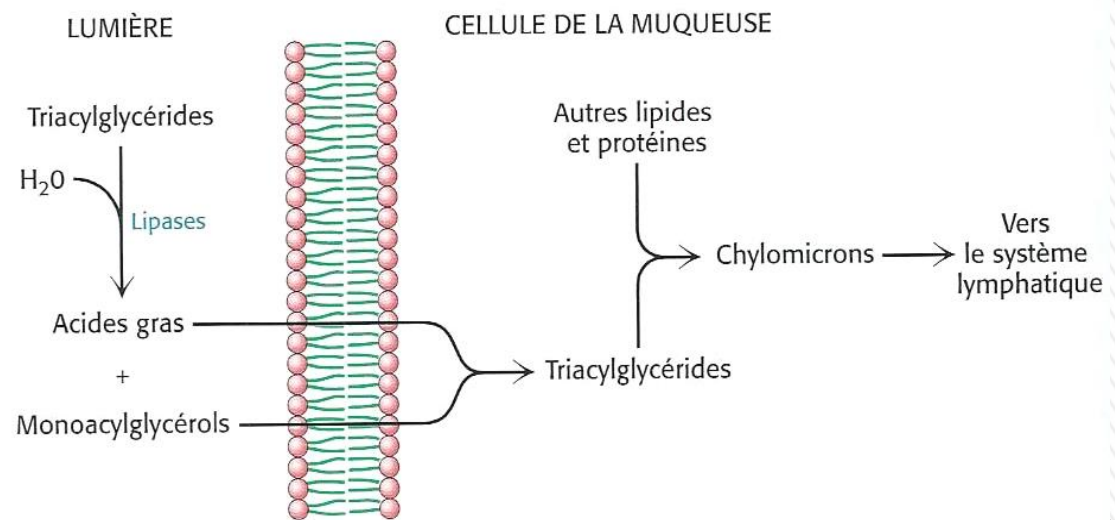


FIGURE 22.5 Formation des chylomicrons. Les acides gras libres et les monoacylglycérols sont absorbés par les cellules épithéliales de l'intestin. Les triacylglycérols sont resynthétisés et inclus avec d'autres lipides et l'apoprotéine B-48 dans des chylomicrons qui sont ensuite libérés dans le système lymphatique.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.3 Origines des acides gras.

Ensuite, les acides gras entrent dans les différentes cellules, en particulier dans les **cellules adipeuses (adipocytes) des tissus adipeux** pour y être stockés sous forme de triacylglycérols;

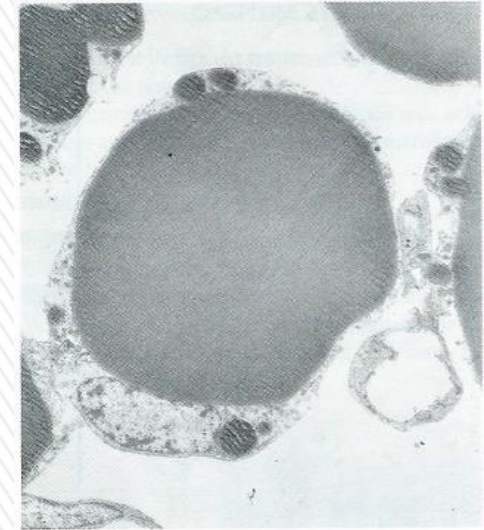
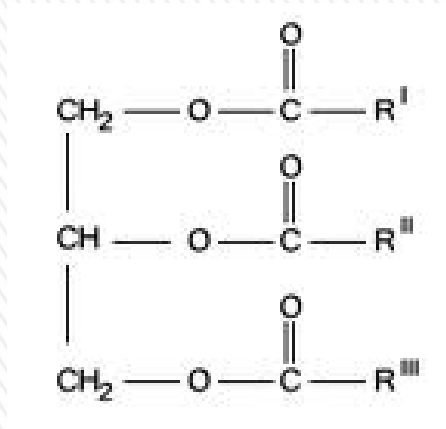


FIGURE 22.1 Micrographie électronique d'un adipocyte. Une fine bande de cytoplasme entoure le gros dépôt de triacylglycérols. [Biophoto Associates/Photo Researchers.]

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

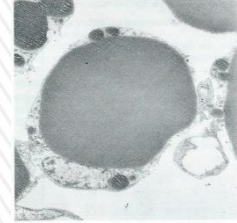
1.3 Origines des acides gras.

Les sources d'acides gras sont :

les **acides gras stockés sous forme de triacylglycérols**

dans les adipocytes sont hydrolysés par **une lipase** :

- enzyme contrôlée par un mécanisme hormonal (idem glycogène phosphorylase et glycogène synthétase)
- et régulée par un mécanisme covalent (forme phosphorylée active).



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.3 Origines des acides gras.

Hormone (adrénaline,...)
extracellulaire

→ récepteur membranaire
(cellules du tissu adipeux)

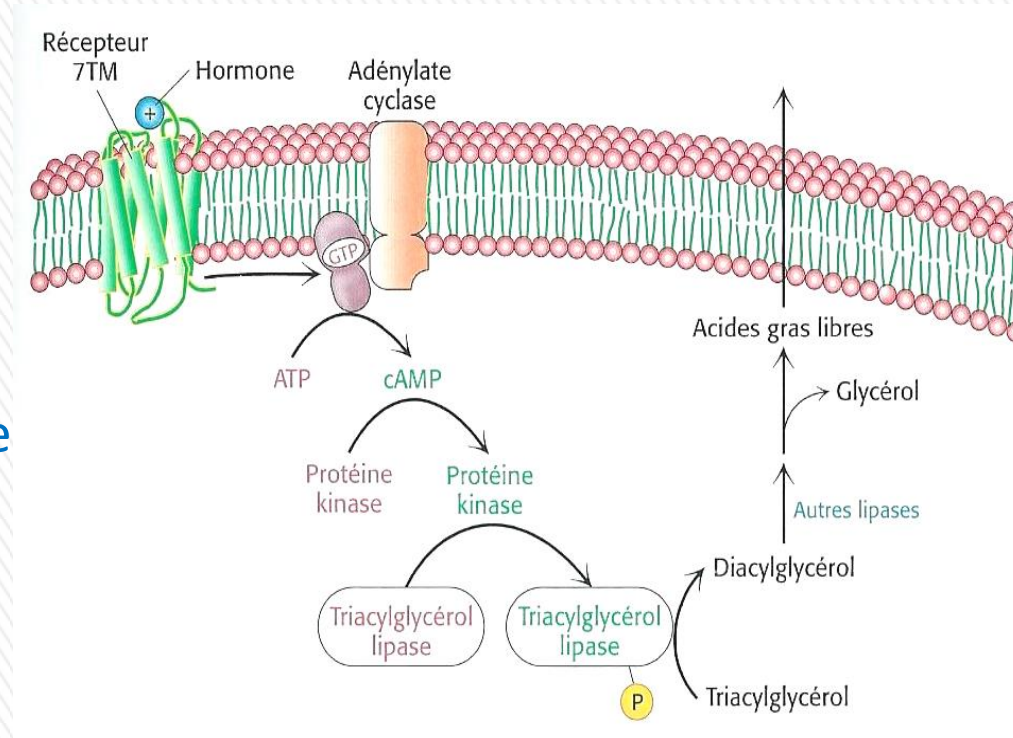
→ activation de l'adénylate cyclase

→ augmentation de [AMP]c
messager intracellulaire

→ activation des kinases
(phosphotransférases)

→ en présence d'ATP, phosphorylation de la lipase

→ hydrolyse des triacylglycérols : une molécule de glycérol est libérée ainsi que les 3 acides gras.



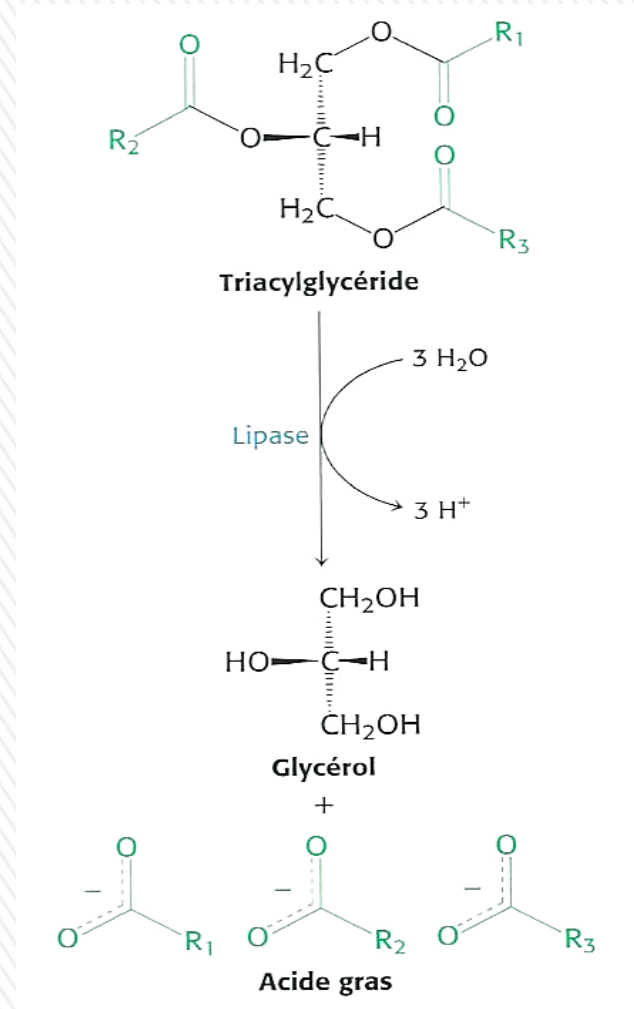
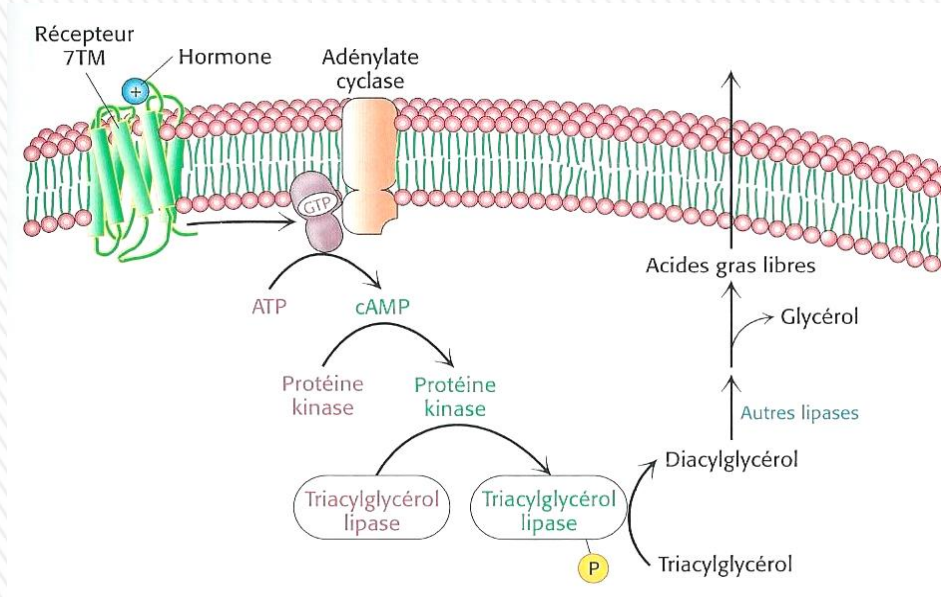
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.3 Origines des acides gras.

→ en présence d'ATP,
phosphorylation de la lipase

→ hydrolyse des triacylglycérols :
glycérol + 3 acides gras.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.3 Origines des acides gras.

Les acides gras libres sont ensuite transportés par le flux sanguin par l'albumine (3 acides gras /albumine) vers les tissus où ils seront oxydés en CO_2 et H_2O .

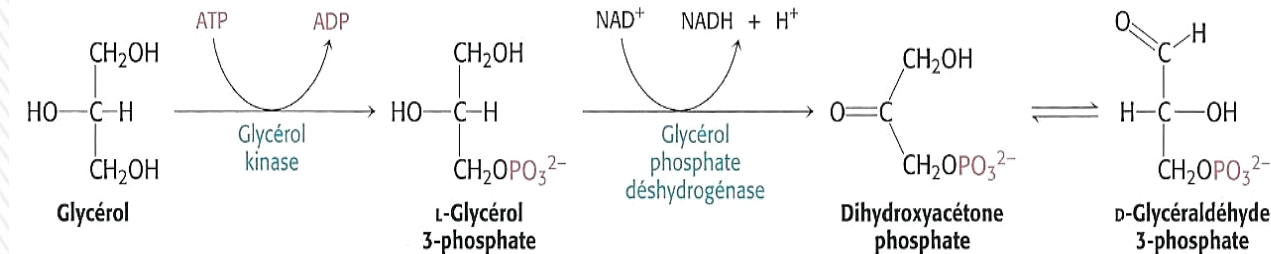
Une exception importante : le cerveau dont la quasi seule source d'énergie possible est assurée par les glucides (glucose) (hormis le β -hydroxybutyrate = 1 corps cétonique).

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

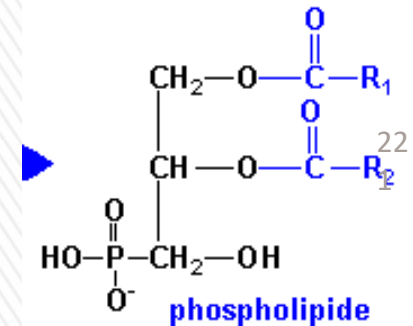
1.3 Origines des acides gras.

Le glycérol libéré est phosphorylé par une **glycérol kinase** (enzyme qui transfère un groupement phosphate provenant de l'ATP sur le glycérol).



En fonction des besoins immédiats de la cellule, le glycérol 3 P est :

- soit oxydé en dihydroxyacétone P (intermédiaire de la glycolyse);
- soit est utilisé comme « molécule échafaudage » pour l'élaboration des glycérolipides.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.4 Historique de la dégradation des acides gras.

On supposait déjà depuis la fin du XIX^{ème} siècle que les acides gras étaient synthétisés et dégradés dans la cellule par addition ou soustraction de fragments à 2 carbones, car les acides gras naturels possèdent un nombre pair d'atomes de carbone. Par ailleurs, chez des animaux soumis au jeûne ou dans le cas de diabète sucré, les acides gras sont incomplètement oxydés et des acides gras à 4 C sont excrétés (dans les urines) : l'acide acétoacétique et l'acide β -hydroxybutyrique.

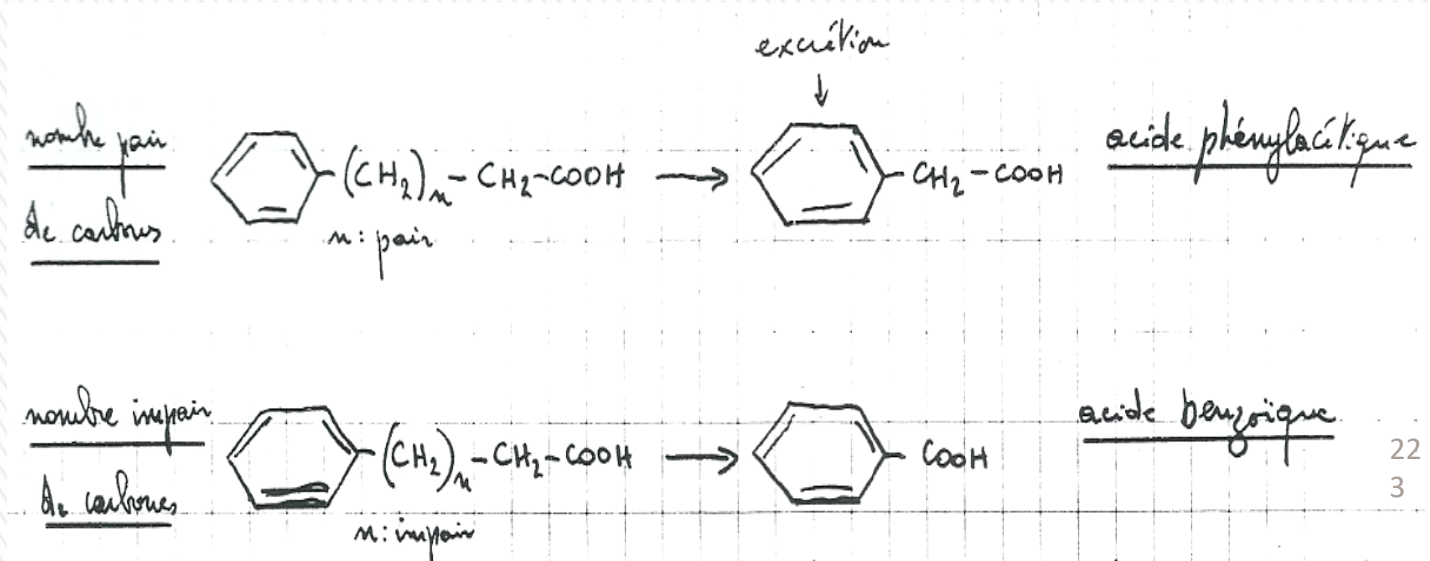
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.4 Historique de la dégradation des acides gras.

