

# Chapitre 3

## Aspects énergétiques du métabolisme

code des diapositives

★ très important, à savoir avec précision

✿ important pour comprendre

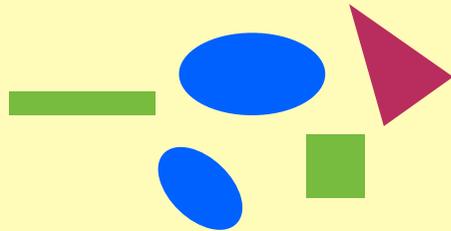
✂ pour approfondir, sinon à couper

# Introduction : métabolisme et énergie



Les biosynthèses nécessitent...

de la matière première



des instructions



ce chapitre

de l'énergie



des outils  
d'assemblages  
(enzymes)

des voies d'acheminement  
jusqu'au site d'action

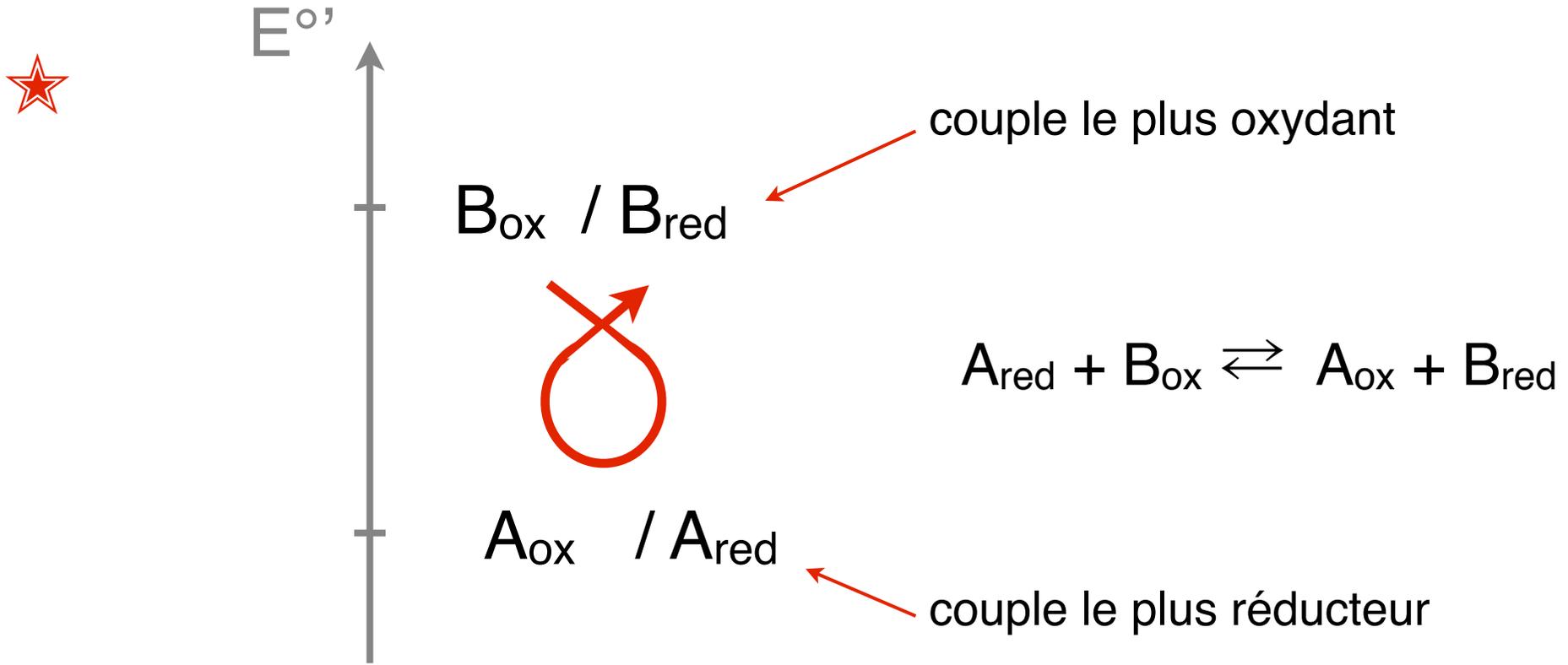
# **1. Les formes d'énergie de la cellule, des formes interconvertibles**

# Les formes d'énergie

**Énergie = capacité à développer une force**

Nature des forces	dans le contexte cellulaire
- chimique	molécules (propriétés chimiques et liaisons)
- osmotique	mouvement des ions
- électrique	mouvements des électrons
- thermique	négligé dans une cellule
- mécanique	déformations moléculaires

# Le potentiel d'oxydo-réduction



**Approximation admise dans la majorité des cas**

$$\Delta G_{A-B} = - n F (E^{\circ'}_B - E^{\circ'}_A) = - n F \Delta E^{\circ'}$$

En toute rigueur, il faut utiliser les  $E'$  issus de la relation de Nernst

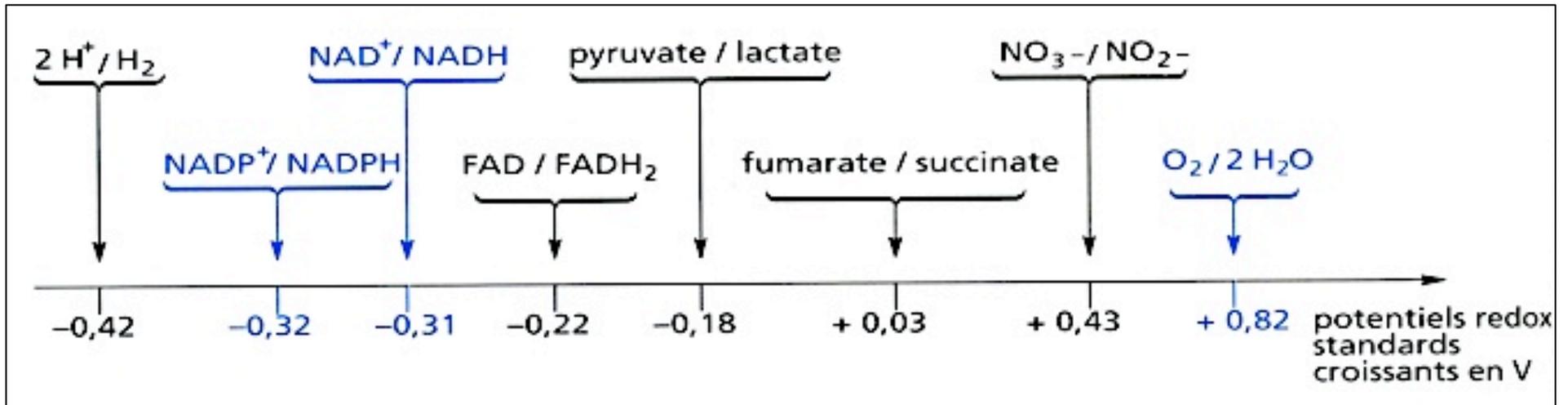
$$E' = E^{\circ'} + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[X_{\text{ox}}]}{[X_{\text{red}}]}$$

# Exemples de potentiel rédox

Forme oxydée	Forme réduite	E'° en mV
NAD <sup>+</sup>	NADH,H <sup>+</sup>	-320
NADP <sup>+</sup>	NADPH,H <sup>+</sup>	-320
3-phosphoglycérate	Glycéraldéhyde 3 phosphate	-550
O <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O	+ 820

$$\Delta G_{\text{NADH} \rightarrow \text{O}_2} = - 2 F (0,820 + 0,320) = -2 \times 96500 \times 1,140 = - 220 \text{ k J.mol}^{-1}$$

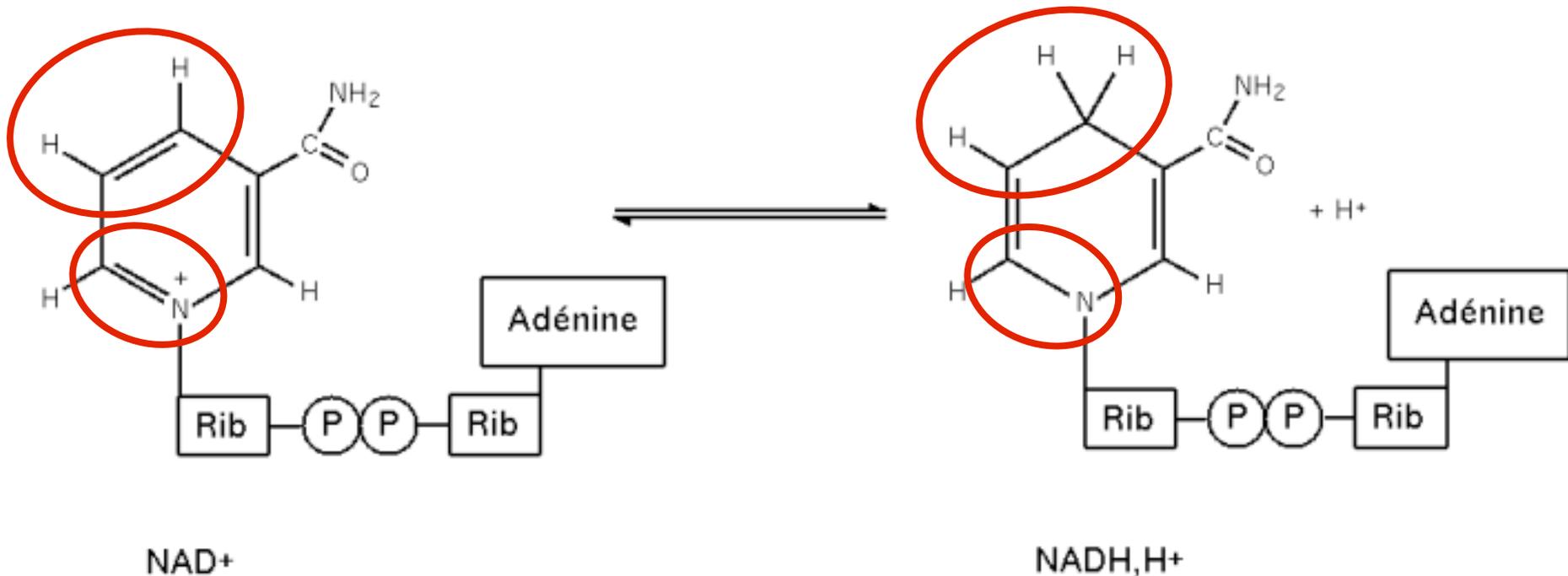
=> Le passage des électrons de NADH,H<sup>+</sup> vers O<sub>2</sub> est exergonique



# Les transporteurs d'électrons (1)

- **Des molécules solubles = coenzymes**

NAD : nicotinamide - adénine - dinucléotide, issu de la vitamine B3



Autres transporteurs : NADP<sup>+</sup>, FAD

# Rappel : cofacteur et coenzyme



Cofacteur = substance chimique liée à une protéine (enzyme ou autre) et nécessaire à l'activité de celle-ci.

Il y a deux types de cofacteurs :

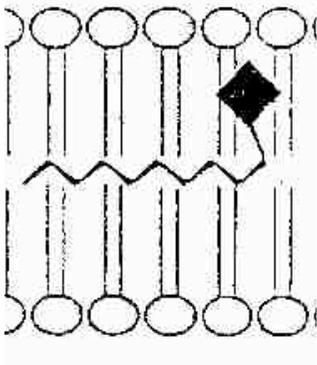
- ion métallique
- coenzyme

Le coenzyme est une molécule organique qui constitue un complexe stable avec l'enzyme, et nécessaire à son activité. Certains coenzymes sont faiblement liés (ATP, NAD<sup>+</sup>,...) alors que d'autres sont fortement liés (hème, noyau porphyrrique)

# Les transporteurs d'électrons (2)

## ★ • Des transporteurs membranaires (quelques exemples)

- transporteurs d'électrons + protons



**ubiquinone : transporteur membranaire mobile**

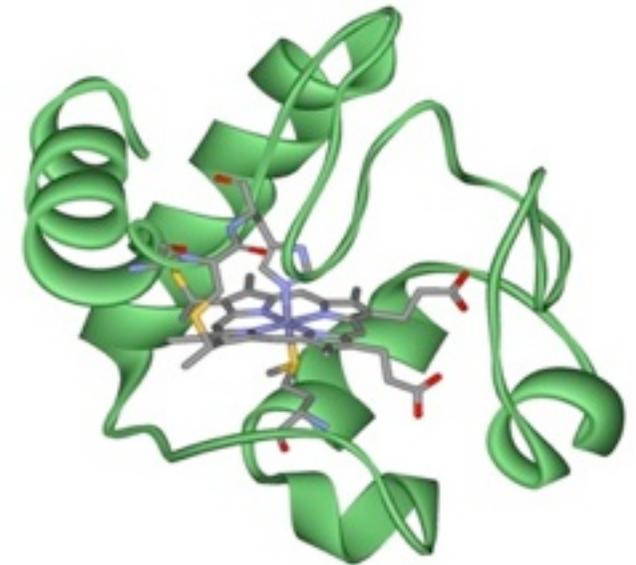


- transporteurs d'électrons seuls

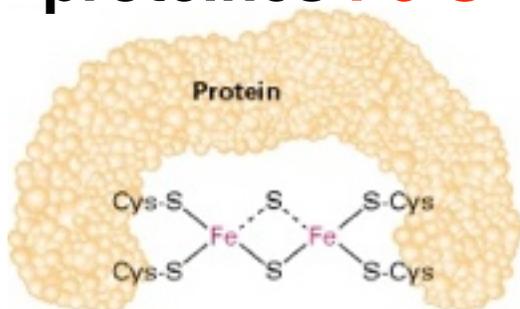
**Métalloprotéines**

- cytochromes a et b à **Fe<sup>2+</sup> héminique**

- protéines **Fe-S**



cytochrome

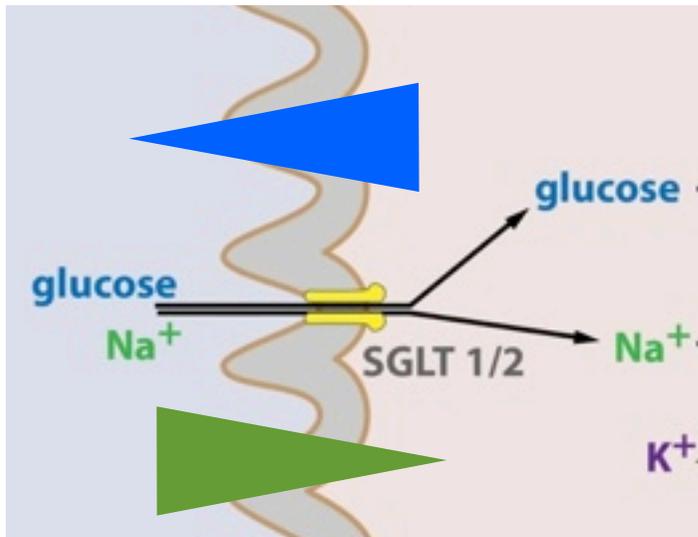


protéine Fe-S

# Le potentiel osmotique, une énergie potentielle

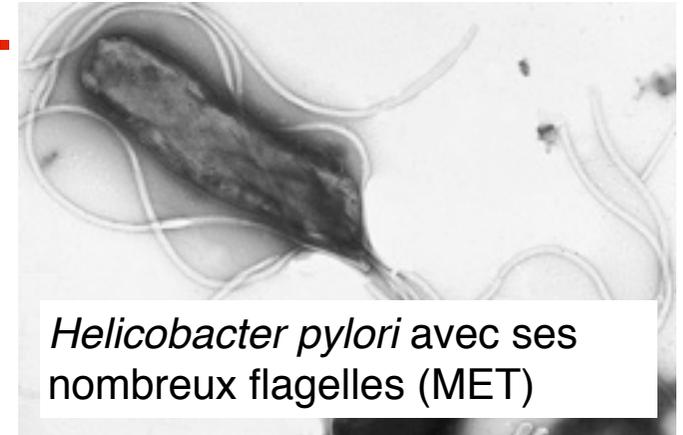


Les cotransports : utiliser le mouvement d'un ion pour motoriser un autre transport

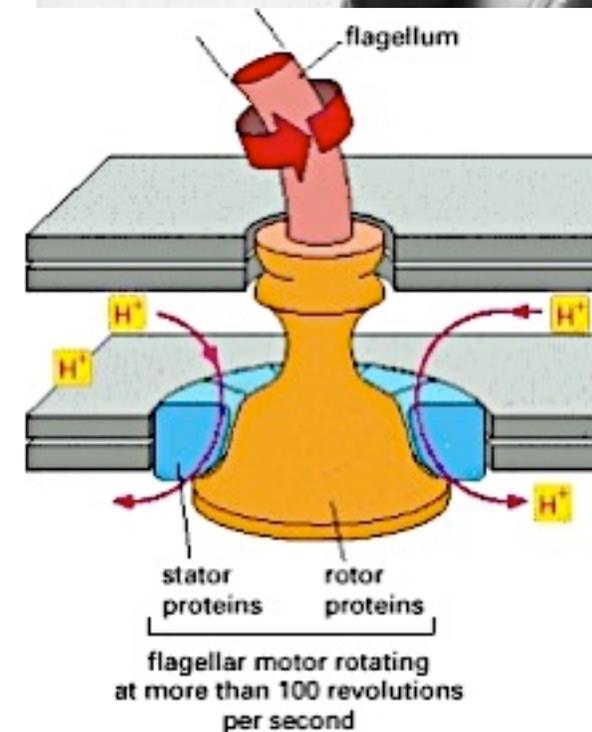


+ ATP synthase

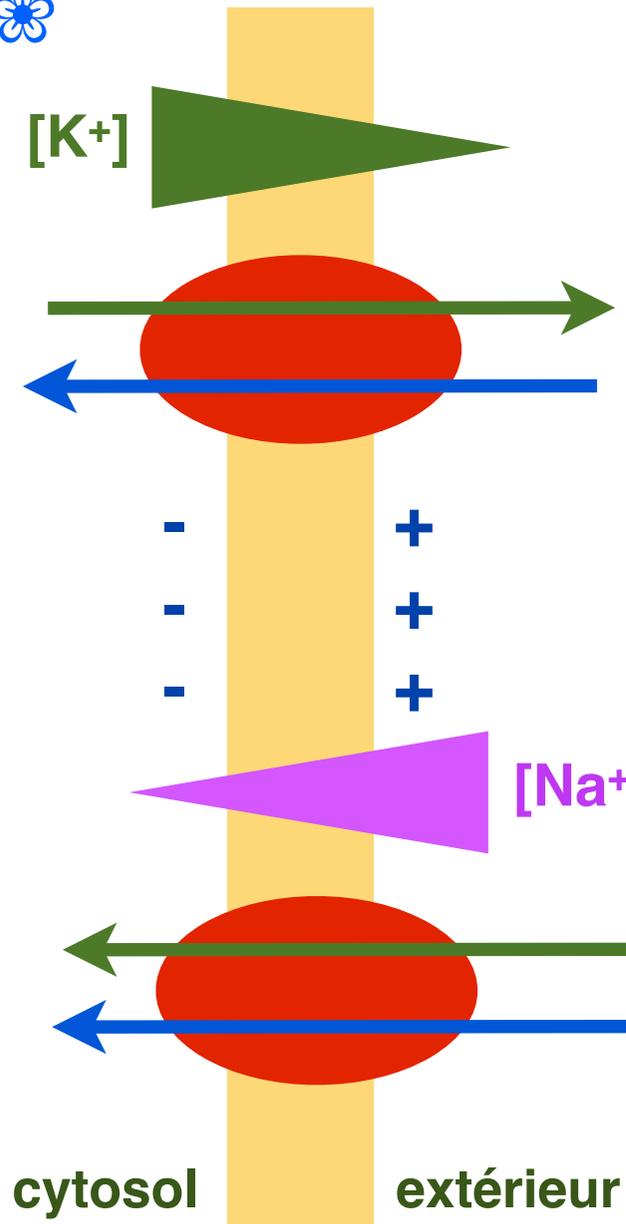
La rotation du flagelle bactérien est entraînée par un flux de protons.



*Helicobacter pylori* avec ses nombreux flagelles (MET)



# Rappel : la force ion-motrice



composante chimique :  
différence de concentration

composante électrique :  
différence de charges

L'ensemble des 2 composantes  
est la force «ion-motrice»

$$\Delta G_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = RT \ln \frac{[\text{ext}]}{[\text{int}]} - z \mathcal{F} \text{ ddp}$$

ddp = différence de potentiel  
membranaire =  $E_{\text{int}} - E_{\text{ext}}$

# Rappel : la force ion-motrice



concentration en mM	intracellulaire	extracellulaire
Na <sup>+</sup>	10	140
K <sup>+</sup>	140	5
Ca <sup>2+</sup>	10 <sup>-3</sup>	5
Cl <sup>-</sup>	14	147

Calculez  $\Delta G_{\text{int} \rightarrow \text{ext}}$  pour l'ion Na<sup>+</sup> dans une cellule de potentiel de repos égal à -60 mV. Conclure.

$$\Delta G_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = RT \ln \frac{[\text{ext}]}{[\text{int}]} - z F \text{ ddp}$$

$$R = 8,31 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1} ; T = 298 \text{ K et } F = 96500 \text{ C.}$$

# Rappel : la force ion-motrice



concentration en mM	intracellulaire	extracellulaire
Na <sup>+</sup>	10	140

Calculez  $\Delta G_{\text{int} \rightarrow \text{ext}}$  pour l'ion Na<sup>+</sup> dans une cellule de potentiel de repos égal à -60 mV. Conclure.

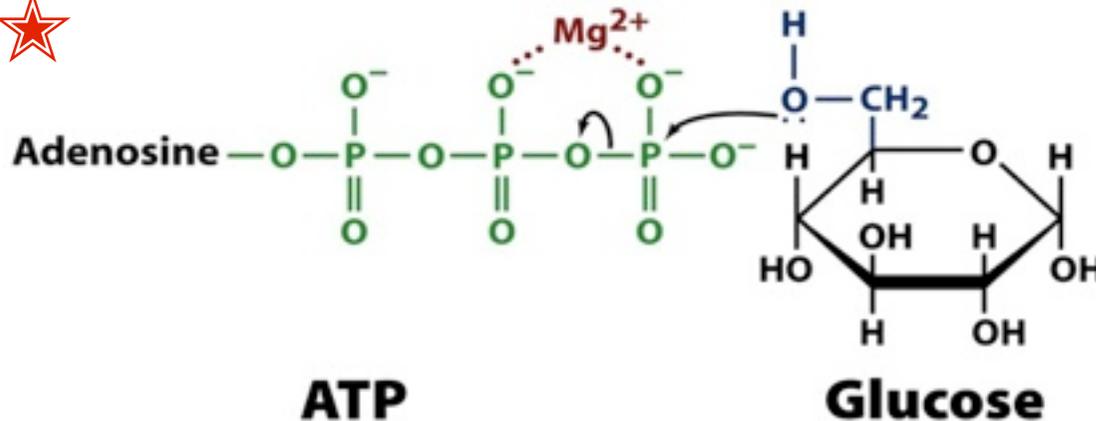
$$\Delta G_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = RT \ln \frac{[\text{ext}]}{[\text{int}]} - z F \text{ ddp}$$

$$\Delta G_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = 8,31 \times 298 \times \ln (140/10) - 1 \times 96500 \times (-60 \cdot 10^{-3})$$

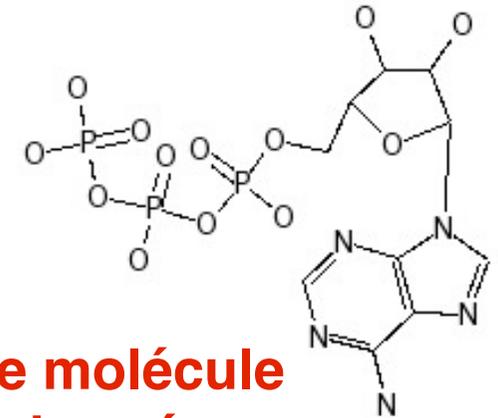
$$\Delta G_{\text{int} \rightarrow \text{ext}} = 12,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$$

donc  $\Delta G_{\text{ext} \rightarrow \text{int}} = -12,3 \text{ kJ.mol}^{-1}$  ce qui signifie que l'entrée de Na<sup>+</sup> dans la cellule est une source énergétique importante : elle permet par exemple l'entrée de glucose dans la cellule contre le gradient.

# Le potentiel chimique : l'ATP

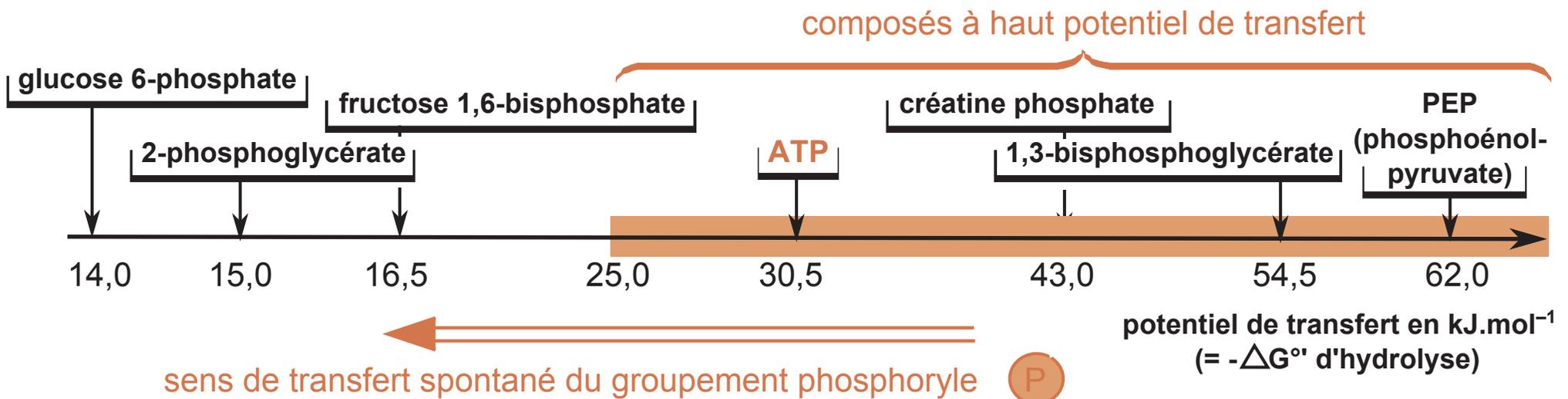


© 2008 John Wiley & Sons, Inc. All rights reserved.