Des expériences déterminantes ont été réalisées en 1904 par le biochimiste allemand F. Knoop : des lapins sont nourris soit avec des acides gras à nombre pair de C, marqués par un groupe phényle, soit avec des acides gras à nombre impair de C.

L'excrétion dans les urines est dépendante de la nature des acides gras ingérés.

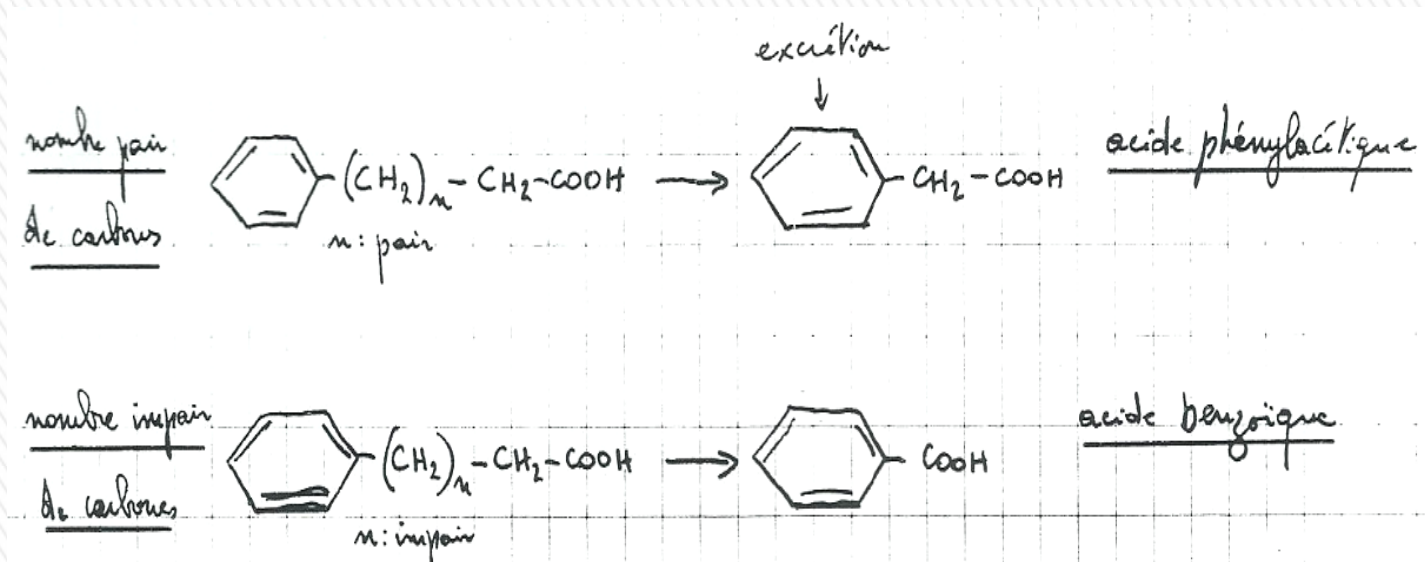


Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.4 Historique de la dégradation des acides gras.

Ces résultats indiquent que les acides gras – phénylés à l'extrémité – sont dégradés par élimination de groupes de 2 C, à partir de l'extrémité carboxylique : Knoop a déduit que les acides gras sont oxydés par une oxydation aboutissant à un β -céto-acide ; ce dernier est scindé en acide acétique et un acide gras raccourci de 2 C.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

1. Introduction.

1.4 Historique de la dégradation des acides gras.

Il a fallu attendre bien longtemps avant que les sites de dégradation des acides gras soient détectés et ensuite élucidés ; de nombreux chercheurs participèrent à ces découvertes : citons Leloir et Munoz (Argentine), Lehninger et Kennedy (USA), Green et Ochoa (idem) et surtout Lynen et coll. (Allemagne) qui isolèrent les enzymes qui catalysent les étapes successives de la β -oxydation des acides gras.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

La dégradation des acides gras s'effectue dans la mitochondrie.

De ce fait, pour être oxydés, les acides gras doivent subir préalablement une activation enzymatique et être transférés du cytoplasme de la cellule dans la mitochondrie où l'oxydation proprement dite peut commencer.

Ce processus d'entrée dans la mitochondrie comprend plusieurs étapes et est valable pour tout acide gras (acides gras à nombre pair ou impair d'atome de carbone, acides gras saturés ou insaturés).

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

Etapes:

1^{ère} étape : activation des acides gras.

acylCoA synthétase (thiokinase)



acide gras + coenzyme A_{cyto} + ATP $\rightarrow$ thioester acyl CoA + AMP + pyrophosphate

$$\Delta G^{\circ'} = -2,48 \text{ Kcal/mol } (-10,4 \text{ KJ/mol})$$

Trois enzymes (au moins) différentes, les **acylCoA synthétases**, catalysent la réaction : acylCoA synthétase pour chaîne courte (2, 3, 4 carbones), pour chaîne moyenne (4 à 12 C) et pour longue chaîne (12 à 22 C ou plus). Hormis cette différence de spécificité, les propriétés des 3 acylCoA synthétases sont similaires.

Les enzymes sont localisées au niveau de la membrane externe de la mitochondrie et du réticulum endoplasmique.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

Etapes:

1^{ère} étape : activation des acides gras.

Le pyrophosphate formé est hydrolysé par une **pyrophosphatase inorganique** :



Ensuite l'AMP formé est rephosphorylé en ADP par l'**adénylate kinase** :



L'activation d'un acide gras consomme donc l'équivalent de 2 ATP.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

Etapes:

1^{ère} étape : activation des acides gras.

Cette 1^{ère} réaction ne peut pas être l'étape de régulation de la dégradation des acides gras : pourquoi ?

Cette réaction d'activation ou d'« énergétisation » des acides est commune, d'une part, au processus d'entrée dans la mitochondrie des acides gras en vue d'être oxydés et, d'autre part, à la biosynthèse des lipides complexes (lipides comprenant différents constituants dont un ou plusieurs acides gras ceux-ci doivent, pour être unis aux autres constituants, être au préalable sous forme activée).

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

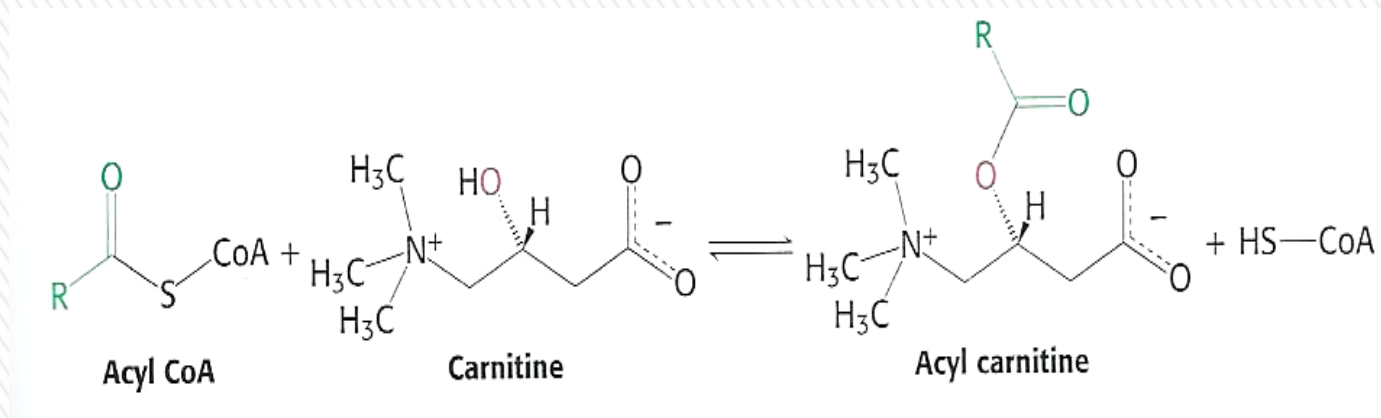
2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

Etapes:

2^{ème} étape : transfert sur la carnitine.

Les acides gras à longue chaîne activés ne traversent pas la membrane interne de la mitochondrie. Ils sont « aidés » par le transfert enzymatique sur une molécule, la carnitine.

La carnitine acyltransférase I est présente à la surface externe de la membrane interne de la mitochondrie.



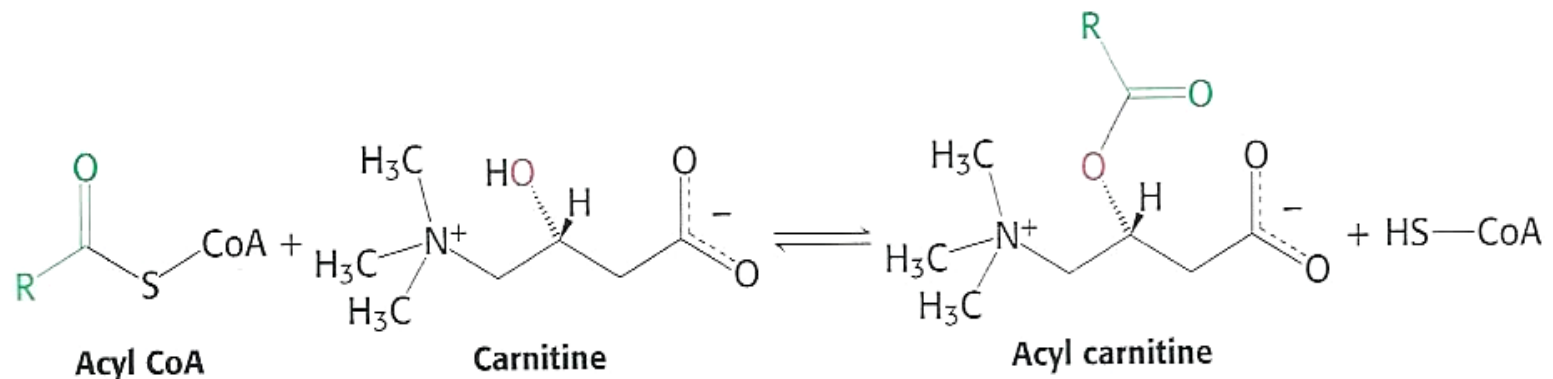
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} étape : transfert sur la carnitine.

Les acides gras à longue chaîne activés ne traversent pas la membrane interne de la mitochondrie. Ils sont « aidés » par le transfert enzymatique sur une molécule, la carnitine.

La **carnitine acyltransférase I** est présente à la surface externe de la membrane interne de la mitochondrie. **La carnitine acyltransférase I est une enzyme régulatrice qui contrôle la vitesse de pénétration du groupement acyle et donc la vitesse d'oxydation des acides gras.**



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} étape : transfert sur la carnitine.

Remarques :

- l'acyl-O-carnitine est un ester avec l'oxygène alors que l'acyl-S-CoA est un thioester ; les liaisons ester et thioester respectives sont des liaisons riches en énergie ;
- la carnitine est présente dans la plupart des tissus animaux et végétaux ; certains organismes inférieurs comme le ver de farine ont perdu la capacité de synthèse et ont donc besoin de cette substance dans leur alimentation. Les hommes et d'autres vertébrés synthétisent la carnitine à partir de lysine.

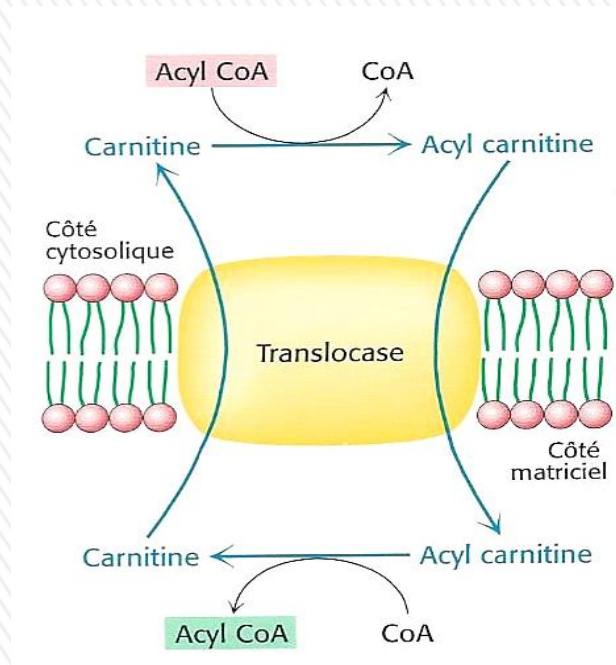
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} étape : transfert sur la carnitine.

Un système de transport spécifique de l'acyl carnitine (**translocase**) fait traverser ce dernier de la face externe de la membrane interne mitochondriale sur la face interne de cette membrane.

carnitine acyltransférase I (dans le cytoplasme)



carnitine acyltransférase II (dans la mitochondrie)

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

3^{ème} étape : transfert sur le CoA-SH intramitochondrial.

Le groupe acyle est transféré enzymatiquement de la carnitine sur le CoA-SH intramitochondrial sous l'action d'une **carnitine acyltransférase II** localisée sur la surface interne de la membrane interne de la membrane interne ; l'acyl-CoA est libéré dans la matrice mitochondriale.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

3^{ème} étape : transfert sur le CoA-SH intramitochondrial.

Le groupe acyle est transféré enzymatiquement de la carnitine sur le CoA-SH intramitochondrial sous l'action d'une **carnitine acyltransférase II** localisée sur la surface interne de la membrane interne de la membrane interne ; l'acyl-CoA est libéré dans la matrice mitochondriale.