**ATP : petite molécule  
coudée et chargée**

## ATP : molécule à potentiel énergétique intermédiaire



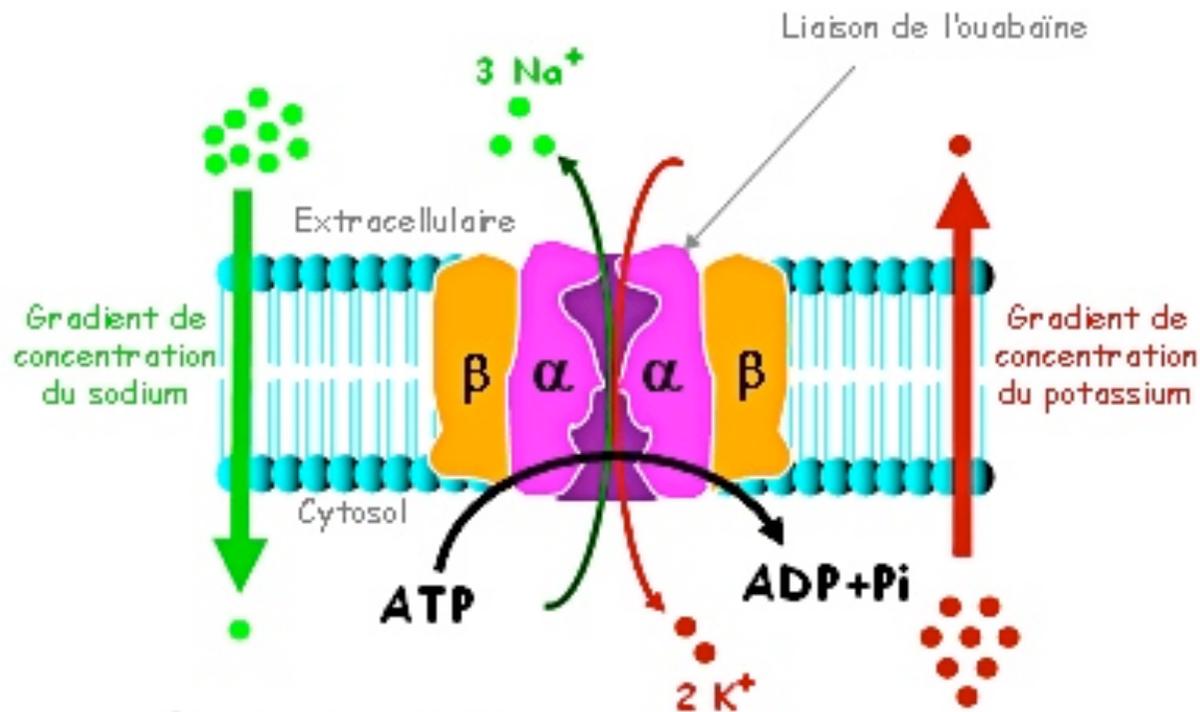
# Des formes d'énergie interconvertibles (1)



## Exemple 1

### De l'ATP au potentiel ionique couplage chimio-osmotique

#### FONCTIONNEMENT DE LA POMPE $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ATPase



© M. Gilbert pour FacBio

# Des formes d'énergie interconvertibles (2)



## Exemple 2 : de l'ATP au potentiel rédox

3-PG / GAP

- 550 mV

NADP<sup>+</sup> / NADPH, H<sup>+</sup>

- 320 mV

1-3 DPG / GAP

- 290 mV



Synthèse de GAP par réduction du 3-PG à partir du NADPH, H<sup>+</sup>

$\Delta E = - 550 - (- 320) = - 230 \text{ mV} \rightarrow$  Réaction défavorable

Avec une étape supplémentaire : phosphorylation du 3-PG en 1-3 DPG grâce à l'hydrolyse d'un ATP. Le 1-3 DPG a un potentiel de -290 mV.

Synthèse de GAP par réduction du 1-3-DPG à partir du NADPH, H<sup>+</sup>

$\Delta E = - 290 - (- 320) = + 30 \text{ mV} \rightarrow$  Réaction favorable

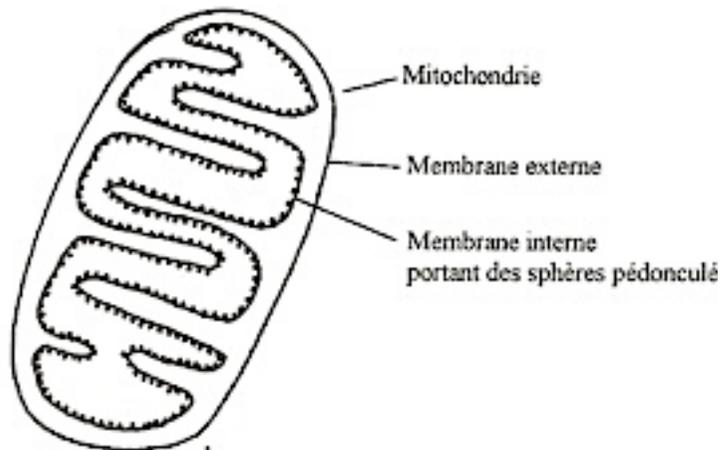
L'énergie chimique de l'ATP a rendu possible une réaction redox.

# Des formes d'énergie interconvertibles (3)

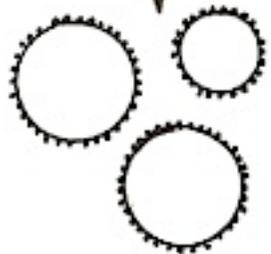


## Exemple 3

### Du potentiel osmotique à l'ATP couplage osmo-chimique

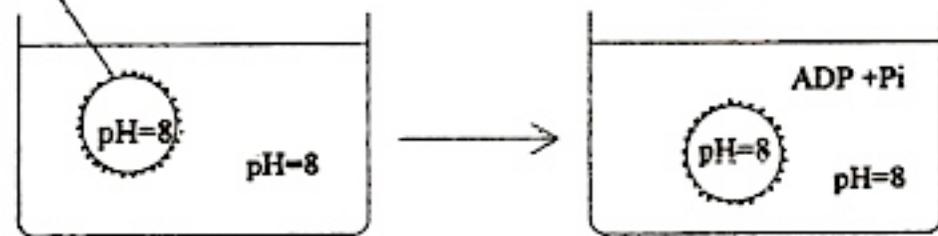


Fragmentation par ultrasons

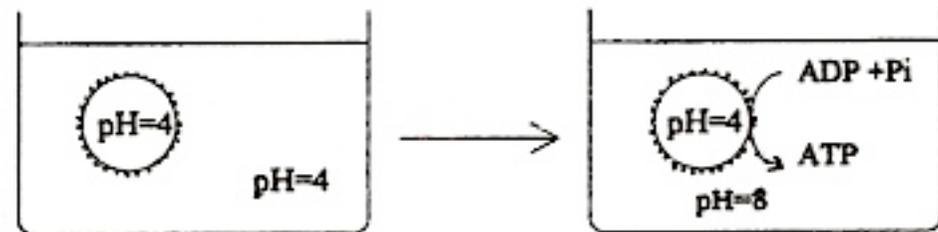


Particules submitochondriales  
= vésicules de membrane interne

Particule submitochondriale



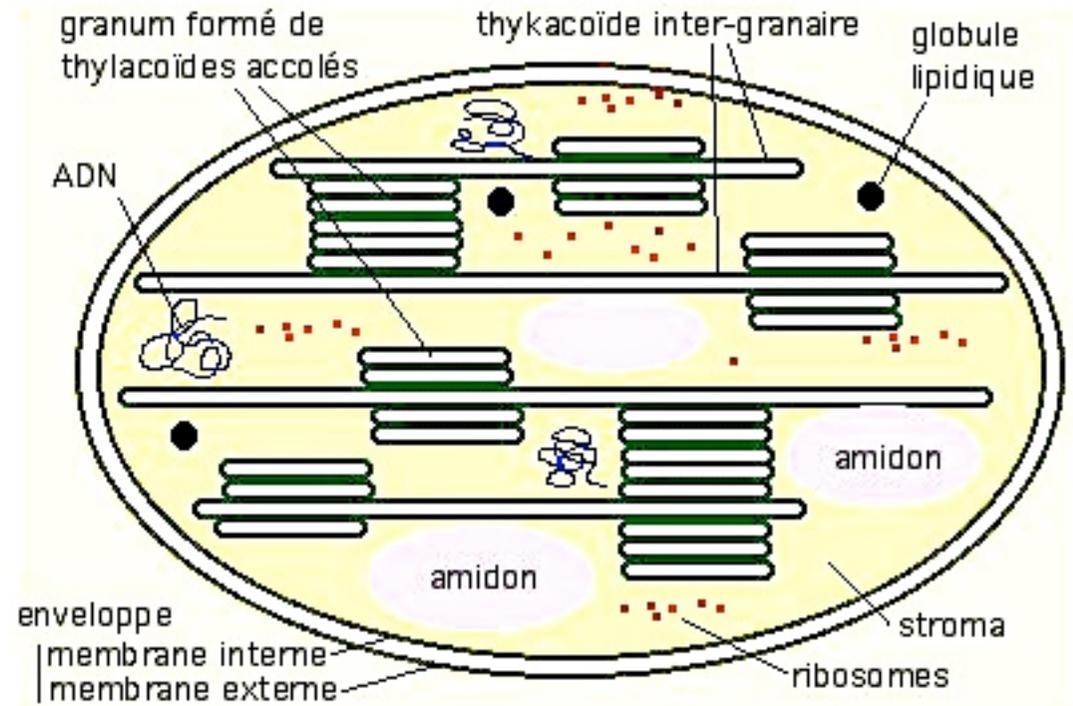
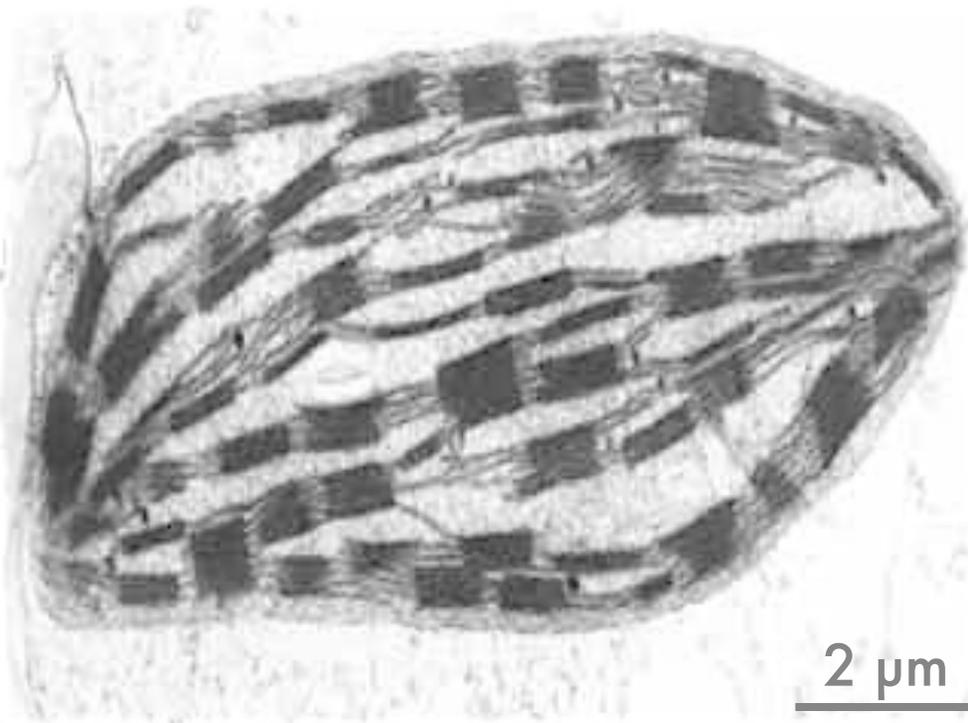
a/ Lorsque le pH de la vésicule interne est égal ou supérieure à celui du milieu extravésiculaire il n'y a pas formation d'ATP



b/ Lorsque le pH de la vésicule interne est inférieur à celui du milieu extravésiculaire on constate la synthèse d'ATP

## **2. La lumière, source énergétique initiale**

# Le chloroplaste



© Biologie et Multimédia - R. Prat

# Expérience de Hill



fort éclaircissement

fort éclaircissement

atmosphère sans O<sub>2</sub>

chloroplaste

oxalate ferrique Fe<sup>3+</sup>

molécule d'Hb sous forme déoxy

molécule d'Hb sous forme oxy

**Hb devient rouge clair**  
**Fe<sup>3+</sup> devient Fe<sup>2+</sup>**

**Hb reste rouge sombre**

La lecture au spectroscope permettra de détecter le moindre changement de couleur de l'hémoglobine, c'est-à-dire le moindre dégagement de dioxygène.

# Expérience de Ruben et Kamen (1941)

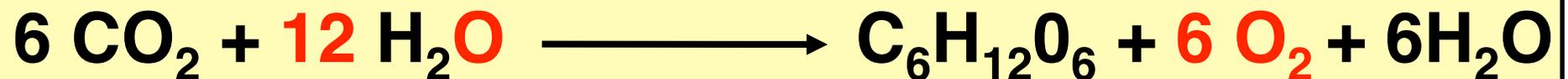


## Culture de chlorelles en présence de lumière :

- avec du  $\text{C}^{18}\text{O}_2$  et  $\text{H}_2^{16}\text{O}$   $\Rightarrow$   $\text{O}_2$  dégagé contient  $^{16}\text{O}$

ou

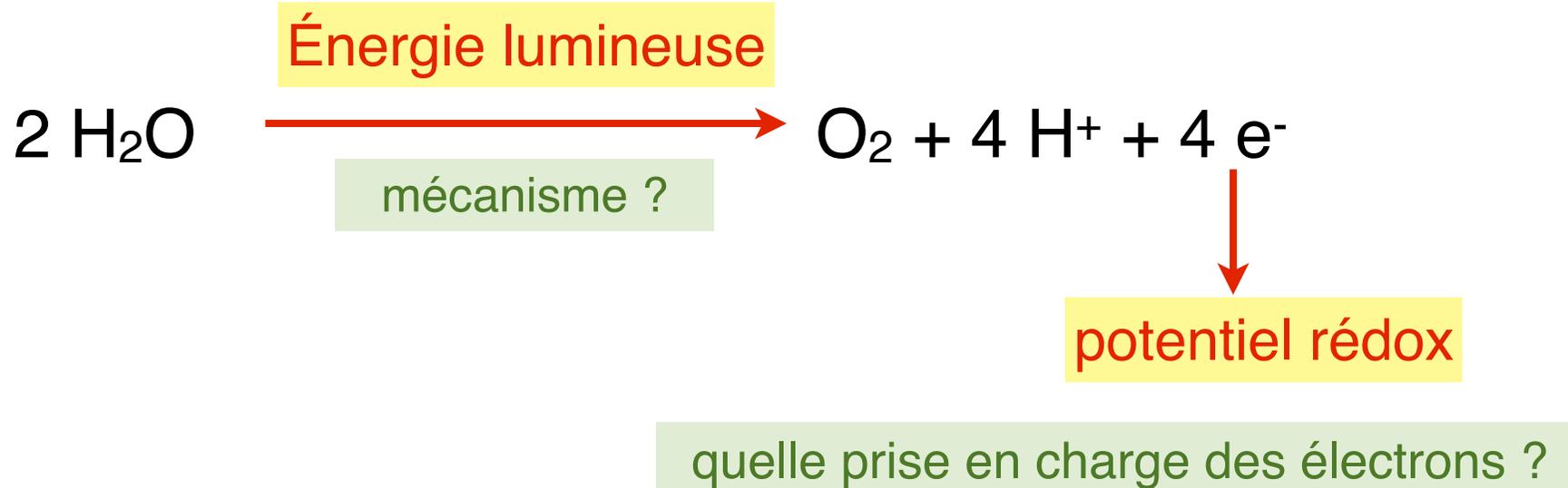
- avec du  $\text{C}^{16}\text{O}_2$  et  $\text{H}_2^{18}\text{O}$   $\Rightarrow$   $\text{O}_2$  dégagé contient  $^{18}\text{O}$



# Bilan des expériences de Hill et Ruben/Kamen



La lumière provoque l'oxydation de l'eau par la réaction redox



# Analyse biochimique de la membrane des thylakoïdes

cardiolipides

galactolipides

phospholipides

⇒ **forte imperméabilité aux ions**



grande richesse en acides gras insaturés ⇒ **importante fluidité membranaire**

richesse en pigments ⇒ **capacité à réagir avec la lumière**

richesse en protéines groupées en 3 ensembles :

~ complexes protéines-pigments (photosystèmes)

~ transporteurs d'électrons (PC, cytochromes)

~ transporteurs de protons + électrons (PQ)

~ ATP synthases.

⇒ **capacité à  
convertir de l'énergie**

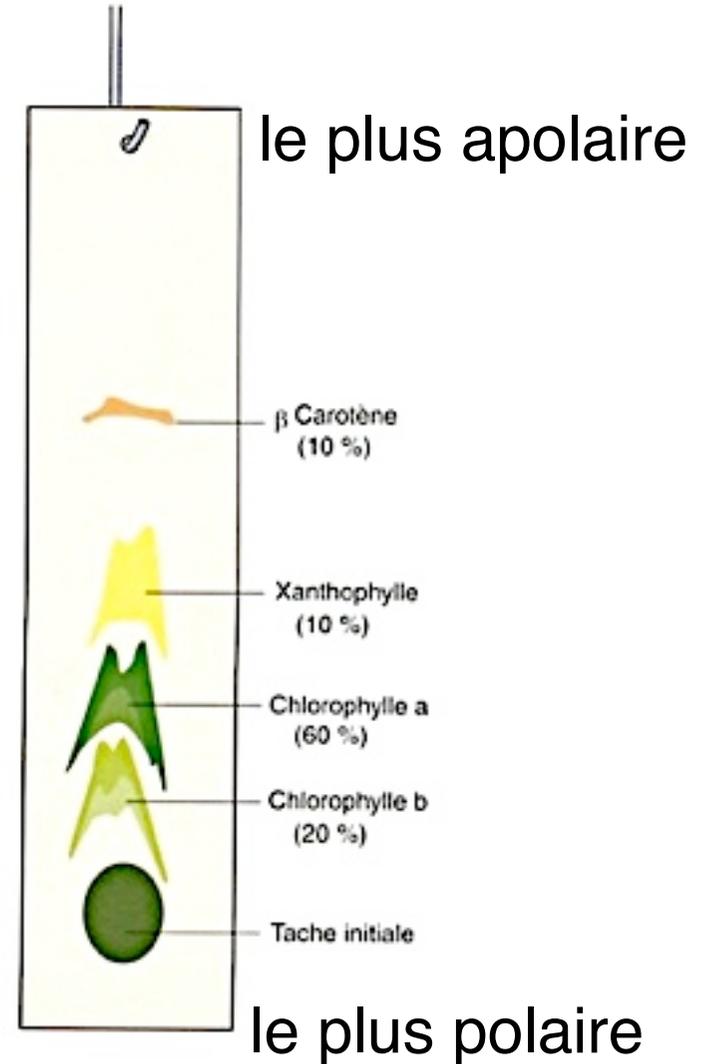
# Les pigments : chromatographie



Chromatographie sur nitrocellulose dans un solvant organique apolaire



Résultats et interprétation.



# Les pigments photosynthétiques

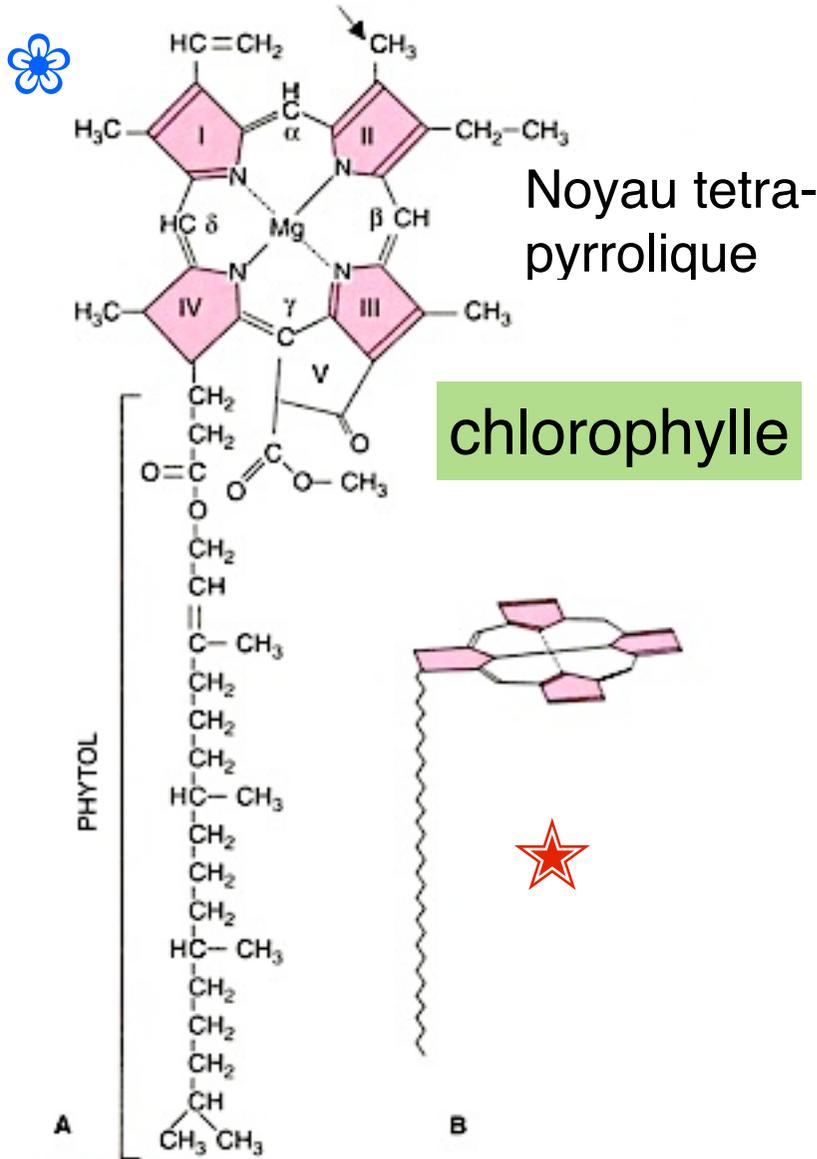
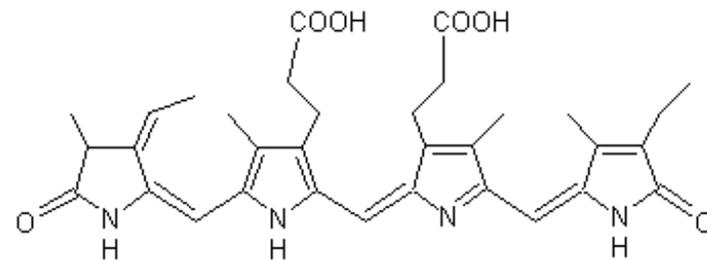
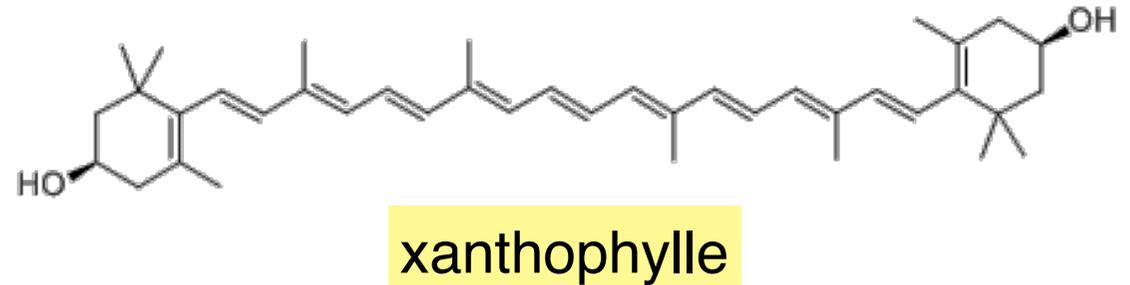
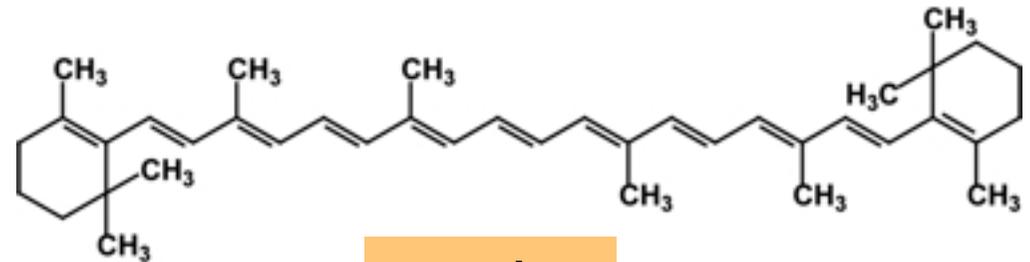


Fig. VIII-30: Chlorophylle a.