L'acyl~CoA formé peut maintenant subir le cycle d'oxydation se déroulant dans la matrice mitochondriale.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

2. Processus d'entrée des acides gras dans la mitochondrie.

Ce mécanisme d'entrée des acides gras à longues chaîne, en 3 étapes peut paraître inutilement complexe mais il a pour effet de maintenir séparés les pools de CoA-SH extra- et intra-mitochondriaux car ils ont des fonctions différentes :

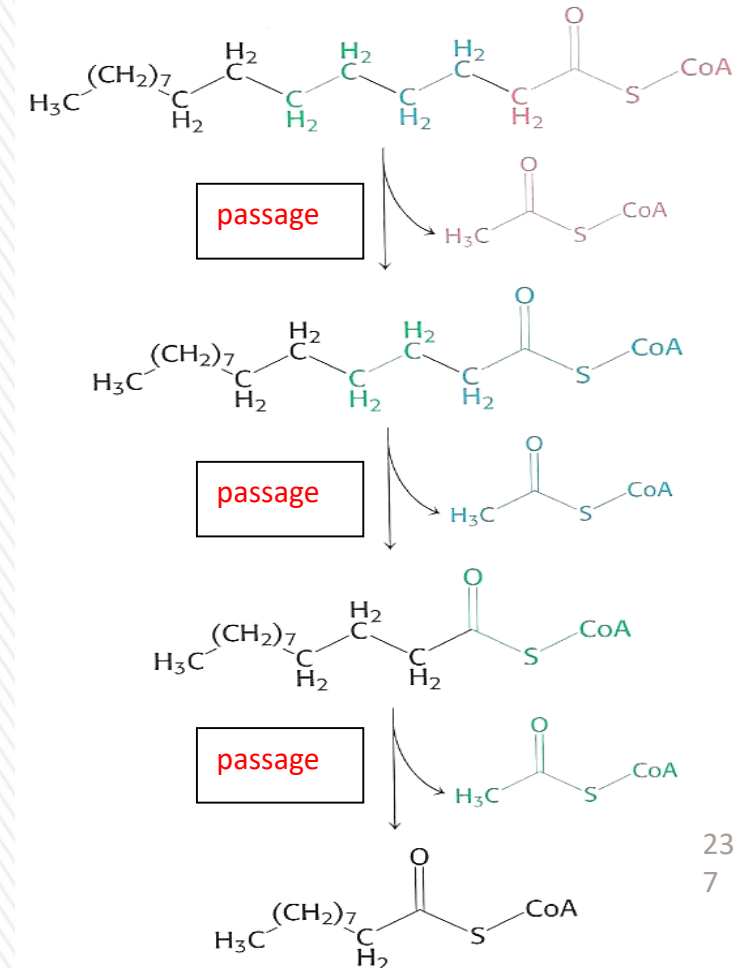
- CoASH mitochondrial : utilisé pour la dégradation oxydative du pyruvate, des acides gras et de certains acides aminés ;
- CoASH cytosolique : utilisé pour la biosynthèse des acides gras.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

L'oxydation des acides gras s'effectuent en 2 phases :

1^{ère} phase : les acides gras subissent l'élimination oxydative successive d'unités dicarbonées (C2) en commençant par l'extrémité carboxylique de la chaîne de l'acide gras. Ceci s'effectue par une **série de « passages » répétitifs (= 4 réactions enzymatiques)** à travers un ensemble enzymatique qui retire à chaque fois une **unité d'acétyle** (donc 2C) sous forme d'acétylCoA.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

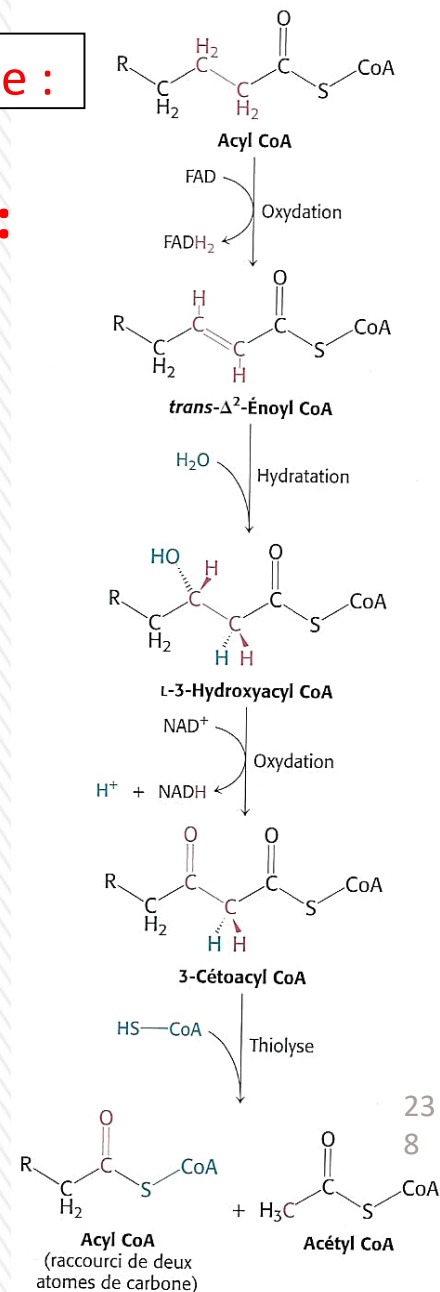
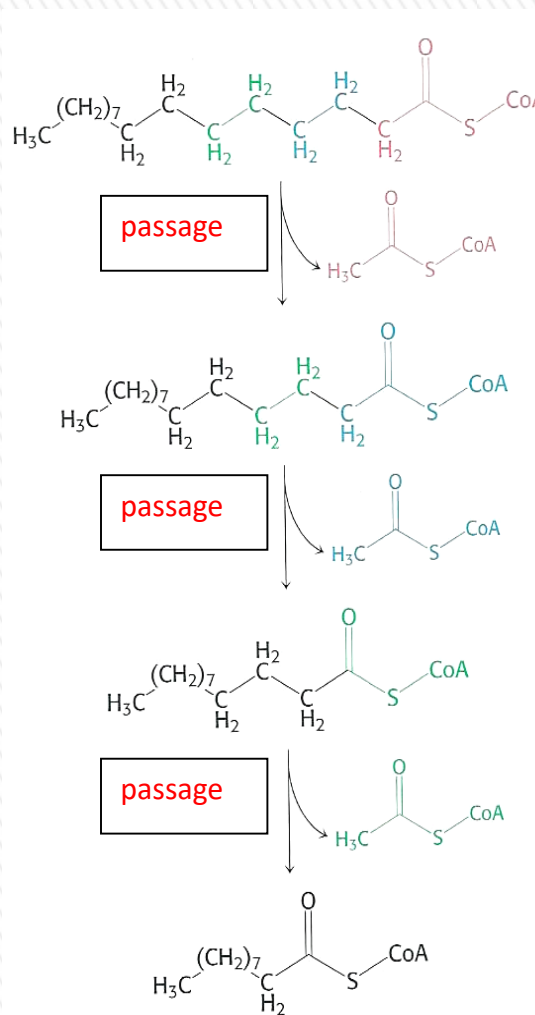
Passage :

L'oxydation des acides gras s'effectuent en 2 phases :

1^{ère} phase :

Exemple : un acide gras à 16 C (acide palmitique) subit 7 passages à travers un ensemble d'enzyme $\Rightarrow$ 8 acétyl CoA sont formés.

Au cours de chaque passage:
2 oxydations catalysées par des deshydrogénases ont lieu ce qui permettra de récupérer 2 cofacteurs réduits...



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

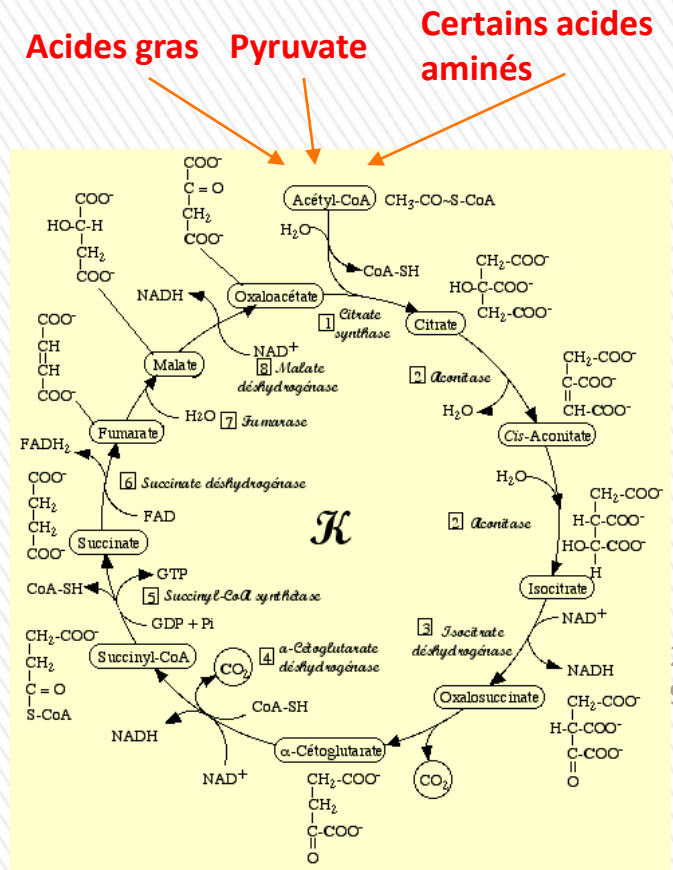
3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

L'oxydation des acides gras s'effectuent en 2 phases :

2^{ème} phase : Quid des acétyl~CoA ?

1^{ère} possibilité : les résidus acétyles de l'acétyl~CoA sont oxydés en CO_2 et H_2O par l'intermédiaire du cycle de l'acide citrique: poursuite de la dégradation dans la mitochondrie.

Les acétylCoA provenant de la dégradation des acides gras entrent donc dans une voie commune avec les acétylCoA provenant de la dégradation du glucose (par l'intermédiaire de son oxydation en pyruvate) et de la dégradation de certains acides aminés.



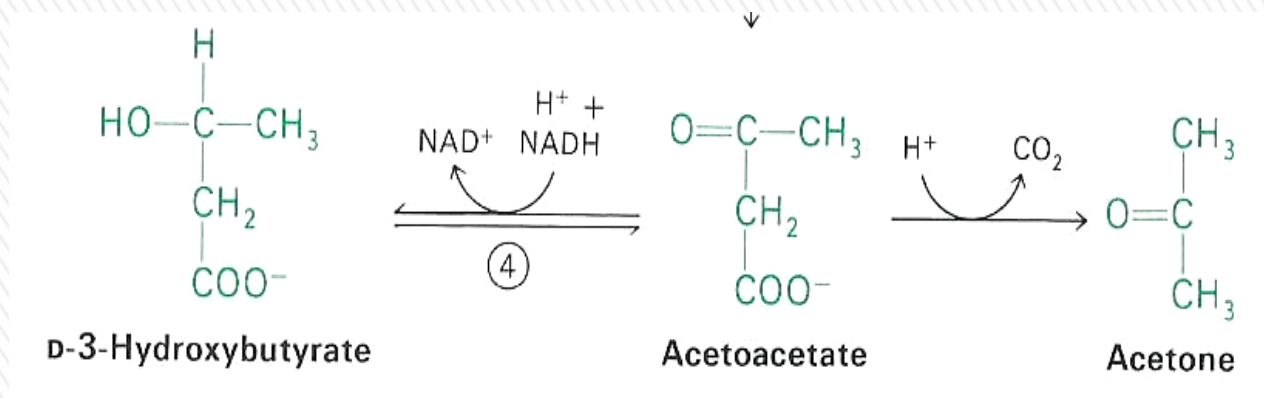
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} phase : Quid des acétyl~CoA ?

**2^{ème} possibilité : formation des corps cétoènes ou cétoniques
UNIQUEMENT DANS LES CELLULES HEPATIQUES**

Chez de nombreux vertébrés, le foie à la capacité de convertir l'acétylCoA (provenant de l'oxydation des acides gras, du pyruvate ou de certains acides aminés) en acétoacétate et en D- β hydroxybutyrate : ces 2 composés sont appelés corps cétoènes.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} phase : Quid des acétyl~CoA ?

2^{ème} possibilité : formation des corps cétoènes ou cétoniques

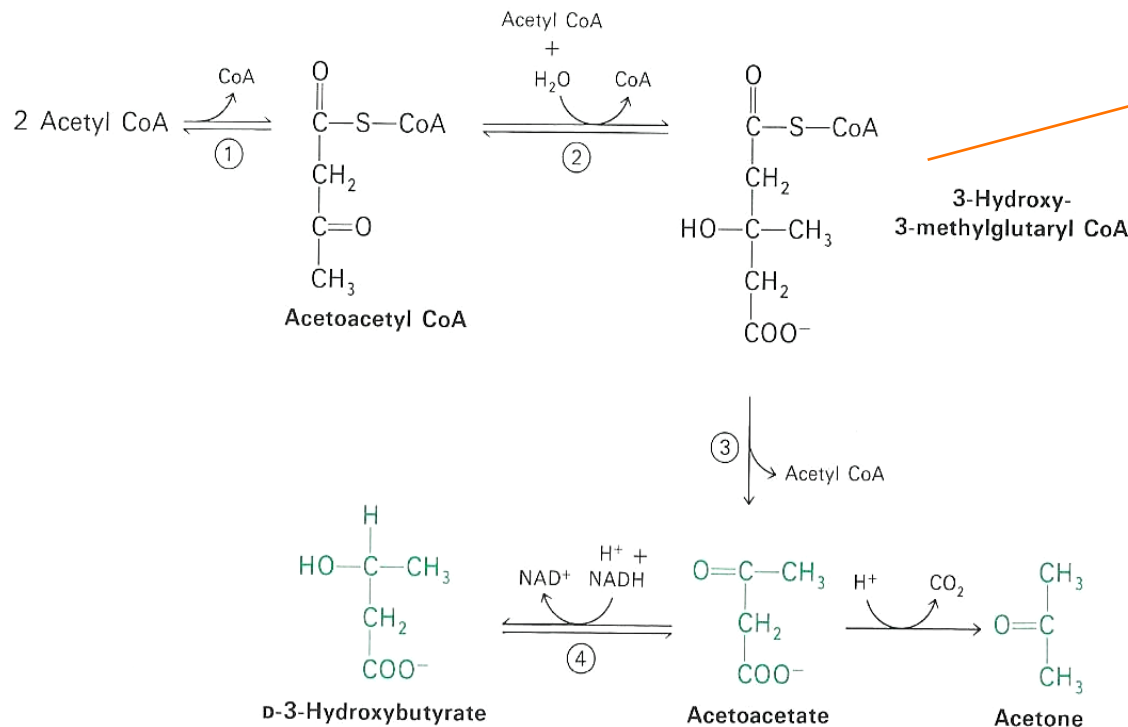
Les corps cétoènes sont des **petits « carburants de choix »** **synthétisés dans les mitochondries des cellules hépatiques en faibles quantité** (sauf en cas de jeûne prolongé ou chez des sujets diabétiques non traités) ; ces molécules sont des **molécules importantes du métabolisme énergétique.**

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

Formation des corps cétogènes ou cétoniques :

Synthèse du cholestérol



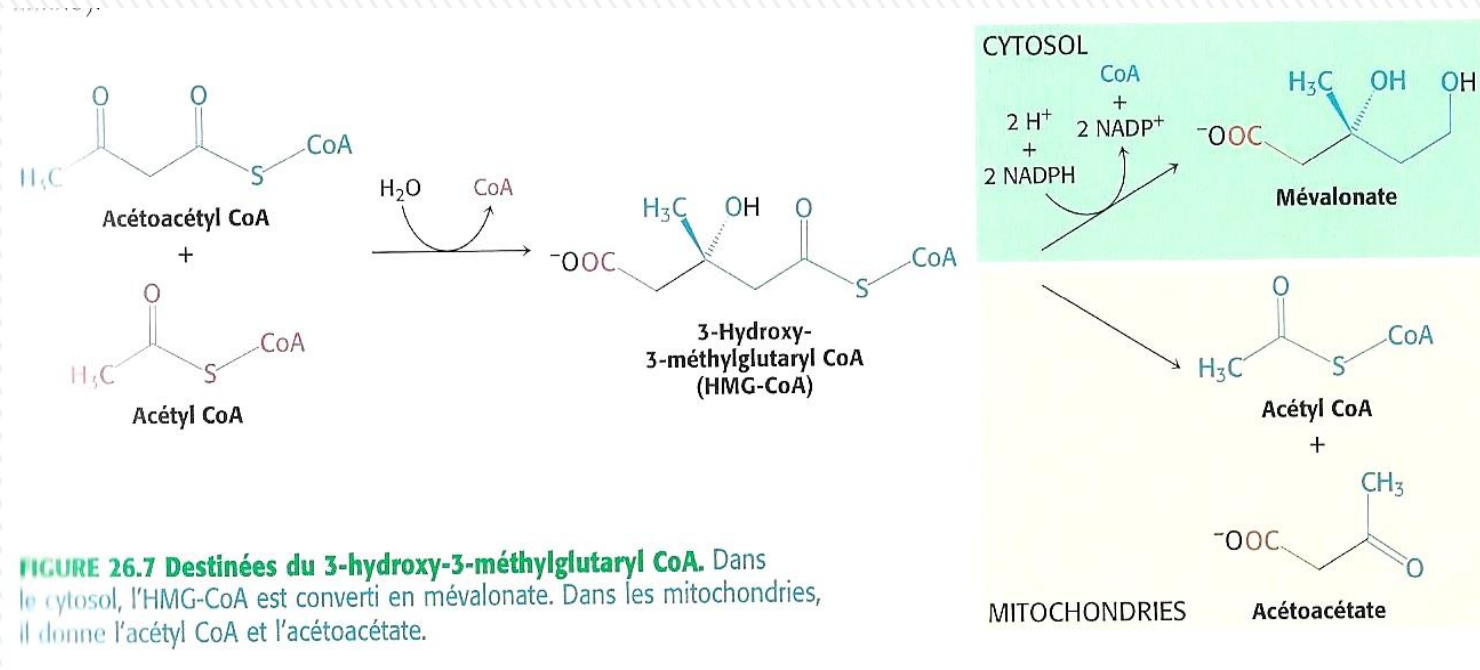
Formation of acetoacetate, D-3-hydroxybutyrate, and acetone from acetyl CoA in the liver. Enzymes catalyzing these reactions are: (1) 3-ketothiolase, (2) hydroxymethylglutaryl CoA synthetase, (3) hydroxymethylglutaryl CoA cleavage enzyme, and (4) D-3-hydroxybutyrate dehydrogenase. Acetoacetate spontaneously decarboxylates to form acetone.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

Formation des corps cétogènes ou cétoniques :

Il est à remarquer qu'un intermédiaire, le 3-hydroxy-3-méthylglutarylCoA est précurseur du mévalonate, intermédiaire de la voie de biosynthèse du cholestérol.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} possibilité : formation des corps cétoènes ou cétoniques

Une fois formés, ils diffusent à l'extérieur des mitochondries des cellules hépatiques vers le sang et sont transportés vers les tissus périphériques où ils seront reconvertis en l'acétylCoA.