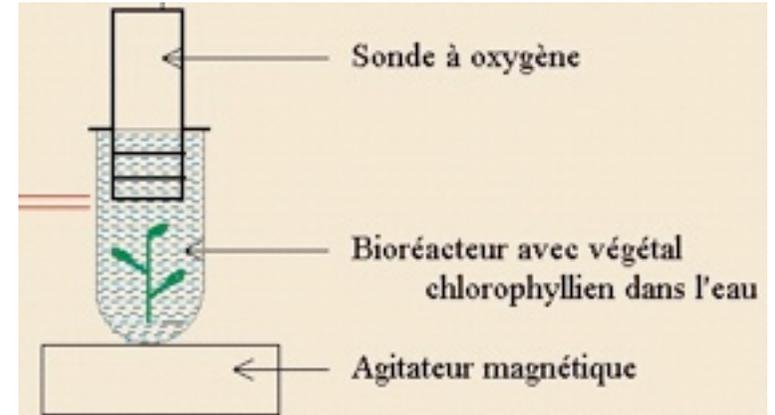
A) Formule.

B) Orientation de la queue phytol par rapport au plan des noyaux pyrrole.

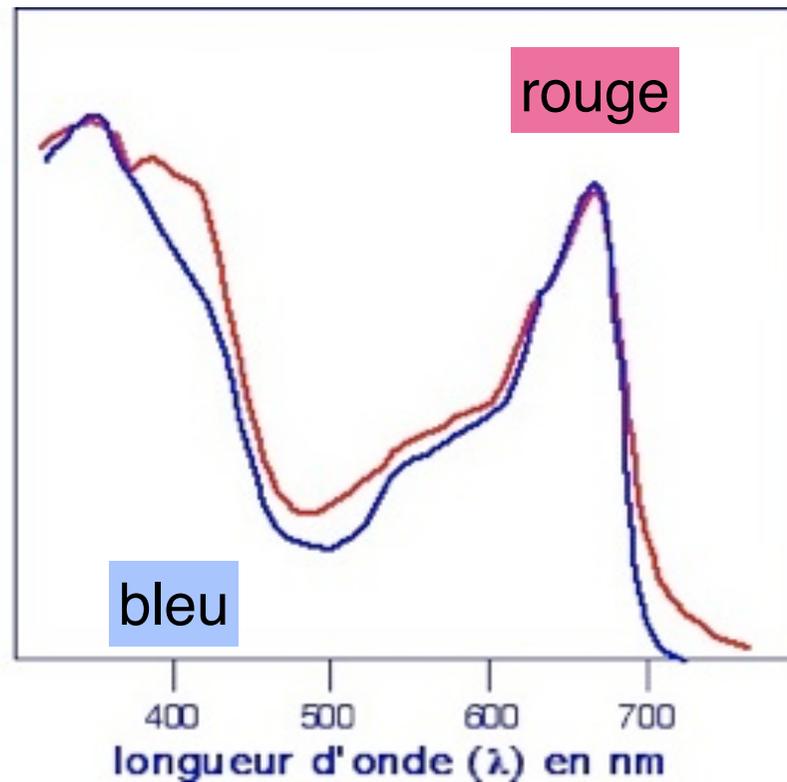
## caroténoïdes



# Spectre d'action photosynthétique



**Activité photosynthétique (UA)  
fraction chloroplastique**



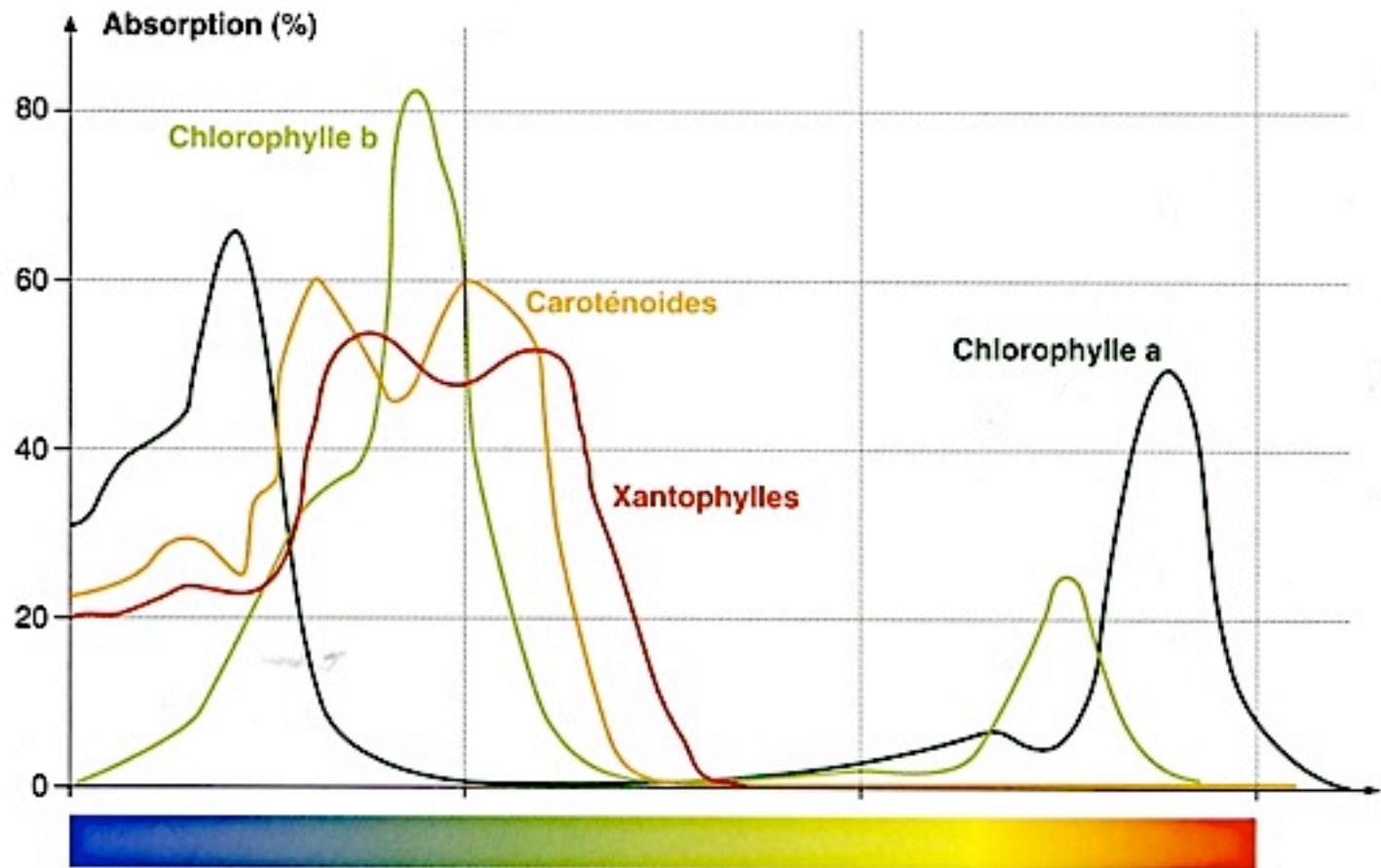
**activité photosynthétique (U.A.)  
végétal entier**

# Spectre d'absorption

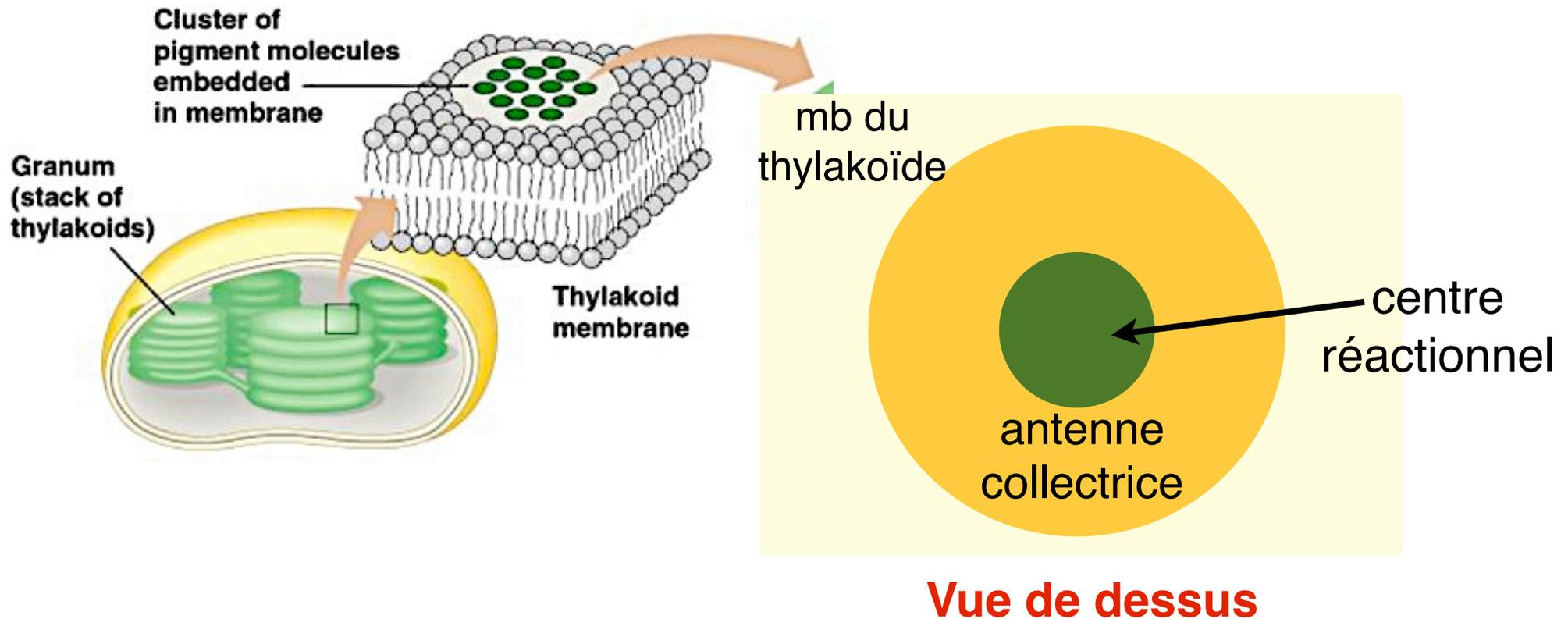


L'utilisation d'un spectrophotomètre permet d'obtenir, pour chaque pigment foliaire isolé, un **spectre d'absorption** par chromatographie.

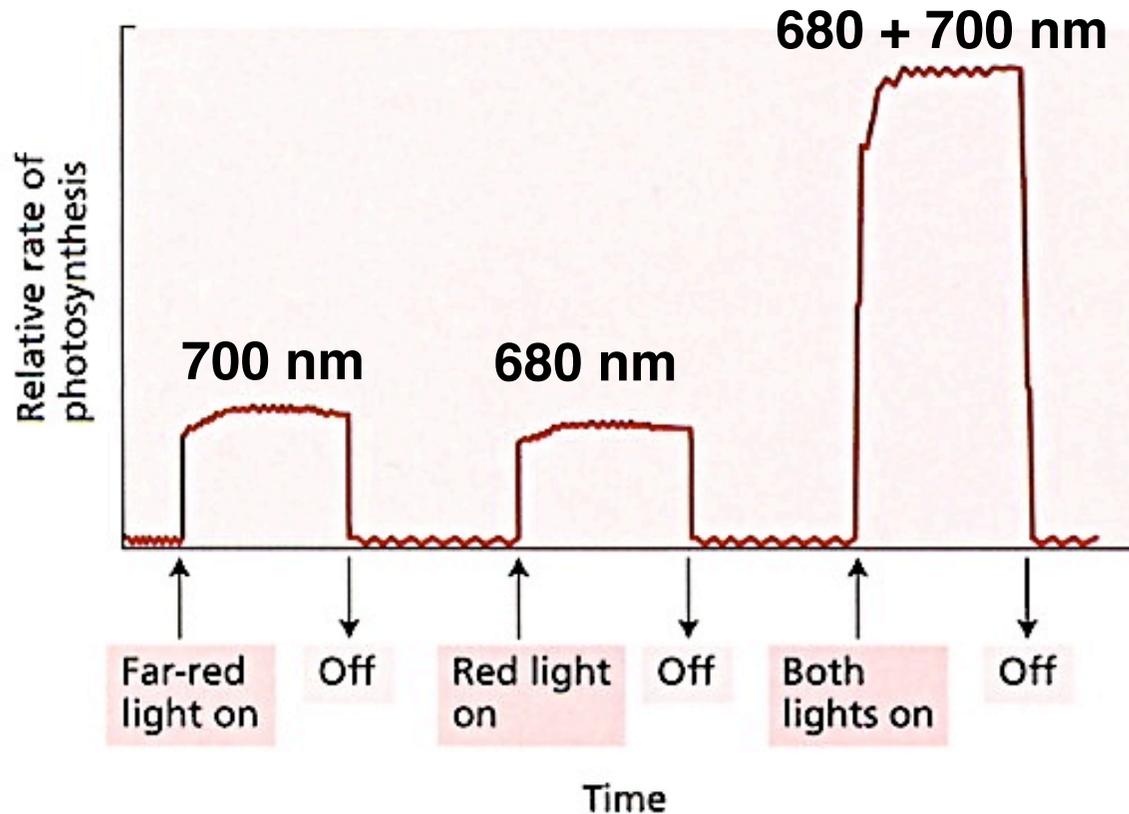
**Spectres d'absorption** des différents pigments photosynthétiques.



# Les photosystèmes

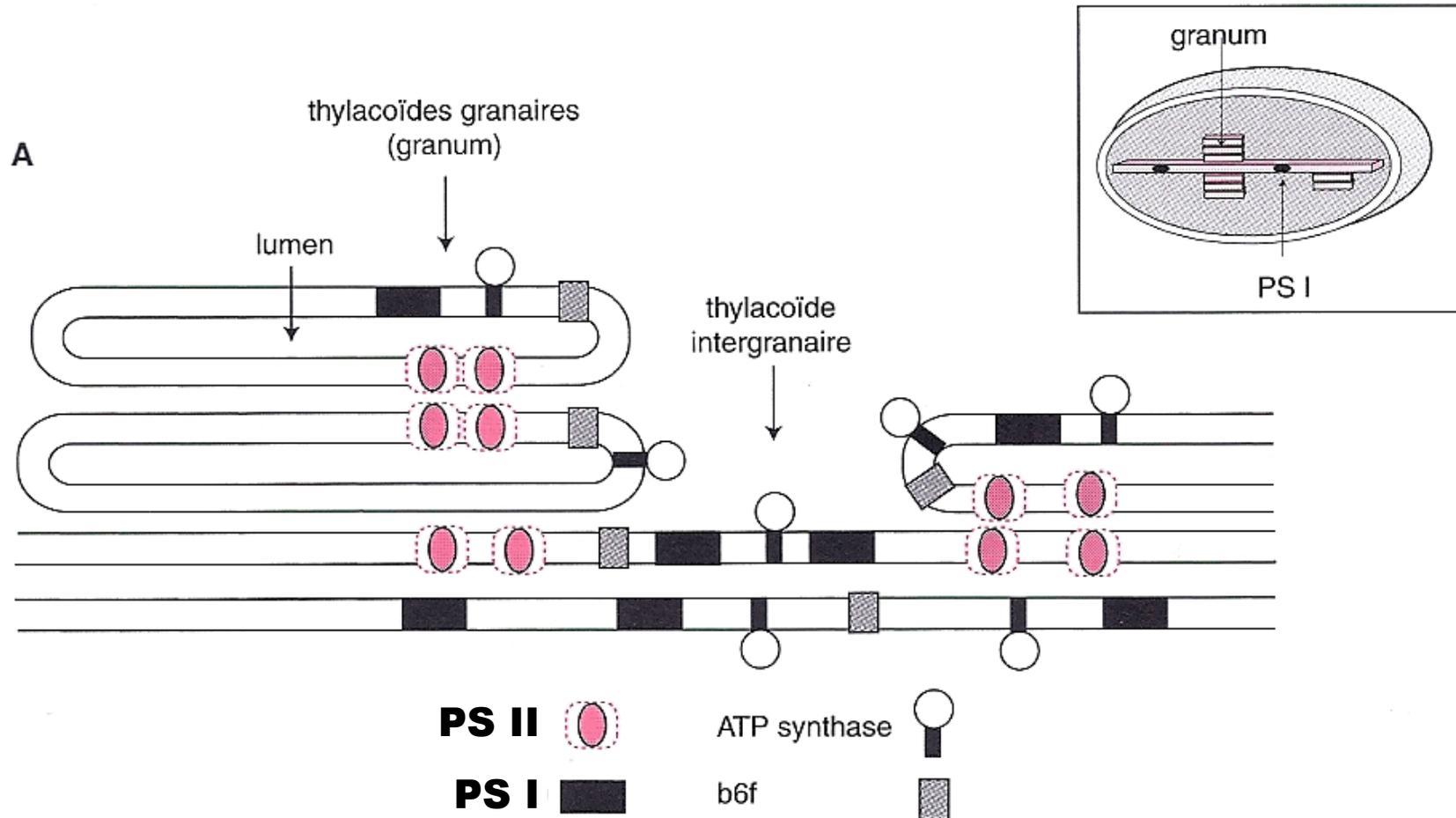


# Effet Emerson



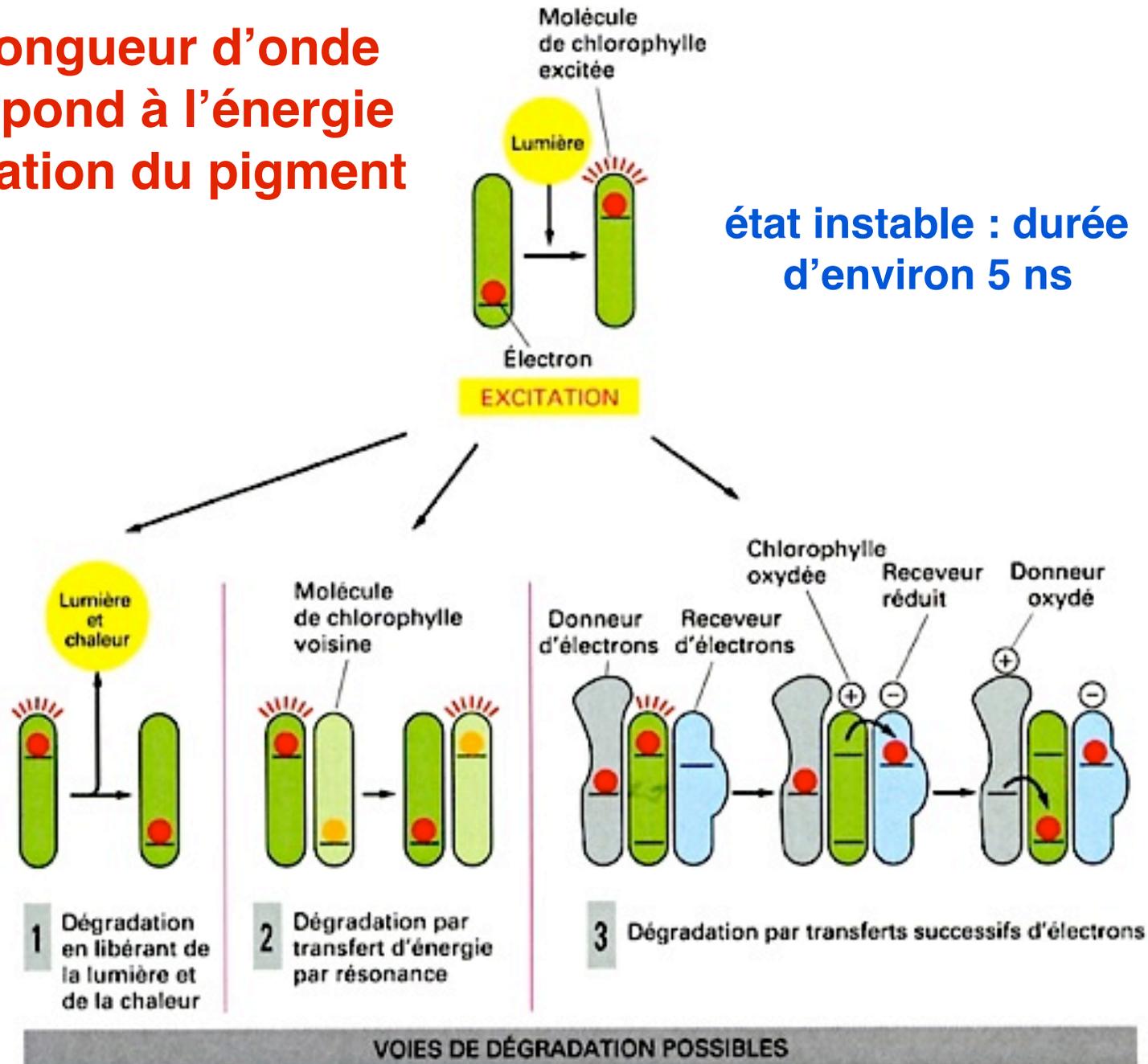
**FIGURE 7.13** Enhancement effect. The rate of photosynthesis when red and far-red light are given together is greater than the sum of the rates when they are given apart. The enhancement effect provided essential evidence in favor of the concept that photosynthesis is carried out by two photochemical systems working in tandem but with slightly different wavelength optima.

# Localisation des photosystèmes



# Effet d'un photon sur un pigment

- ❁ Si la longueur d'onde correspond à l'énergie d'activation du pigment



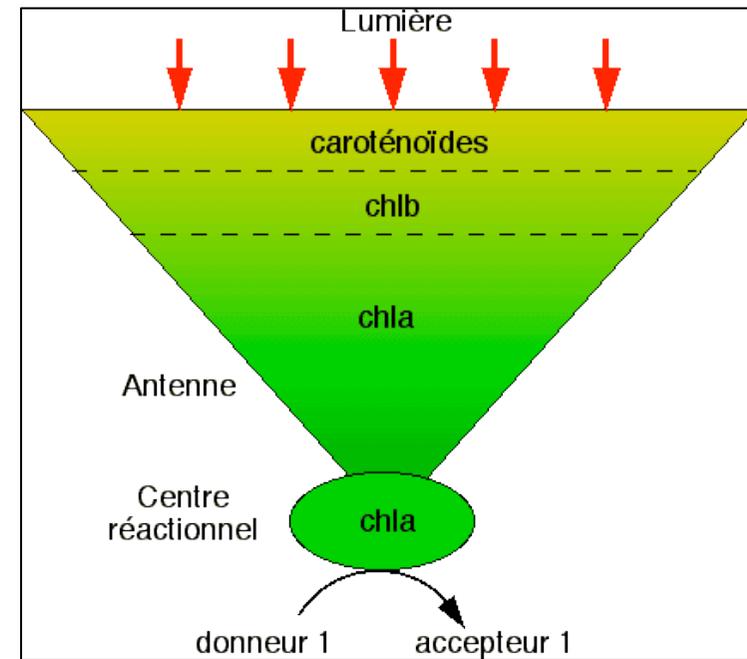
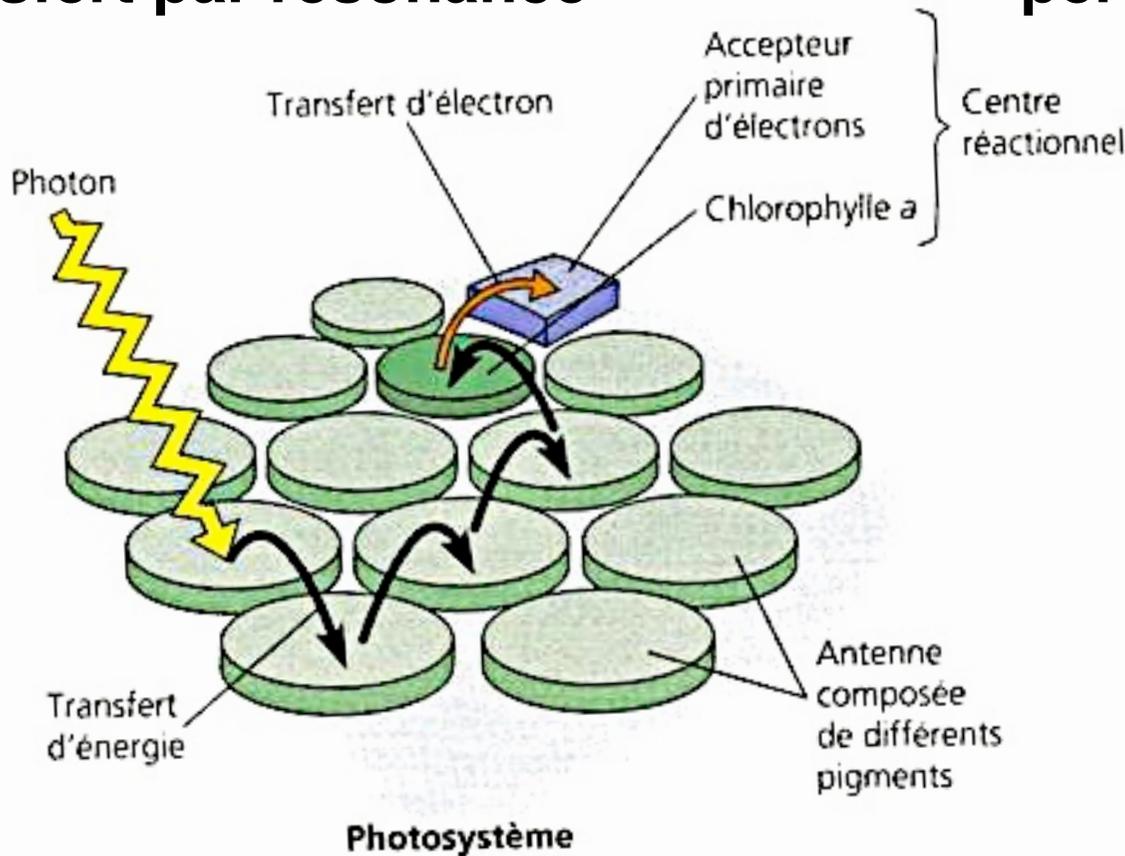
état instable : durée d'environ 5 ns