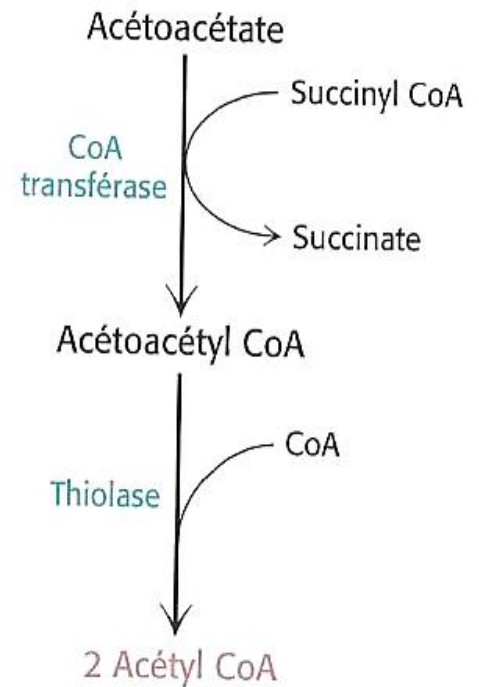
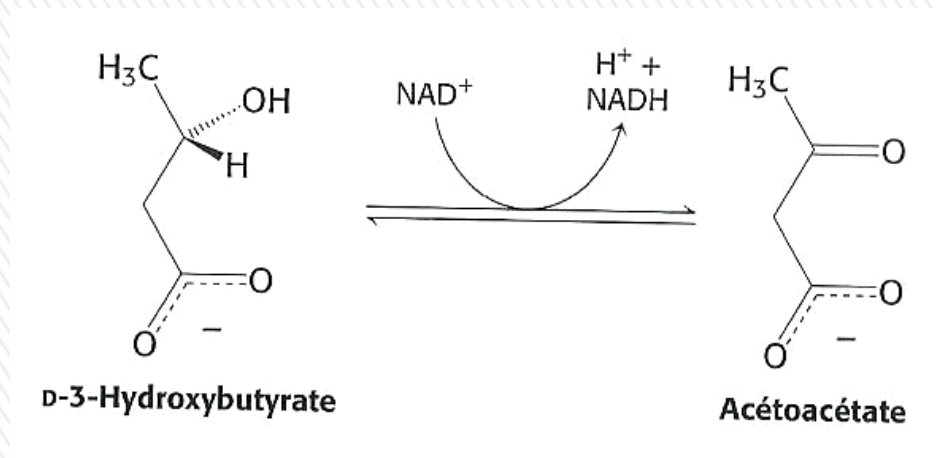


FIGURE 22.20 Utilisation de l'acétoacétate comme molécule énergétique.

L'acétoacétate peut être converti en deux⁴ molécules d'acétyl CoA qui entrent ensuite dans le cycle de l'acide citrique.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} possibilité : formation des corps cétoogènes ou cétoniques

Ils peuvent être utilisés par toutes les cellules de tous les tissus y compris par certains tissus n'ayant pas une large gamme de carburants (comme le cerveau qui utilise comme principale source de carbone le glucose ; il peut néanmoins utiliser le β hydroxybutyrate,...).

Remarques : Lorsque la concentration des corps cétoogènes augmente (dans le jeûne prolongé et dans le diabète sucré) et que la capacité d'utilisation par les tissus périphériques est dépassée, on atteint un état de **cétose ou cétonurie** (avec formation d'acétone par décarboxylation de l'acétoacétate) qui peut devenir toxique.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} phase : Quid des acétyl~CoA ?

3^{ème} possibilité (vue au cours) : **le cycle du glyoxylate** (uniquement pour les végétaux – surtout chez les graines en germination - et certains microorganismes possédant les enzymes spécifiques) ; le but étant de transformer des sources de carbone comme acides gras, acétate,... en acétylCoA pour les convertir par le biais du cycle en glucides.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

3. Résumé de la dégradation des acides gras dans la mitochondrie.

2^{ème} phase : Quid des acétyl~CoA ?

Autres possibilités : l'acétylCoA est concerné par un grand nombre de voies métaboliques aussi bien des voies de dégradation, de biosynthèse et de bioconversion...

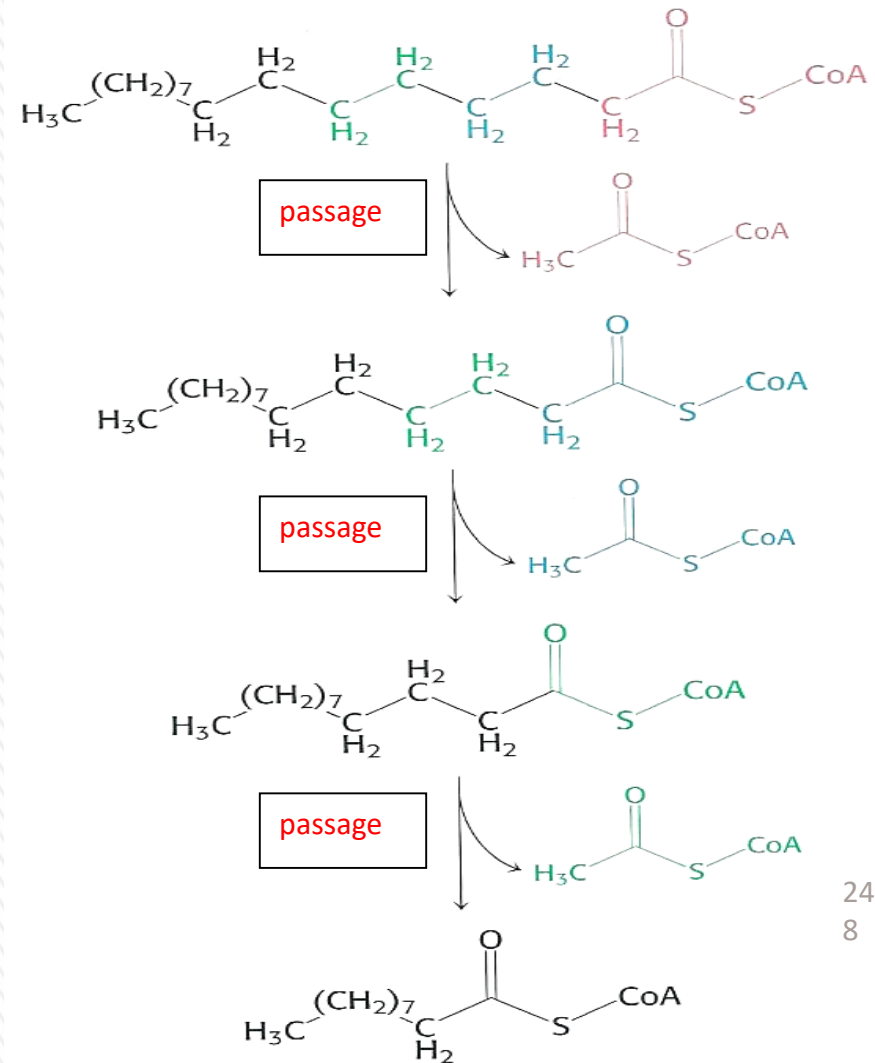
L'acétyl CoA est « le carrefour » métabolique !

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Description d'un « passage »
= séquence de 4 réactions
catalysées par des enzymes
spécifiques.

Au cours d'un passage,
l'acylCoA est raccourci
d'une unité dicarbonée
sous forme d'acétylCoA
en commençant par
l'extrémité carboxylique.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Chaque passage comprend une séquence de réactions spécifiques permettant de maximiser les oxydations de substrats et de générer des cofacteurs réduits (1 FADH_2 et 1 $\text{NADH} + \text{H}^+$) donnant leurs électrons à la chaîne de transport des électrons et générant au final de l'ATP.

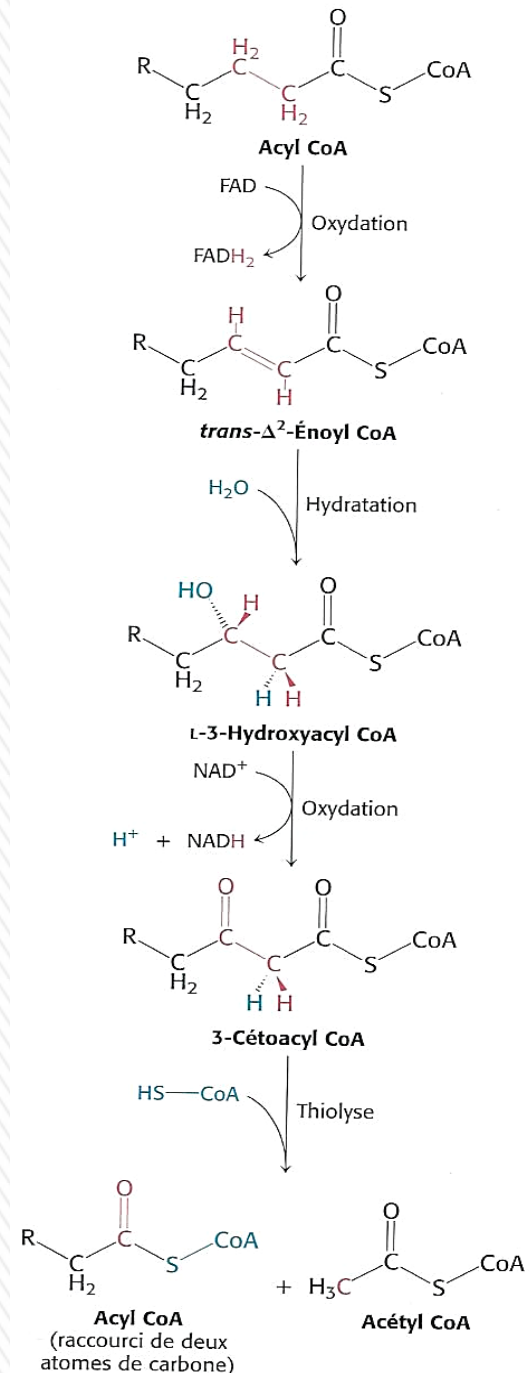
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Séquence réactionnelle d'un « passage » :

- oxydation (oxydoréduction),
- hydratation,
- oxydation (oxydoréduction)
- thiolyse libérant l'acétylCoA.

Lors de la dégradation des acides gras insaturés, certains « passages » peuvent être « modifiés » ; quant à la dégradation des acides gras à nombre impair d'atomes de C, le dernier passage générera du propionyl (C3)- CoA .



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

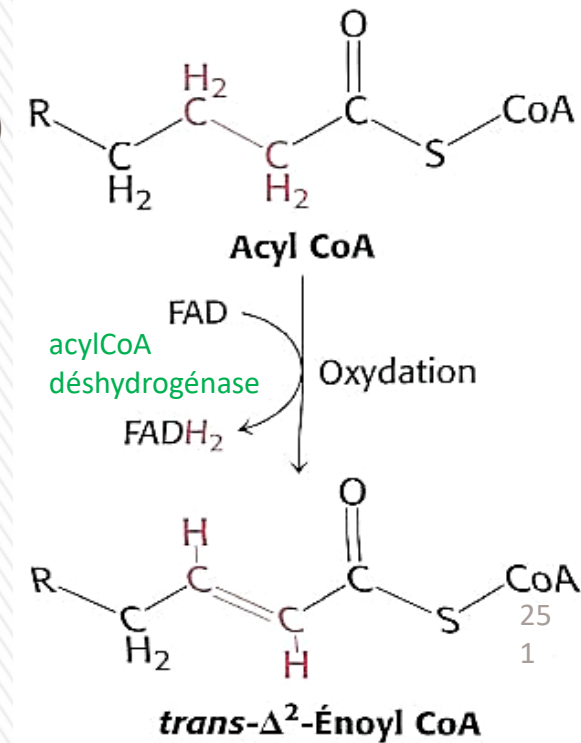
4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Description d'un « passage classique » = 4 réactions

1^{ère} réaction : oxydation ou déshydrogénation du substrat et prise en charge des électrons par le cofacteur FAD

La déshydrogénation de l'ester d'acyl-CoA au niveau des atomes de carbone C2 et C3 ($C\alpha$ et $C\beta \Rightarrow \beta$ oxydation) engendre la formation d'une double liaison dans la chaîne carbonée ; cette liaison Δ^2 insaturée formée est l'isomère géométrique trans : le produit obtenu est le **trans Δ^2 - énoyl-CoA**

acylCoA déshydrogénase



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Description d'un « passage classique » = 4 réactions

1^{ère} réaction : oxydation ou déshydrogénation du substrat et prise en charge des électrons par le cofacteur FAD

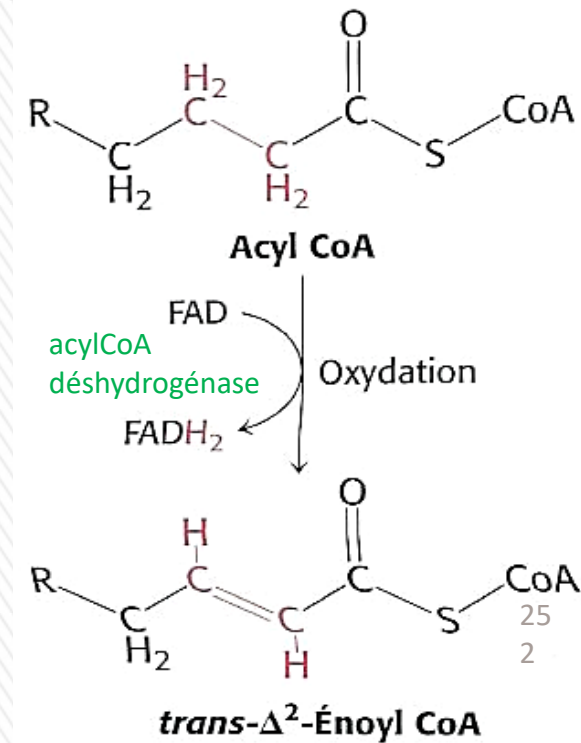
acylCoA déshydrogénase



La réaction est catalysée par **l'acylCoA déshydrogénase (E)** **ayant comme cofacteur** (groupement prosthétique)

FAD (Flavine Adénine Dinucléotide) ;

2 électrons et 2H^+ sont pris en charge au niveau du noyau flavinique du cofacteur, à l'issue de la réaction Rédox du **FADH₂** est obtenu.