# Au sein du photosystème



**Dans l'antenne collectrice**  
transfert par résonance

**Dans le centre réactionnel**  
perte de l'électron



analogie à un entonnoir

**Énergie lumineuse**



**perte d'électron**

# Valeurs des $E'^{\circ}$ des composants de la membrane des thylakoïdes

Couple redox	$E'^{\circ}$ (V)
$O_2 / H_2O$	+ 0,82
$P_{680} / P_{680}^+$	+ 0,9
$P_{680}^* / P_{680}$	- 0,8
Q (red/ox)	- 0,2
PQ (red/ox)	0
cytochrome $b_6-f$ (red/ox)	- 0,2 et + 0,2
$P_{700} / P_{700}^+$	+ 0,4
$P_{700}^* / P_{700}$	-1,3
Fd (red/ox )	- 0,42
$NADP^+ / NADPH$	-0,32



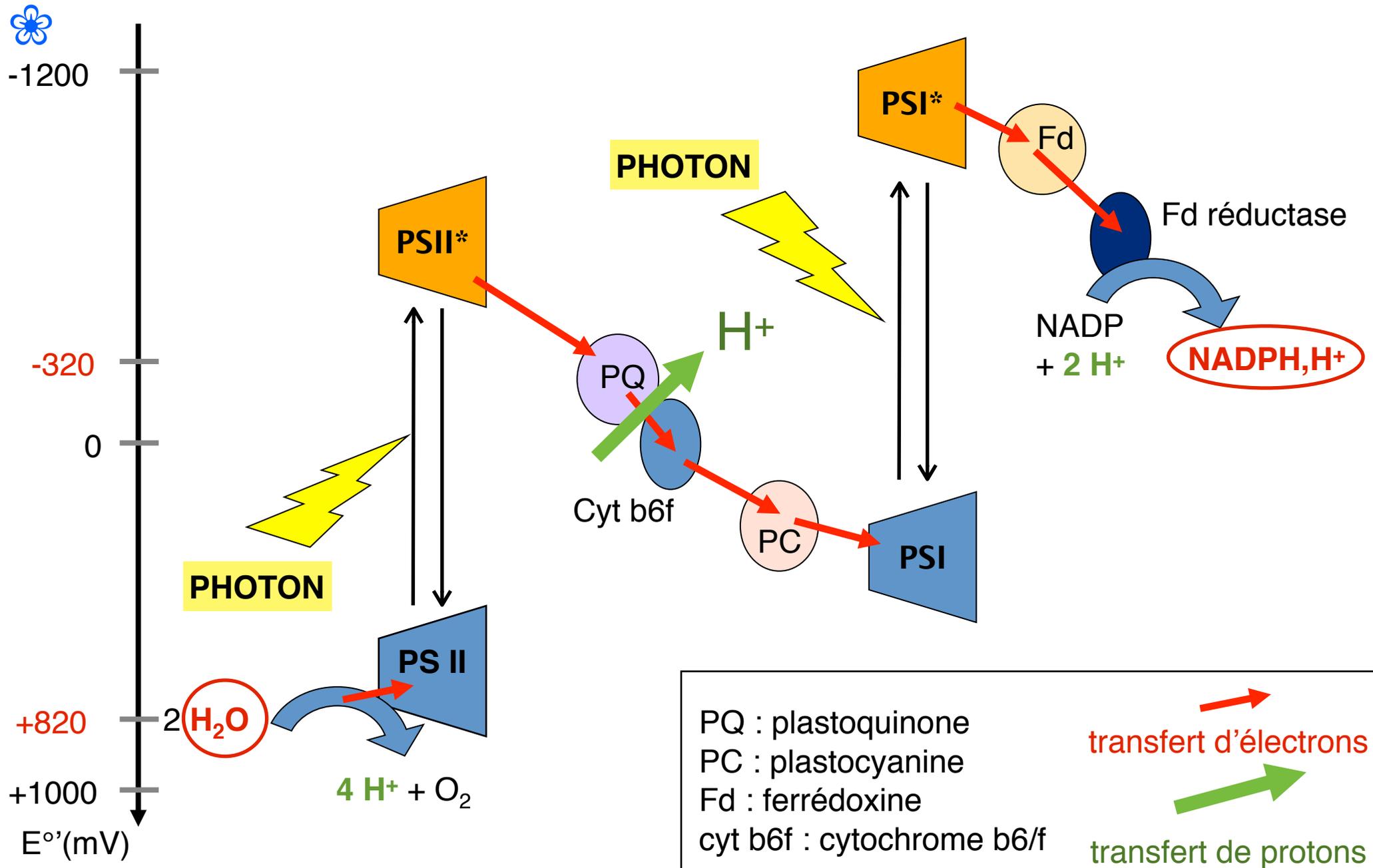
donneur d'électron



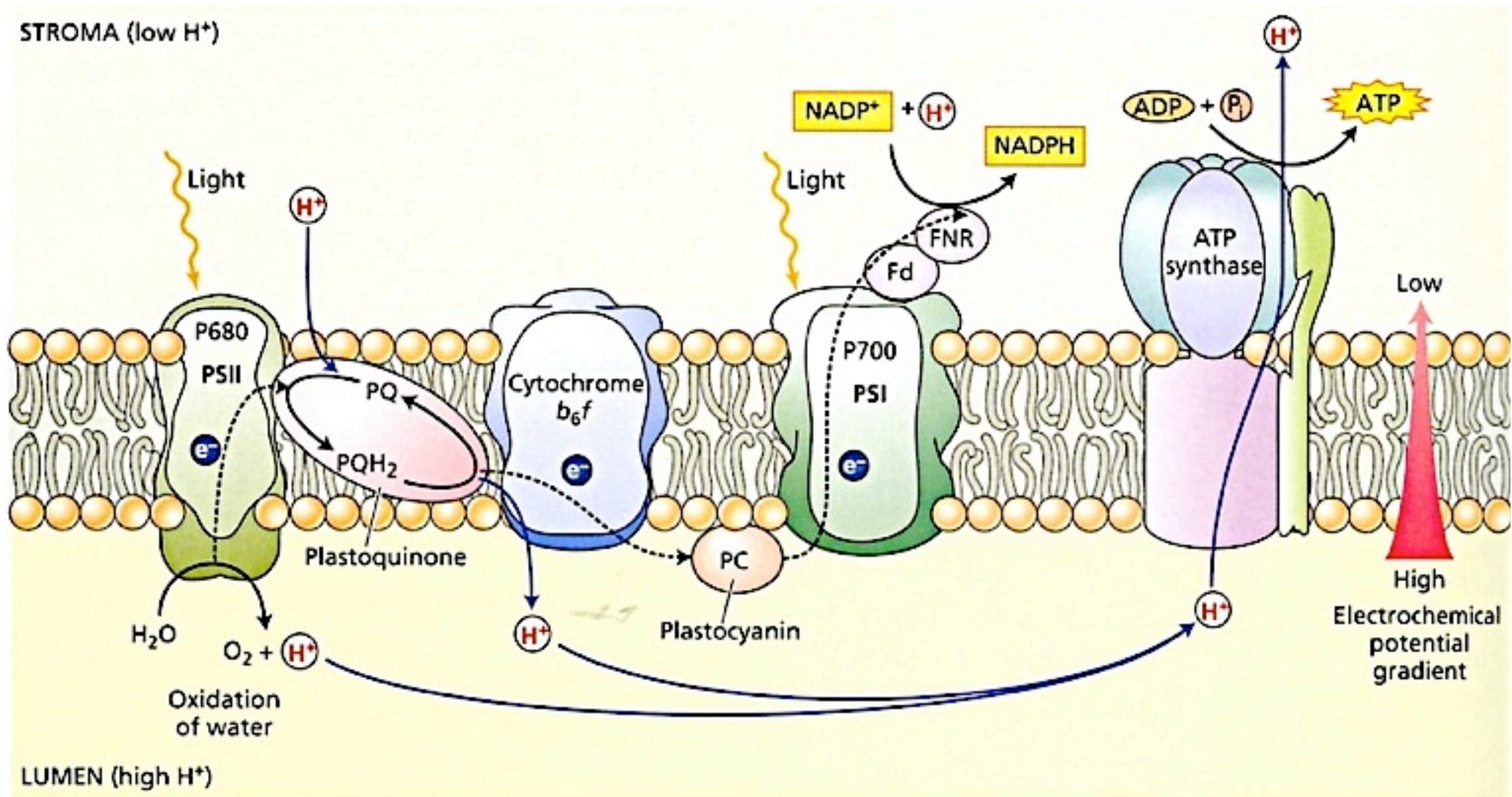
transfert  
**défavorable**  
(sens des  
potentiels  
décroissants)