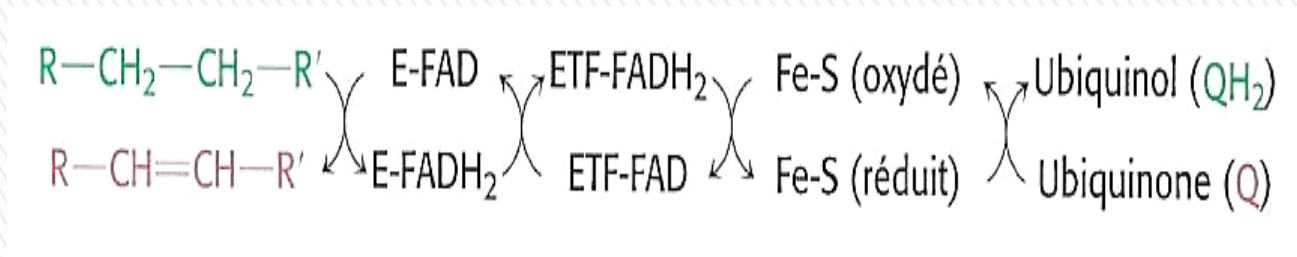
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

1^{ère} réaction : oxydation ou déshydrogénation du substrat et prise en charge des électrons par le cofacteur FAD

Remarques :

1°) Le cofacteur réduit de l'acylCoA déshydrogénase –FADH₂ donne ses électrons à la l'Ubiquinone par l'intermédiaire d'une flavoprotéine associée à une protéine Fer-Soufre ; les électrons sont donc transmis en cours de chaîne de transfert des électrons, le gradient d'H⁺ généré permettra d'obtenir l'équivalent de 2 ATP grâce à l'ATP synthétase.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

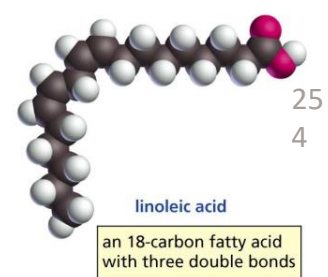
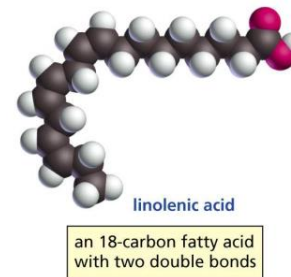
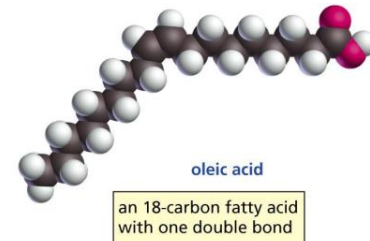
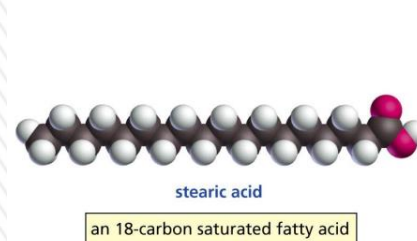
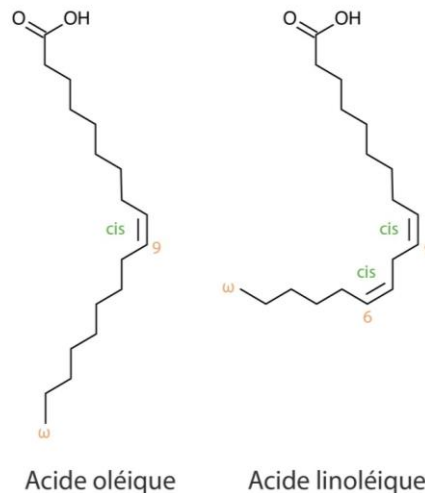
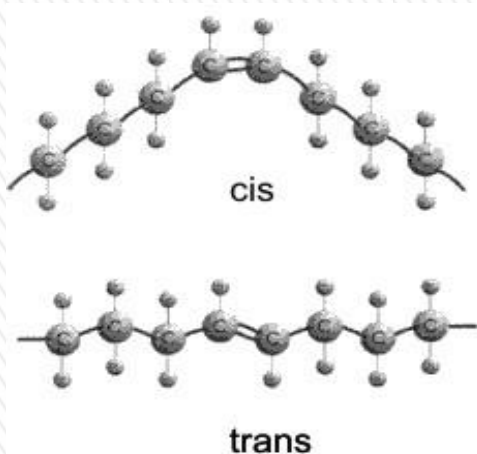
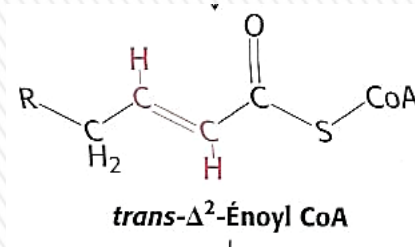
4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

1^{ère} réaction : oxydation ou déshydrogénation du substrat et prise en charge des électrons par le cofacteur FAD

Remarques :

2°) Trans Δ^2 désigne la configuration (trans) et la position (Δ^2) de la double liaison.

Les acides gras insaturés naturels ont la plupart du temps leur double liaison configuration cis...



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

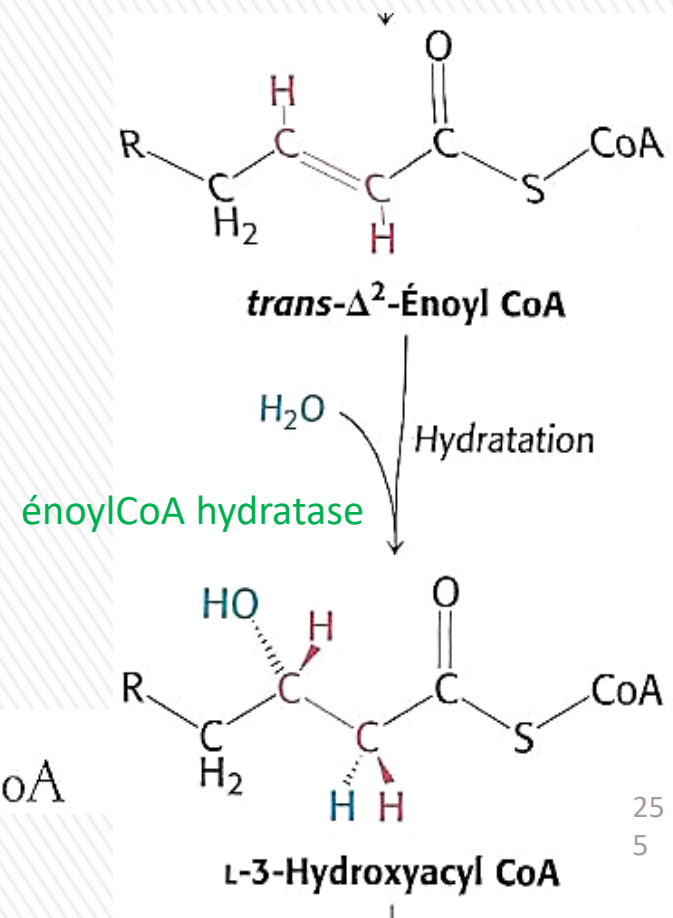
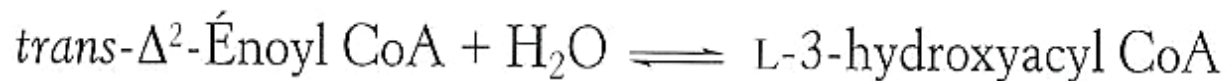
4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Description d'un « passage classique » = 4 réactions

2^{ème} réaction : hydratation du substrat

L'addition d'eau, catalysée par l'**énoylCoA hydratase**, sur la double liaison trans Δ^2 est stéréospécifique et conduit à la formation du L stéréoisomère, le **L-3-hydroxyacyl-CoA**.

énoylCoA hydratase



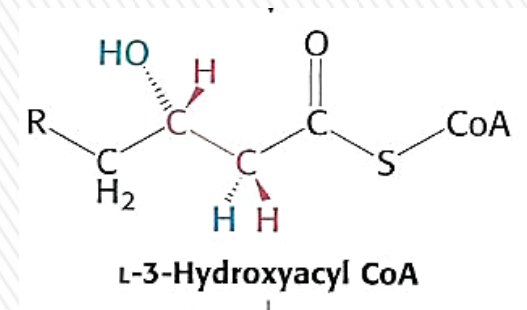
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

2^{ème} réaction : hydratation du substrat

Remarque :

L'hydratation de l'énoyl-CoA est stéréospécifique (comme le sont les hydratations du fumarate, de l'aconitate,...) ;
le L isomère du 3-hydroxyacyl-CoA est formé quand le trans Δ^2 est hydraté.



L'enzyme peut aussi hydrater un cis Δ^2
mais dans ce cas, le produit est le D isomère !

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

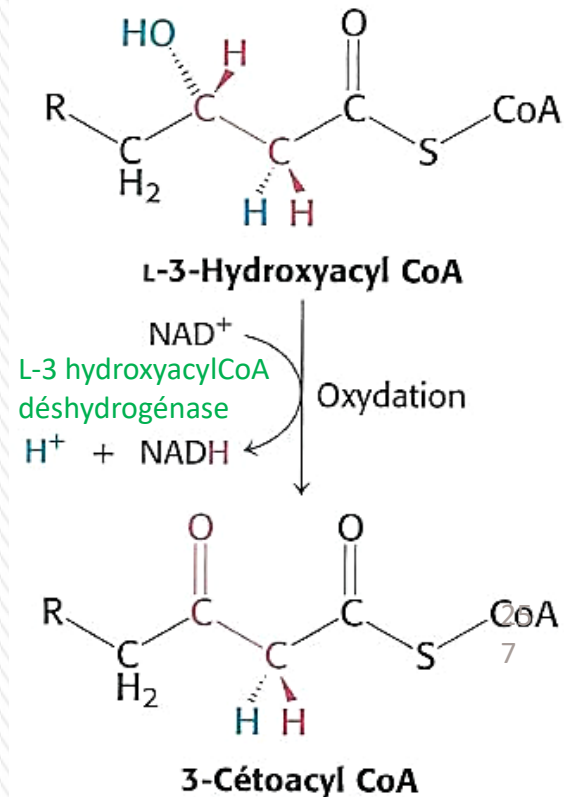
4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Description d'un « passage classique » = 4 réactions

3^{ème} réaction : oxydation ou déshydrogénation du substrat et prise en charge des électrons par le cofacteur NAD^+

Le L-3-hydroxyacyl-CoA est oxydé en 3-cétoacyl-CoA par la **L-3 hydroxyacylCoA déshydrogénase** qui présente une **stéréospécificité absolue** pour la **forme L** et qui a comme **cofacteur (coenzyme) le NAD^+** (Nicotinamide Adénine Dinucléotide); les électrons (ion hydrure) sont pris en charge au niveau du noyau nicotinamide du cofacteur, à l'issue de la réaction Rédox du **$\text{NADH} + \text{H}^+$** est obtenu.

L-3 hydroxyacylCoA déshydrogénase



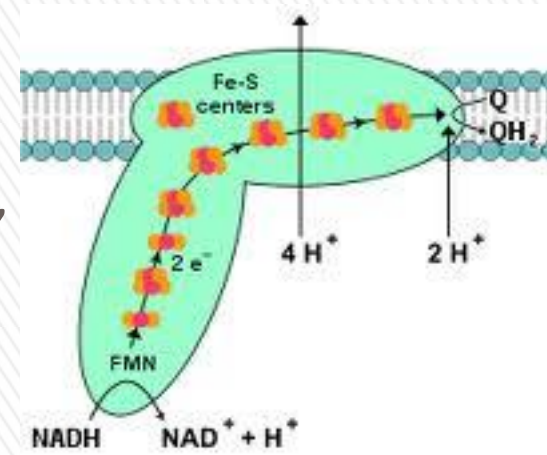
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

3^{ème} réaction : oxydation ou déshydrogénation du substrat et prise en charge des électrons par le cofacteur NAD^+

Remarques :

1°) Le cofacteur réduit $\text{NADH} + \text{H}^+$ donne ses électrons en début de chaîne respiratoire (à la NADH déshydrogénase), le gradient d' H^+ généré permettra d'obtenir l'équivalent de 3 ATP grâce à l'ATP synthétase.



2°) La L-3 hydroxyacylCoA déshydrogénase n'est active que sur le stéréoisomère L. Une épimérase permet de transformer le D-3 hydroxyacylCoA en L-3 hydroxyacylCoA ; cette enzyme s'avèrera nécessaire lors de la dégradation de certains acides gras insaturés.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

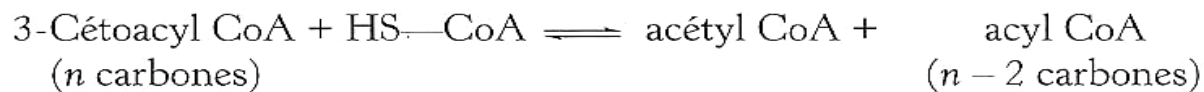
4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Description d'un « passage classique » = 4 réactions

4^{ème} réaction : étape de « coupure » ou de « clivage »: thiolase

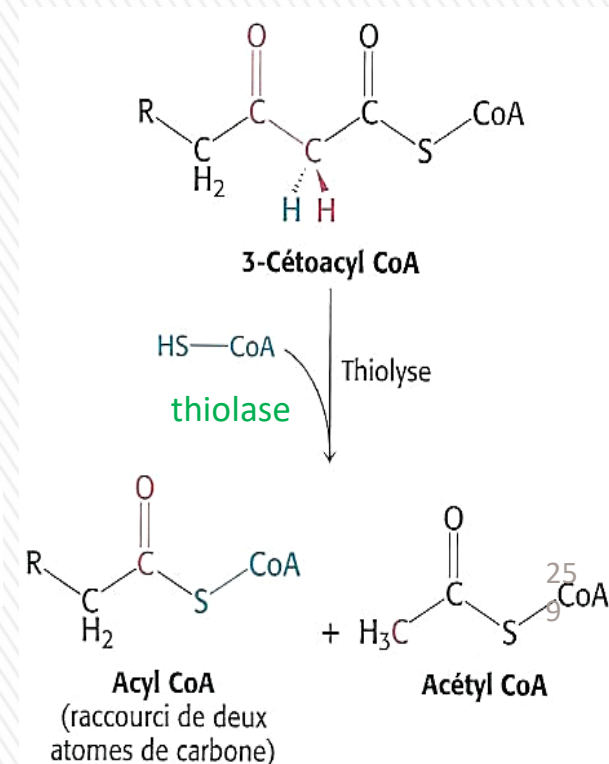
Cette réaction de clivage, encore appelée thiolase ou coupure thiolytique, est l'analogue d'une hydrolyse. Plutôt qu'une molécule d'eau, un coenzyme A est introduit lors du clivage du 3-cétoacyl-CoA (clivage avec le groupement thiol du CoA-SH) par **l'acylCoA acétyl transférase** ou plus simplement **la thiolase** au niveau de l'extrémité carboxylique de l'acide gras libérant **une molécule d'acétyl-CoA** et un **acyl-CoA raccourci d'une unité dicarbonée**.

thiolase



La réaction est fortement exergonique.

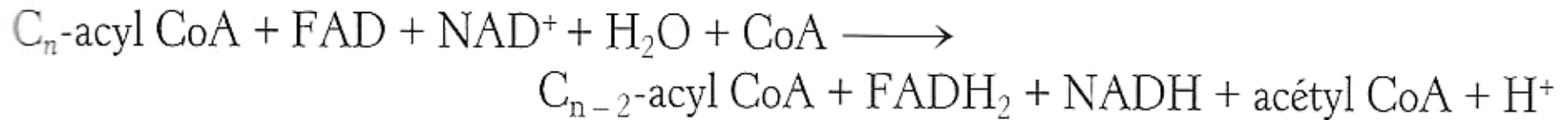
Sylviane Delannay



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

A l'issue d'un 1^{er} passage, une molécule d'acétyl-CoA et un acyl-CoA raccourci d'une unité dicarbonée sont obtenus ainsi que 2 cofacteurs réduits.



Un nouveau passage peut recommencer !

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Illustration de l'oxydation complète d'un acide gras saturé à nombre pair d'atome de carbone :

Prenons comme exemple l'acide palmitique (C16) :

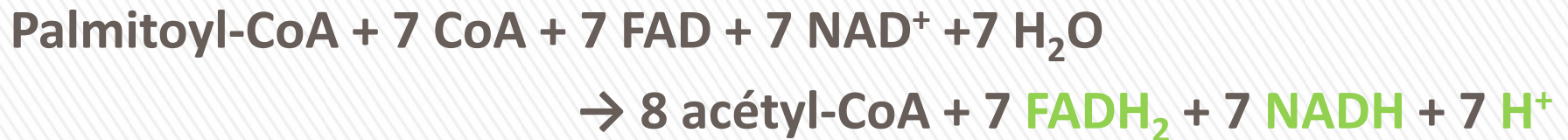
Après le processus d'entrée de l'acide gras dans la mitochondrie (nécessitant l'équivalent de 2 ATP), le palmitoyl-CoA va, à l'issue d'un passage, libérer 1 molécule d'acétyl-CoA et un myristyl-CoA :
(C16)



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

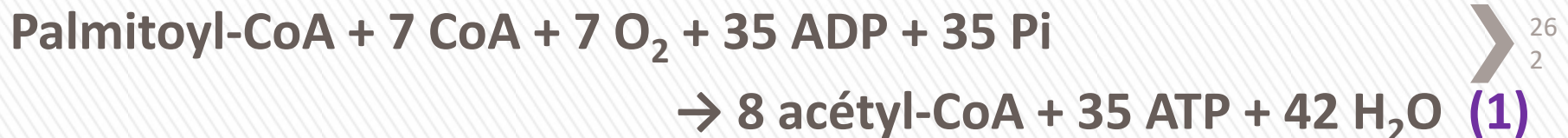
4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Le **palmitoyl-CoA** va, à l'issue de **7 passages**, être clivé en **8 molécules d'acétyl-CoA** :



Le FADH_2 et le $\text{NADH} + \text{H}^+$ donnent leurs électrons à la **chaîne respiratoire** (besoin d' O_2 et formation d' H_2O):

- FADH_2 est l'équivalent de 2ATP car donne ses électrons à l'Ubiquinone ;
- $\text{NADH} + \text{H}^+$ est l'équivalent de 3ATP car donne ses électrons en début de chaîne.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Les molécules d'acétyl-CoA entrent dans le cycle de Krebs, d'où :



En continuant (1) et (2), on obtient:



2 équivalents ATP sont utilisés pour activer l'acide palmitique (dans le cytoplasme – processus d'entrée), d'où le bilan final:



1mole, soit 255g



129 ATP : 23 O₂ = 5,61ATP/23 O₂



7,3Kcal/mol x 129 =

941,7Kcal/mol => Rdt 40,2%



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

L'oxydation des acides gras est fortement exergonique

Le rôle de l'oxydation des acides gras est, naturellement, de fournir de l'énergie métabolique. Chaque tour de β oxydation produit un NADH, un FADH_2 et un acétyl-CoA. L'oxydation de l'acétyl-CoA via le cycle de l'acide citrique forme d'autres FADH_2 et NADH, qui sont oxydés par les oxydations phosphorylantes pour donner de l'ATP. L'oxydation complète d'un acide gras est donc un processus fortement exergonique qui assure la formation de nombreux ATP. Par exemple, l'oxydation de palmityl-CoA (acide gras à 16 atomes de carbone) nécessite 7 tours de β oxydation, formant 7 FADH_2 , 7 NADH et 8 acétyl-CoA. L'oxydation des 8 acétyl-CoA, à son tour, conduit à la formation de 8 GTP, 24 NADH et 8 FADH_2 . Puisqu'après oxydations phosphorylantes, les 31 molécules de NADH formeront 93 ATP et que les 15 molécules de FADH_2 formeront 30 ATP, après soustraction des deux équivalents d'ATP nécessaires à la formation de palmityl-CoA (Section 23-2A), *l'oxydation d'une molécule de palmitate permet la formation nette de 129 molécules d'ATP.*



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

4. Dégradation oxydative des acides gras saturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Remarques :

1°) Une **production importante d'eau** est associée à la « combustion » des lipides ; certains animaux (tels le chameau) peuvent obtenir à la fois de l'énergie chimique et de l'eau par consommation de leurs réserves lipidiques.

2°) La **production d'ATP est associée à une consommation d'oxygène qui est plus importante** lors de la « combustion » des lipides que lors de la « combustion » des glucides. En effet, l'oxydation des glucides conduit à la formation de 38 (36) ATP pour une consommation de 6 molécules d'oxygène (soit un rapport ATP : O₂ = 6,33 (6)). Pour un gain constant en ATP, l'oxydation des acides gras nécessite 12,8% (7) d'oxygène en plus²⁶₅ que l'oxydation des glucides.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

5. Dégradation oxydative des acides gras insaturés à nombre pair d'atomes de carbone.

La plupart des **acides gras** présents dans les triacylglycérols et les phospholipides des animaux et surtout des végétaux sont **insaturés** et possèdent **une ou plusieurs double(s) liaison(s) en configuration cis**.

La double liaison obtenue après la 1^{ère} réaction de déshydrogénation des acides gras non saturés est en position trans.

Pour rappel, l'acide gras insaturé doit au préalable rentrer dans la mitochondrie pour y être dégradé.

Par ailleurs, lors d'un passage « normal », après la réaction d'oxydation, un **trans Δ^2 acyl CoA (ou énoyl-CoA)** est formé.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

5. Dégradation oxydative des acides gras insaturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Lors de la dégradation des acides gras insaturés, à l'approche de la double liaison, deux cas peuvent se présenter :

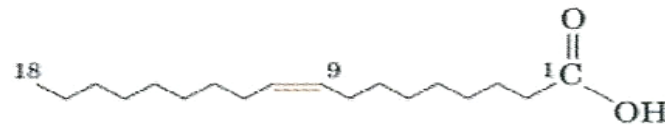
- soit un **cis Δ^2 acyl CoA est obtenu**. L'hydratase est stéréospécifique ; elle peut hydrater le cis Δ^2 mais dans ce cas, le produit est le D isomère du 3-hydroxyacyl-CoA qui est formé.

Or, la L-3 hydroxyacylCoA déshydrogénase (catalysant la 3^{ème} réaction) n'est active que sur le stéréoisomère L. Une **3-hydroxyacyl-CoA-épipimérase** est nécessaire : **elle permet de transformer le D-3 hydroxyacylCoA en L-3 hydroxyacylCoA** qui devient le substrat de la réaction suivante..

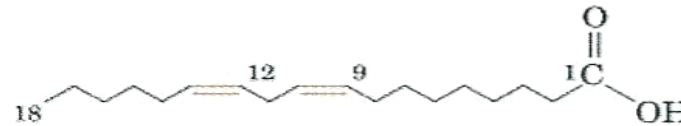
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

5. Dégradation oxydative des acides gras insaturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Presque tous les acides gras insaturés d'origine biologique ne contiennent que des doubles liaisons cis, qui, le plus souvent, commencent entre C9 et C10 (appelée Δ^9 ou double liaison 9). S'il y a d'autres doubles liaisons, elles se trouvent à trois carbones d'intervalle et ne sont donc pas conjuguées. Les acides oléique et linoléique sont deux exemples d'acides gras insaturés. Notez que l'une des doubles liaisons de l'acide linoléique se trouve à un atome de carbone impair et que l'autre se trouve à un atome de carbone pair. Les doubles liaisons dans ces positions posent deux problèmes pour la voie de la β oxydation qui sont résolus par trois enzymes supplémentaires



Acide oléique
(Acide 9-*cis*-Octadécénoïque)



Acide linoléique
(Acide 9,12,-*cis*-octadécadiénoïque)

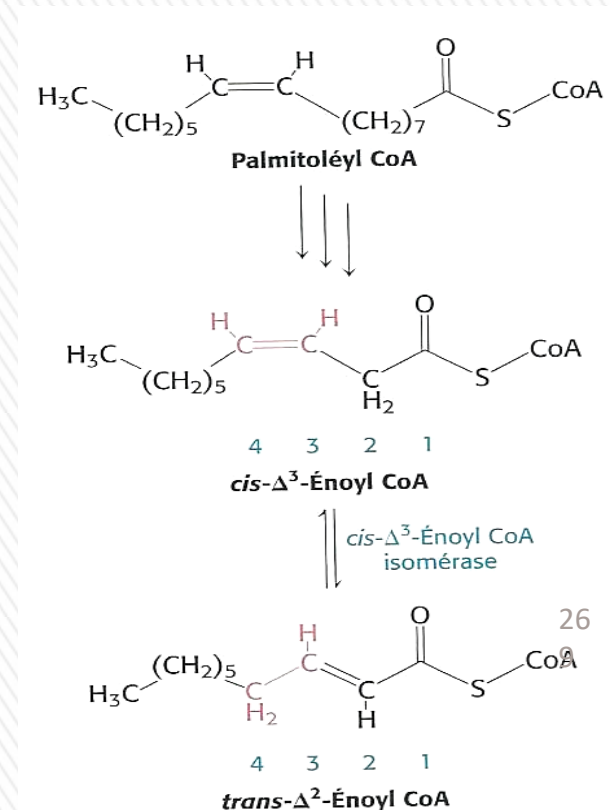
Structures de deux acides gras insaturés usuels. La plupart des acides gras insaturés présentent des doubles liaisons insaturées cis non conjuguées.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

5. Dégradation oxydative des acides gras insaturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Lors de la dégradation des acides gras insaturés, à l'approche de la double liaison, deux cas peuvent se présenter :

- soit un $\text{cis } \Delta^3$ acyl CoA est obtenu. Dans ce cas, une **énoylCoA isomérase** est nécessaire : elle permet de transposer réversiblement la position $\text{cis } \Delta^3$ acyl à la position $\text{trans } \Delta^2$; l'acyl CoA $\text{trans } \Delta^2$ (ou énoyl-CoA) devient le substrat de la réaction suivante.



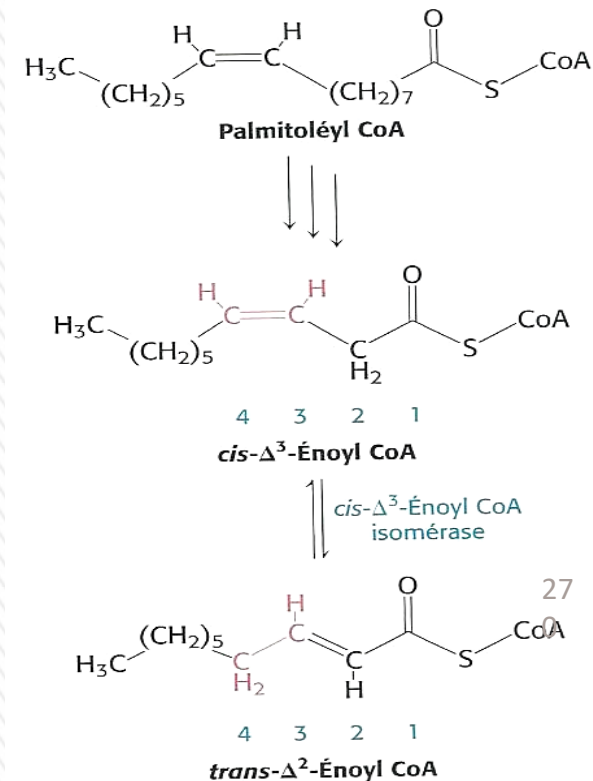
Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

5. Dégradation oxydative des acides gras insaturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Certains « passages » vont donc être « modifiés » à l'approche de la double liaison : la 1^{ère} réaction d'oxydation n'a pas lieu (équivalent de 2ATP de moins produit) et l'intervention (éventuelle) de 2 enzymes, **l'isomérase et l'épimérase**, permet de résoudre les « problèmes ».

Illustration :

- dégradation de l'acide palmitoléique (cis Δ^9 C16) ;
- dégradation de l'acide oléique (cis Δ^9 C18) ;
- dégradation de l'acide linoléique (cis $\Delta^{9,12}$ C18) ;
- dégradation de l'acide linolénique (cis $\Delta^{9,12,15}$ C18).

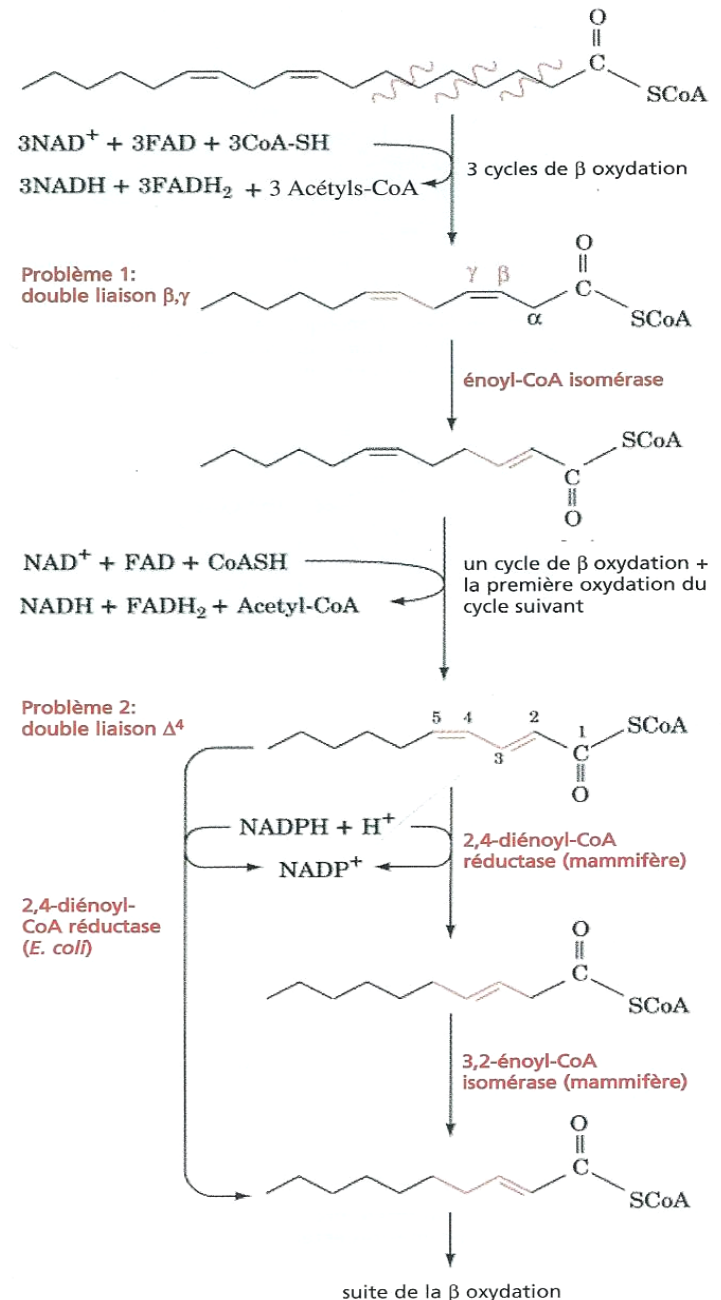


Développement au cours + bilan.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

5. Dégradation oxydative des acides gras insaturés à nombre pair d'atomes de carbone.

Problèmes et leurs solutions lors de l'oxydation d'acides gras insaturés. L'acide linoléique est pris comme exemple. Le premier problème, la présence d'une double liaison entre les atomes de carbone β et γ est résolu par la transformation de cette liaison en une double liaison α,β par l'énoyl-CoA isomérase. Le deuxième problème, le fait qu'un 2,4-diénoyl-CoA ne soit pas un substrat pour l'énoyl-CoA hydratase, est éliminé par la réduction NADPH-dépendante de la double liaison en 4 par la 2,4-diénoyl-CoA réductase qui donne le substrat de β oxydation *trans*-2-énoyl-CoA chez *E. coli*, mais le *trans*-3-énoyl-CoA chez les mammifères. Ceux-ci ont une 3,2-énoyl-CoA isomérase, qui transforme le *trans*-3-énoyl-CoA en *trans*-2-énoyl-CoA.



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

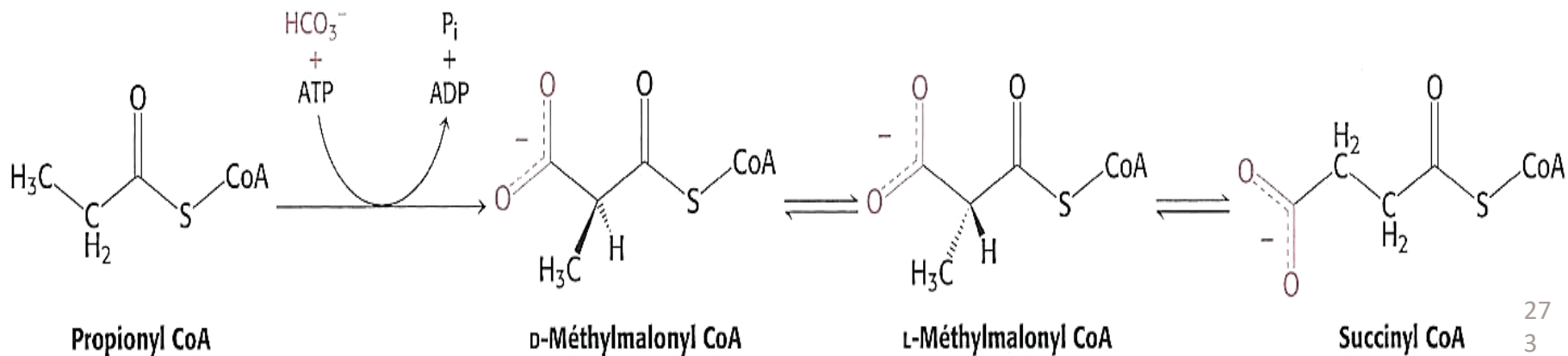
6. Dégradation oxydative des acides gras à nombre impair d'atomes de carbone.

Les acides gras à nombre impair d'atome de carbone sont rencontrés en quantité significative chez de nombreux végétaux et microorganismes ; les ruminants sont particulièrement confrontés à la dégradation de ce type d'acides gras.

Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

6. Dégradation oxydative des acides gras à nombre impair d'atomes de carbone.

Ces acides gras « subissent » des « passages » jusqu'à l'obtention, lors du dernier « passage », d'une molécule d'acétylCoA et d'une molécule de propionylCoA (acide gras à 3C). Le propionylCoA va subir une carboxylation catalysée par une propionylcarboxylase (cofacteur = biotine) nécessitant de l'ATP. Le produit de cette réaction, le méthylmalonylCoA est ensuite converti en succinylCoA.

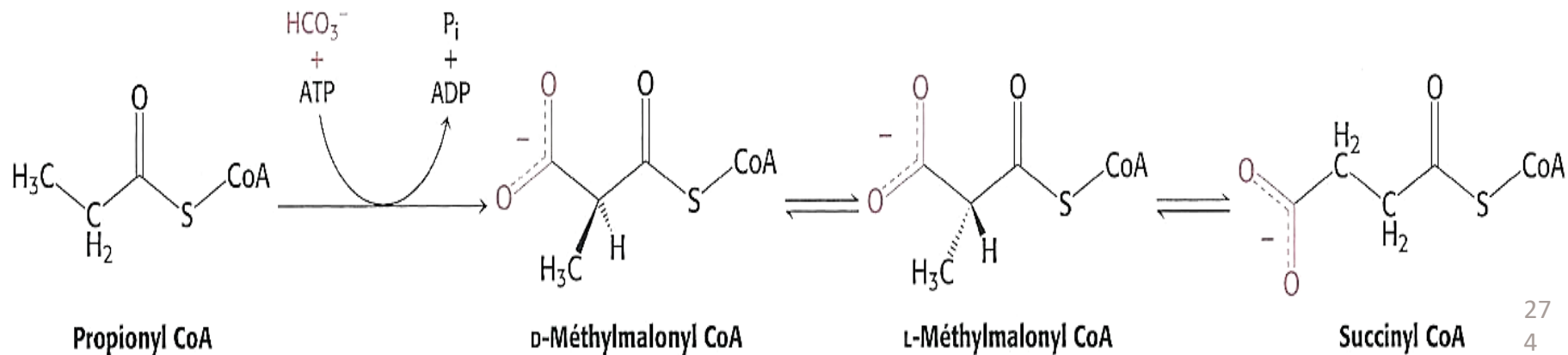


Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

6. Dégradation oxydative des acides gras à nombre impair d'atomes de carbone.

Cette séquence réactionnelle peut sembler curieuse, mais elle permet de faire face à une difficulté chimique.

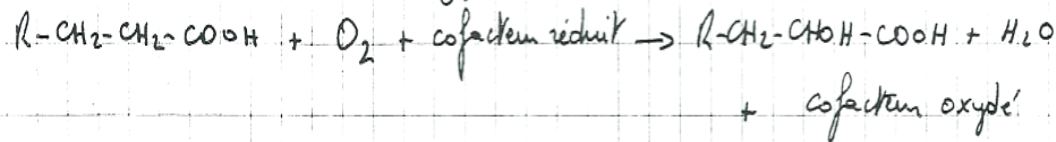
Il est à remarquer que l'enzyme catalysant la réaction d'obtention du **succinylCoA**, la **méthylmalonylCoA mutase**, nécessite un **cofacteur**, la **desoxyadénosylcobalamine (vitamine B12)** ; elle est remarquable (la réaction catalysée est très complexe) !



Dégradation oxydative des acides gras (β oxydation).

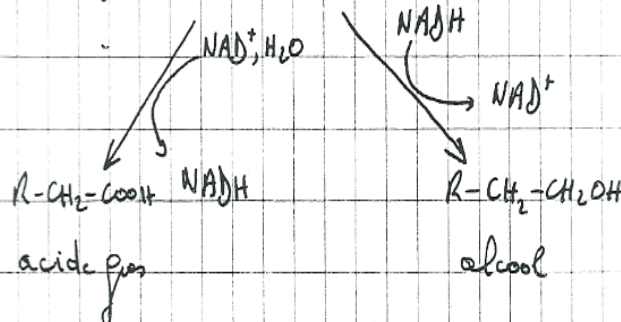
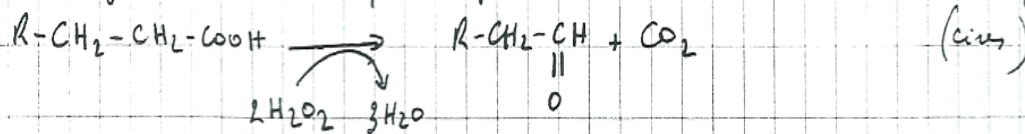
7. Voies mineures de l'oxydation des acides gras.

- Les α -hydroxy acides gras que l'on trouve dans certains cirrhoridés et ganglionnaires sont formés par l'hydroxylation enzymatique d'acides gras saturés sous l'action de monooxygénases



Le co-facteur réduit est l'acide ascorbique ou la tétrahydrobioptérine.

- Dans les graines en germination, intervient l' α oxydation, catalysée par une acide gras peroxydase; l'enzyme agit que sur des acides gras de 13^e à 18 C; l'oxydation n'est donc pas complète. C'est une source éventuelle d'alcools gras.



Les protides - Définition :

Protides

non hydrolysables

= acides aminés

hydrolysables

Σ acides aminés

Σ acides aminés +
partie non protéique

= peptides et holoprotéines

= hétéroprotéines ou
protéines conjuguées

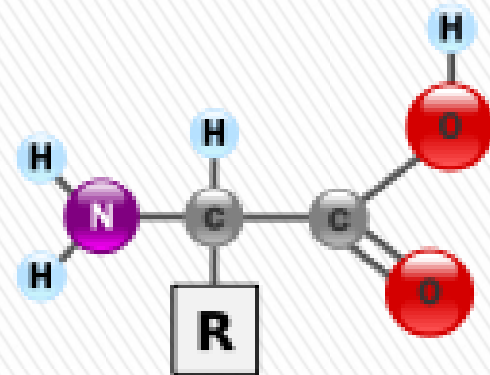
Classes	Groupements prosthétiques	Exemple
Lipoprotéines	Lipides	B ₁ -lipoprotéine sanguine
Glycoprotéines	Glucides	γ -globuline plasmatique
Phosphoprotéines	Groupes phosphate	Caséine du lait
Hémoprotéines	Hème (porphyrine à fer)	Hémoglobine
Flavoprotéines	Nucléotides flaviniques	Succinate déshydrogénase
Métalloprotéines	Fer Zinc	Ferritine Alcool déshydrogénase

Les acides aminés Généralités

Les acides aminés se présentent à l'état libre ou associés entre eux par liaison covalente (liaison peptidique) dans les peptides et les protéines.

20 acides aminés sont rencontrés abondamment dans la nature: les **acides aminés courants** ; d'autres acides aminés naturels de structure plus variée sont plus rarement retrouvés : les **acides aminés rares ou occasionnels**.

Leur appellation tient du fait que ces **composés organiques** présentent une **fonction acide** et une **fonction amine**.



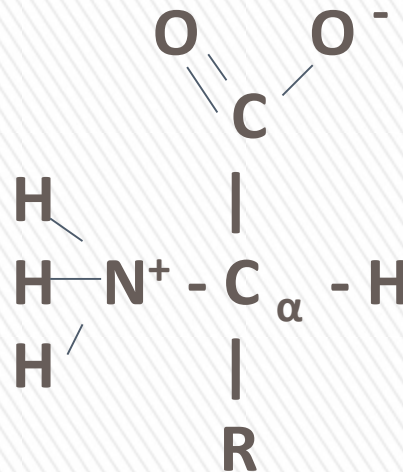
La terminologie la plus fréquente est « ine ».

Les acides aminés courants

20 aminés sont rencontrés abondamment dans la nature à l'état libre ou dans les hydrolysats de peptides et de protéines.

A l'exception de la proline, ils répondent à cette formule générale. Le carbone porteur des fonctions amine primaire et acide est le carbone α .

Formule générale :



Les 20 acides aminés courants diffèrent par leur chaîne latérale R.

Rôles des acides aminés

Les acides aminés ont différents devenirs:

⇒ rôles prioritaires:

- servir de « briques » de construction pour la synthèse des protéines (traduction);
- rôle en tant que tel ou précurseur d'autres biomolécules
Ex. certains participent à la synthèse des bases azotées de NTD,
sérine → sphingosine, acide glutamique → glutathion,
tyrosine → hormones thyroïdiennes, histidine → histamine,...

⇒ les acides aminés restants vont être dégradés:

Rôles des acides aminés - dégradation

⇒ les acides aminés restants vont être dégradés =
dégradation oxydative:

Voies de dégradation spécifiques

Acides aminés -----> Squelette Carboné donnant pour

au cours desquelles le

certaines a.a. : - pyruvate

groupement aminé est retiré

- acétyl CoA

(réactions de transamination et de désamination)

- acétoacétyl CoA

groupement aminé = déchet (urée, acide urique, ammoniacque)

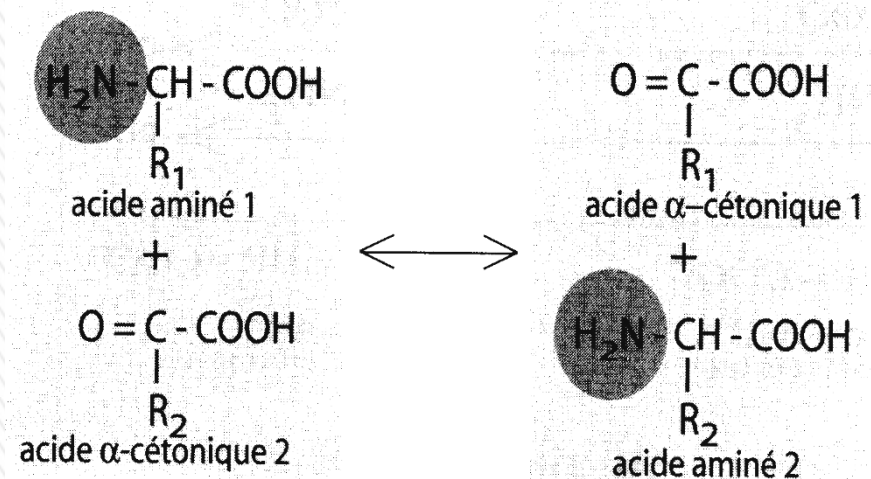
- intermédiaires du
cycle de l'acide citrique

Rôles des acides aminés - dégradation

Voies de dégradation spécifiques au cours desquelles le groupement aminé est retiré :

réaction de transamination: les réactions de transamination interviennent dans les dégradations (sens 1) et les synthèses (sens 2) des acides aminés naturels ; les transaminases spécifiques à un acide aminé donné catalysent ce type de réaction de transfert de groupement aminé selon un mécanisme à 2 substrats de type « ping-pong » (le groupement aminé joue le rôle de balle de ping-pong) ; ces enzymes requièrent un cofacteur, la vitamine B6.

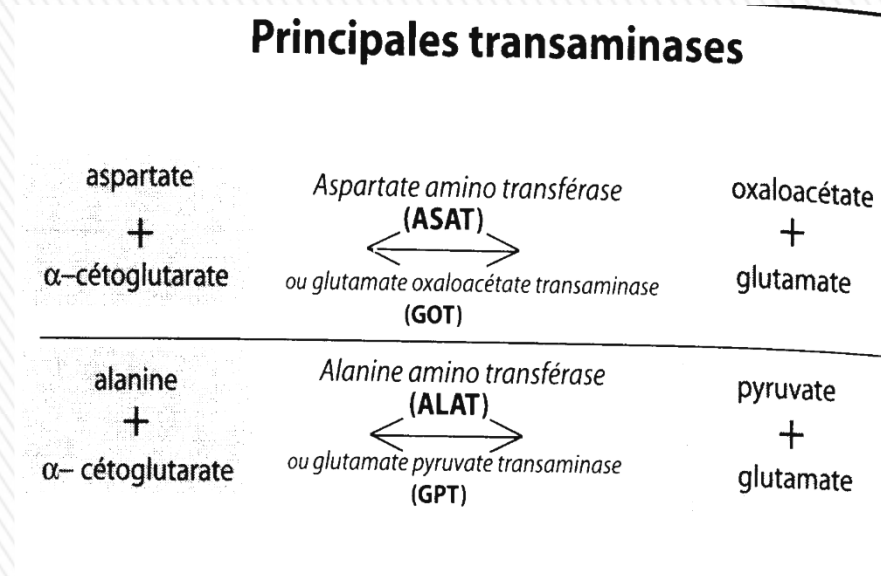
Réaction de transamination



Rôles des acides aminés - dégradation

Voies de dégradation spécifiques au cours desquelles le groupement aminé est retiré :

réaction de transamination:



$\alpha\text{-cétoglutarate} + \text{a.a.} \rightarrow \text{L-glutamate} + \alpha\text{-cétoacide correspondant à l'a.a.}$

L' $\alpha\text{-cétoglutarate}$ collecte le groupement aminé de la plupart des acides aminés (réaction sens 1).

Rôles des acides aminés - dégradation

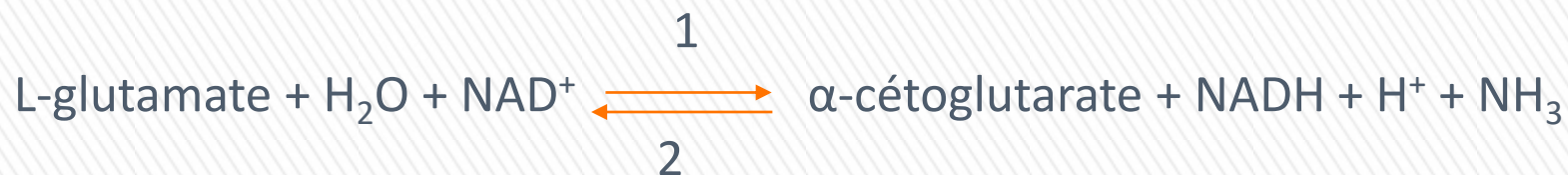
Voies de dégradation spécifiques au cours desquelles le groupement aminé est retiré :

- réaction de désamination oxydative:

Le L-glutamate (acide glutamique) qui résulte de la réaction de la transamination est désaminé par la **L-glutamate deshydrogénase**:
enzyme allostérique

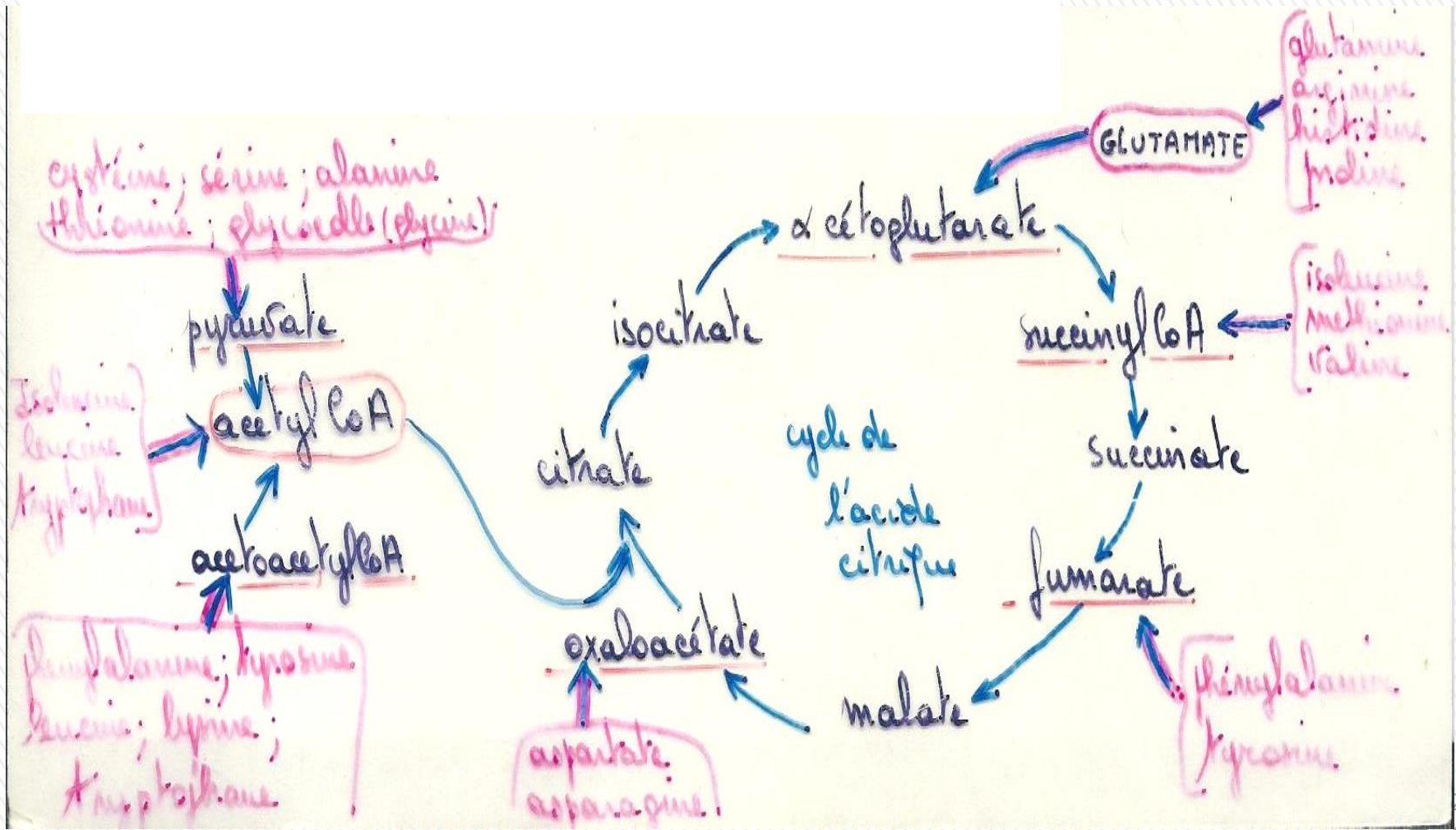
effecteurs + : ADP, GDP, *aldostérone*, *oestradiol*

effecteurs - : ATP, GTP, NADH, *cortisone*

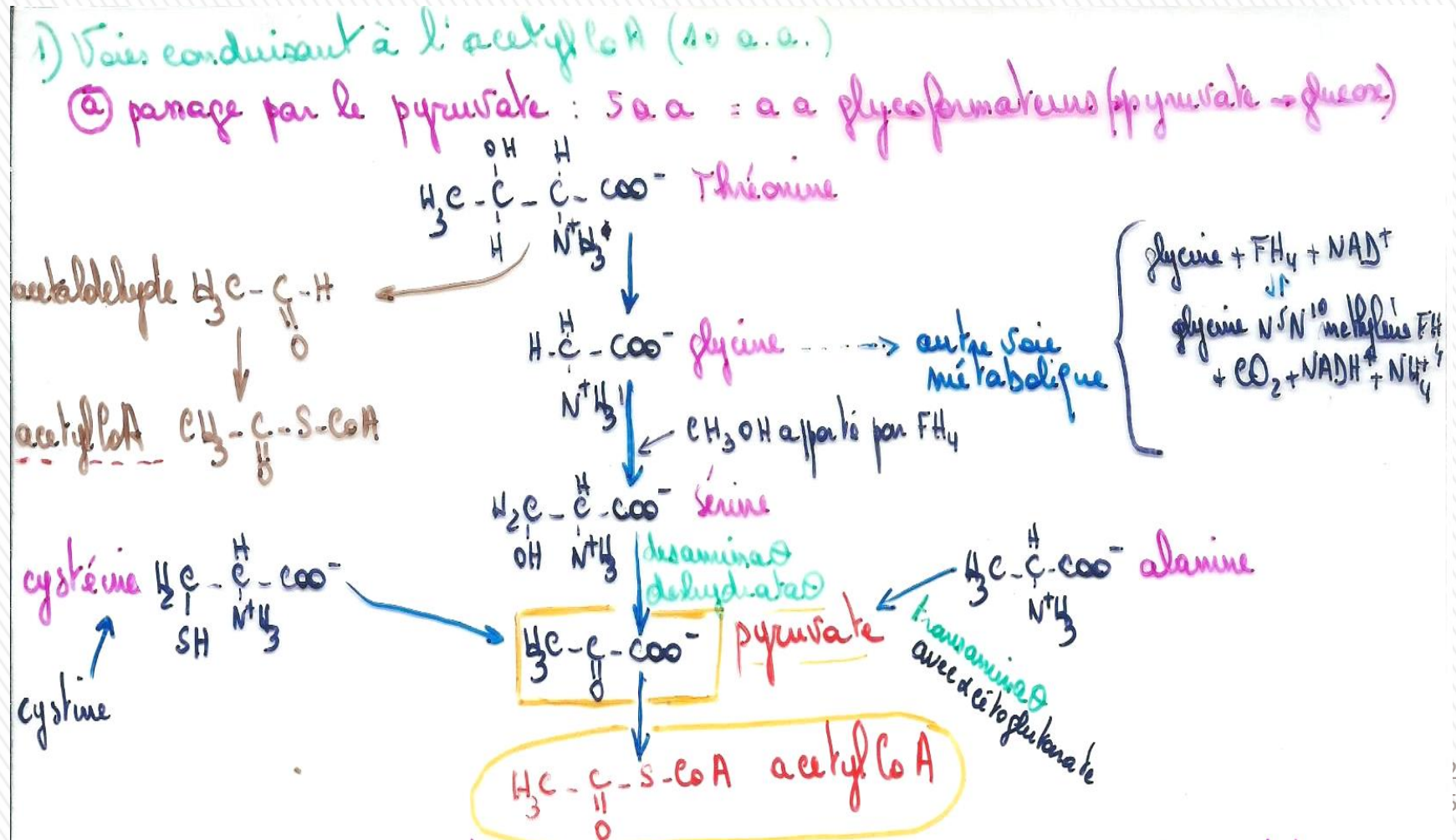


en fonction des besoins cellulaires, l'enzyme peut catalyser la réaction de désamination oxydative du L-glutamate (sens 1) ou la réaction d'amination réductrice de l' α -cétoglutarate (sens 2).

Rôles des acides aminés - dégradation

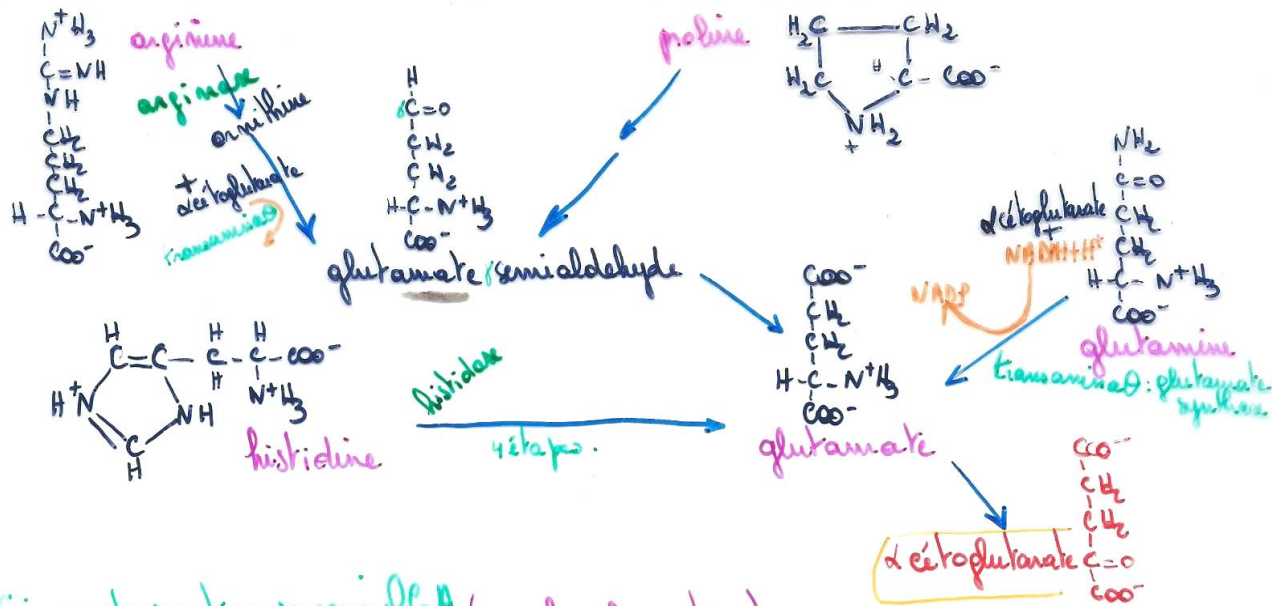


Rôles des acides aminés - dégradation

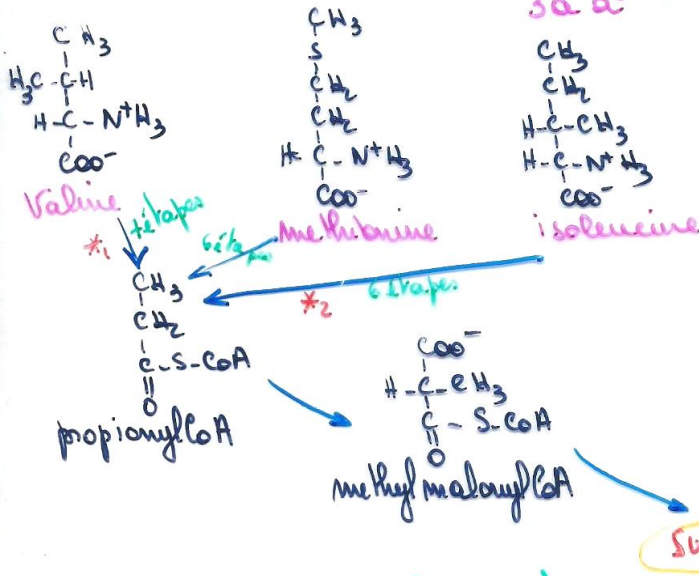


Rôles des acides aminés - dégradation

2) Voie conduisant à l' α cétoplutarate (a.a. glycoformateurs) 5 a.a.



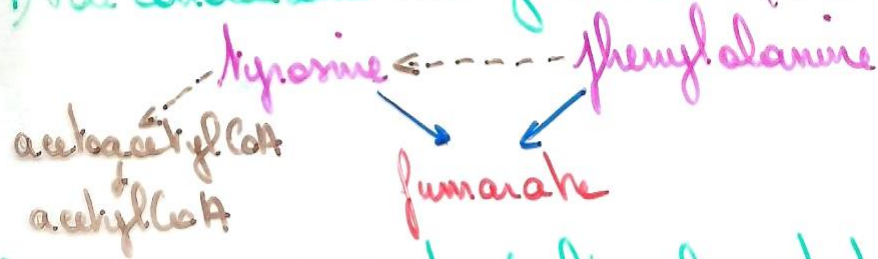
3) Voie conduisant au succinyl CoA (a.a. glycoformateurs) 3 a.a.



*1 *2 transamination suivie dicarboxylat oxydative par m.couplée avec α -cétonique déshydrogénase. altération génétique: leucineose, acéto. ac. α -cétoniques.

Rôles des acides aminés - dégradation

4) Voie conduisant au fumarate (a.a. glycoformateurs)



5) Voie conduisant à l'oxaloacétate (a.a. glycoformateurs)

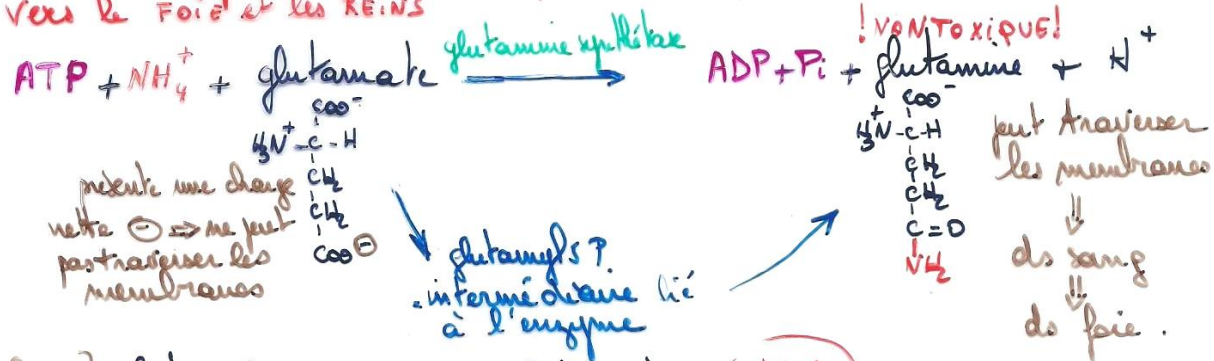


Rp: chez certains Nicotop
végétaux



Rôles des acides aminés - dégradation

* L'ammoniaque est toxique pour les animaux! Δ cerveau
 * La glutamine transporte l'ammoniaque de la plupart des tissus périphériques vers le Foie et les REINS



De la foie } glutamine + $H_2O \xrightarrow{\text{glutaminase}} \text{glutamate} + NH_4^+$
 De les reins }
 (au niveau des branchies)
 * L'alanine transporte l'ammoniaque des muscles au Foie grâce au cycle glucose-alanine
 sera transformé en urée ds foie ou éliminé ds urine " " au niveau des branchies



Le choix de l'alanine pour le transport de NH_3 à partir des muscles squelettiques en activité intense vers le foie = une autre ex. de politique éco. de l'org. vivant!
 Le pyruvate est produit en g. Q. ds muscle (glycolyse) $\Rightarrow$ doit retourner ds foie pour reconstruire le glucose sang. qui retournera au muscle.

Rôles des acides aminés - dégradation

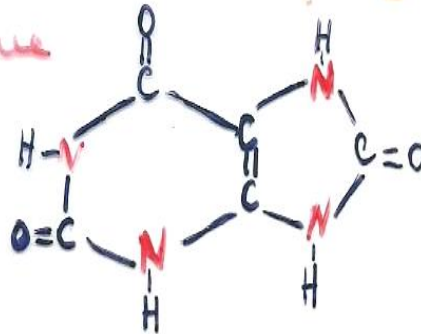
Les animaux sup. exercent l'azote

ss. forme d'urée (animaux terrestres) cf. ci. dessous et dessus

ss. forme d'ammoniaque (espèces aquatiques) cf. ci. dessous
éliminé par branchies (NH_3 soluble de eau)

ss. forme d'ac. urique

est un produit
du catabolisme
des bases puriques
des ac. nucléiques



N proviennent des groupes
l'aminés des a a

Rôles des acides aminés - dégradation