accepteur d'électron

# De l'énergie lumineuse au potentiel rédox



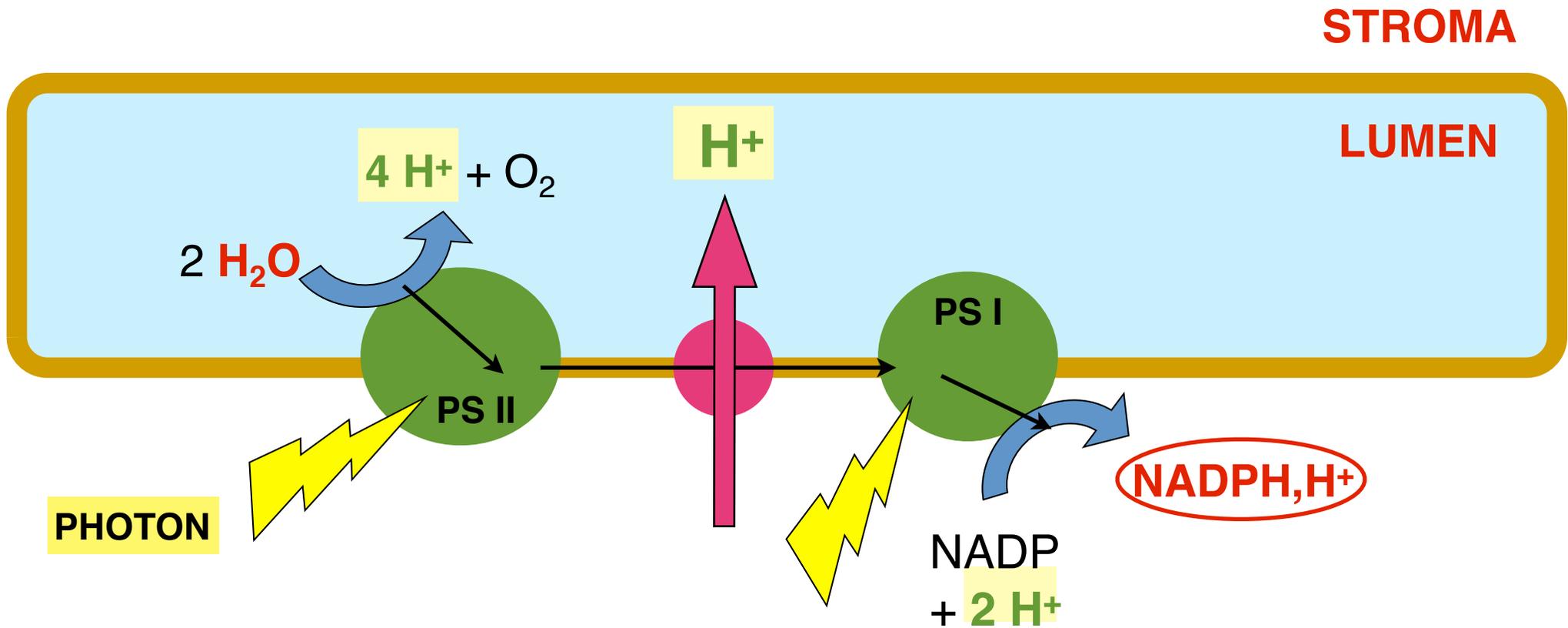
# Le transport des électrons



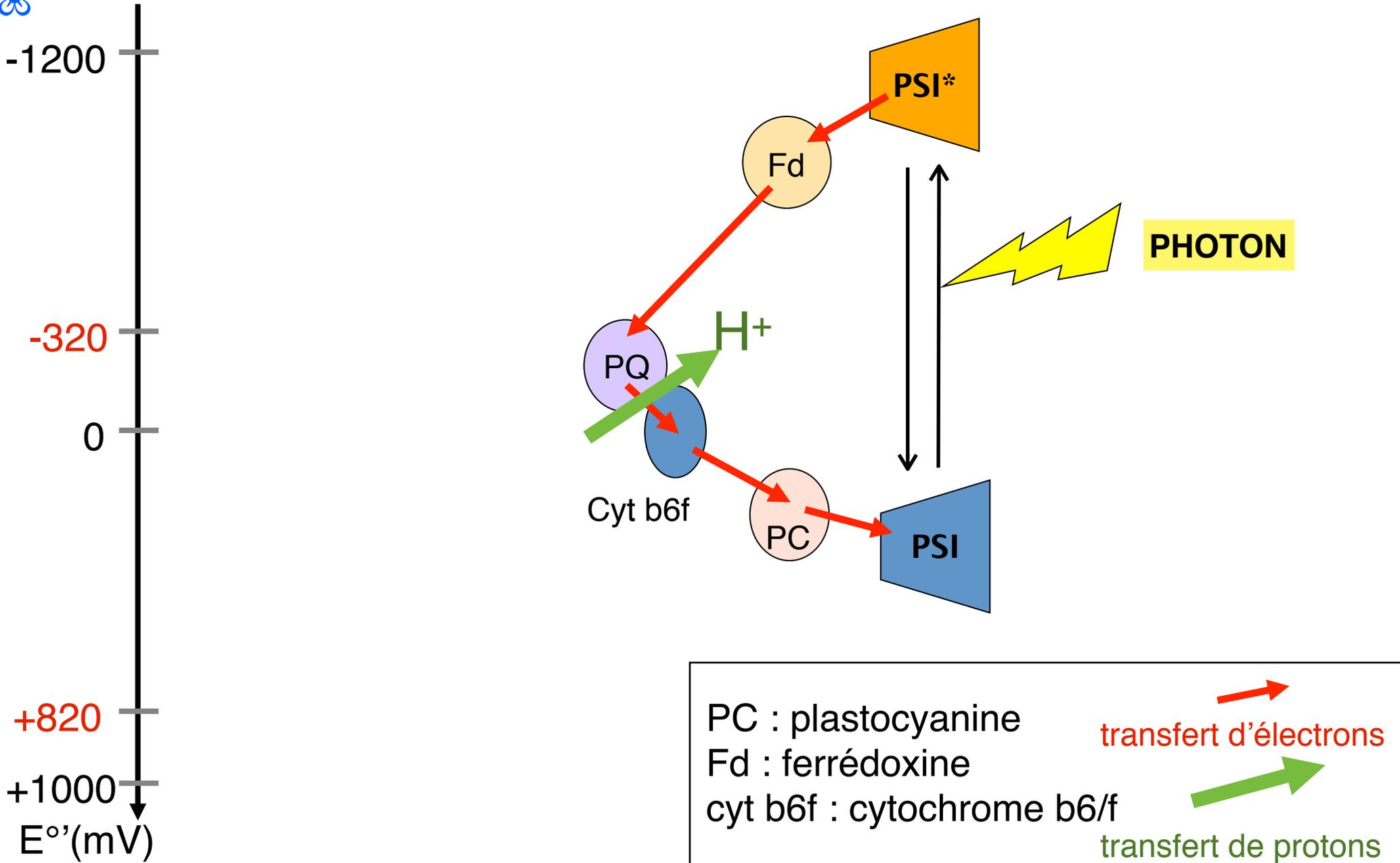
# Mise en place du gradient de protons



## Schéma simplifié d'un thylakoïde



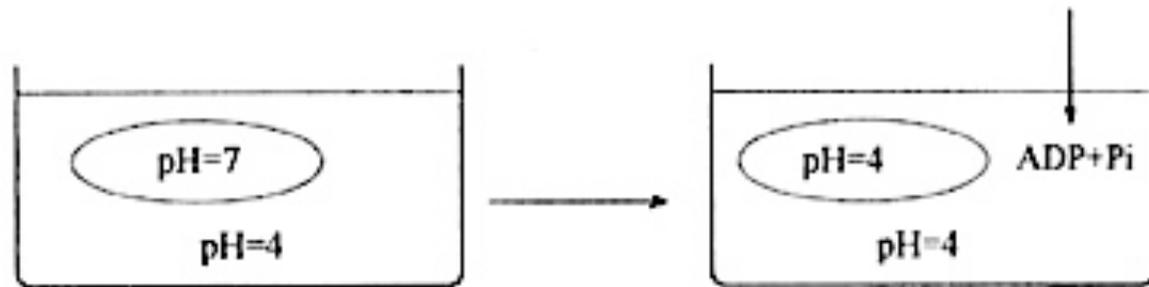
# Le transport cyclique



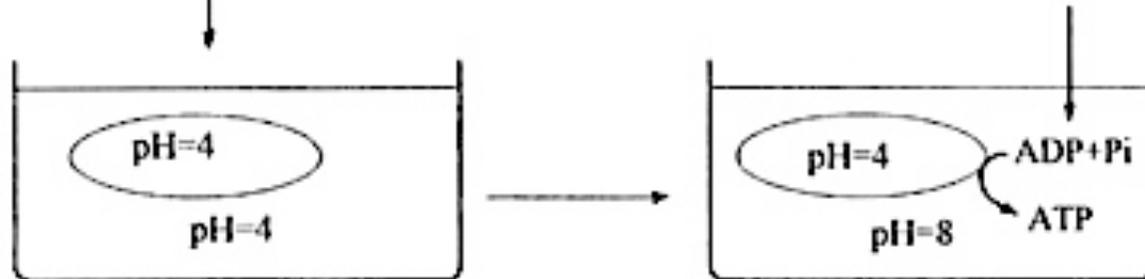
# Expérience du choc de pH (Jagendorf, 1966)



Expérience réalisée à l'obscurité et en absence de composés rédox

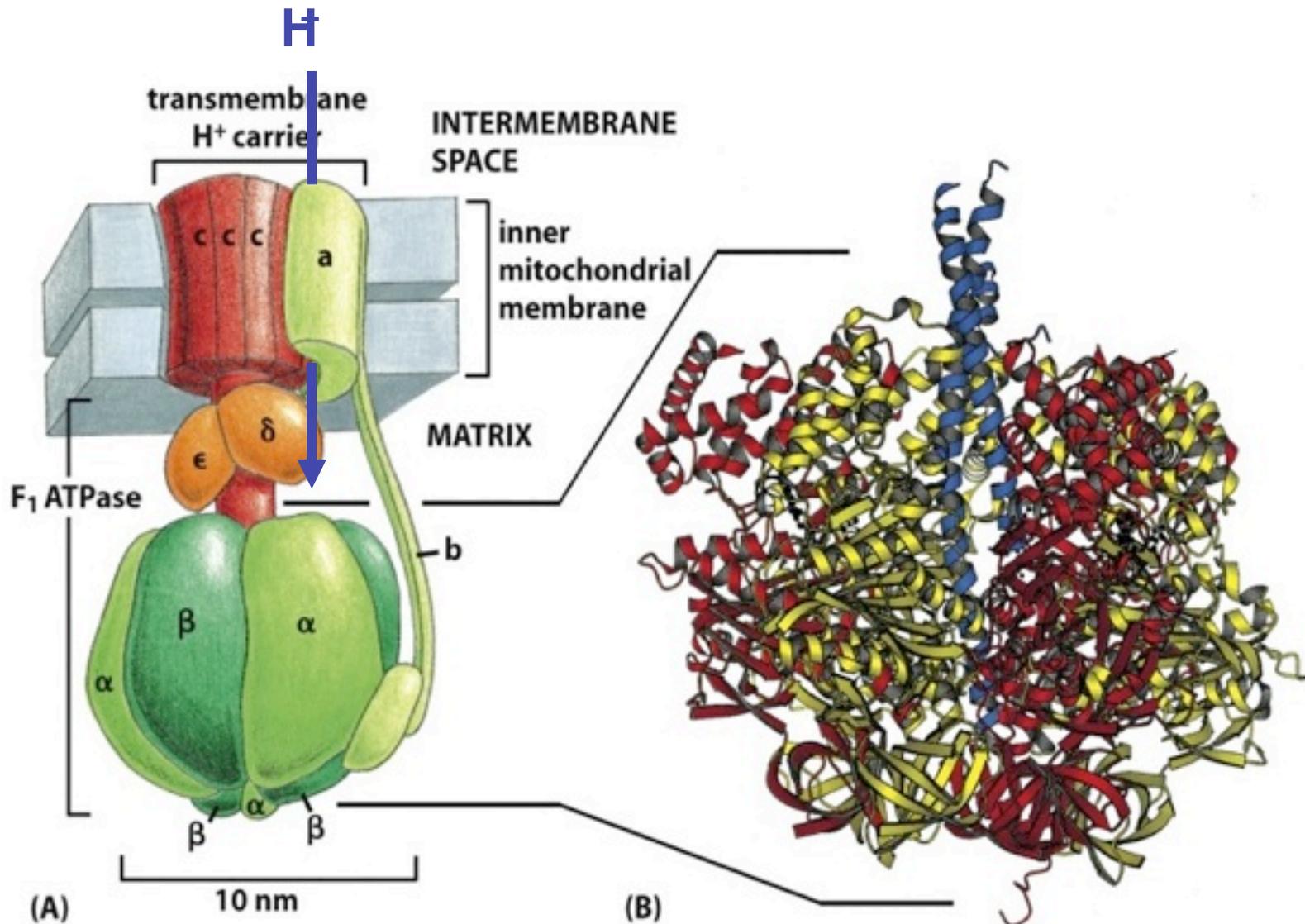


Des thylakoïdes isolés dont le pH de la lumière a été fixé à 4 par incubation dans un milieu tamponné de pH=4 ne forment pas d'ATP en présence d'ADP+Pi et de Mg<sup>++</sup>

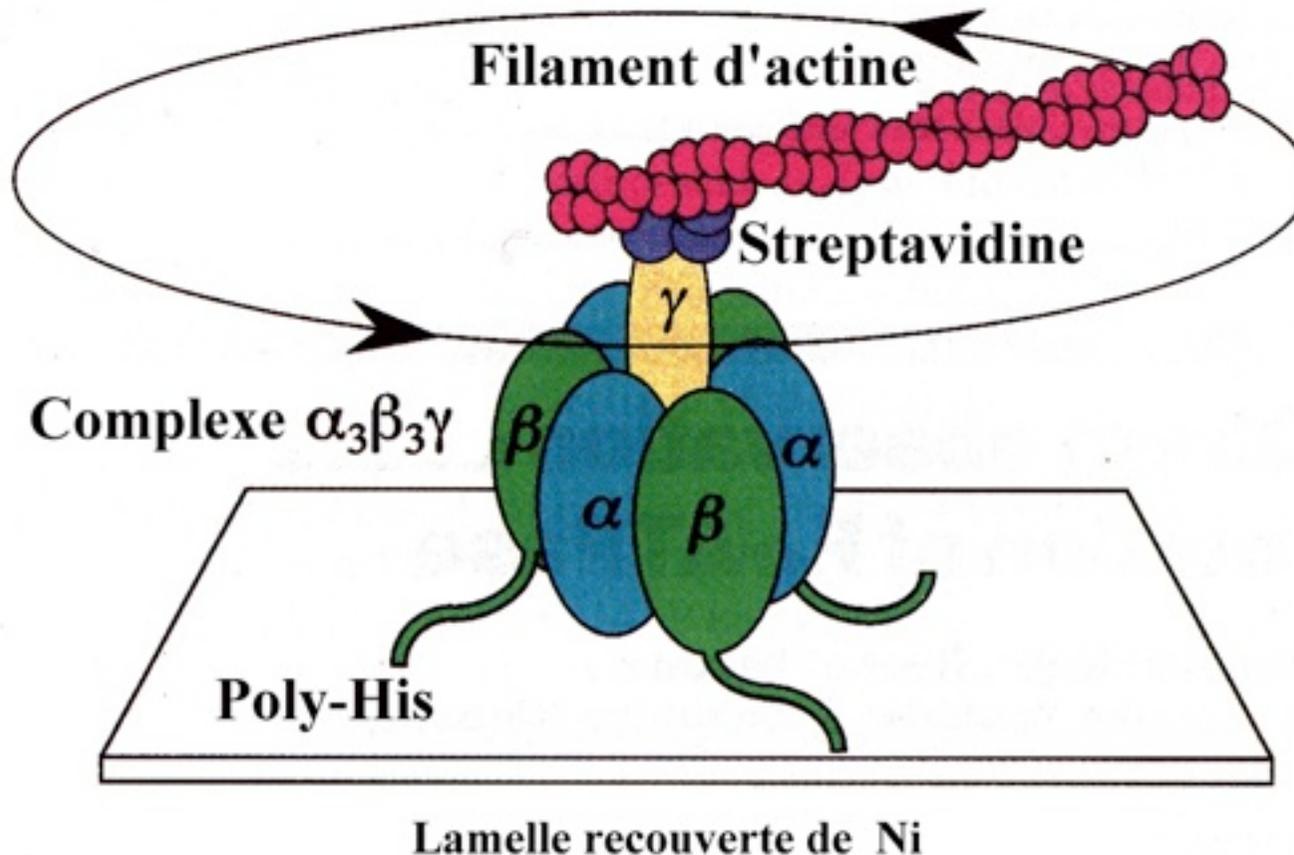


Ces thylakoïdes isolés dont le pH de la lumière a été fixé à 4 forment de l'ATP en présence d'ADP+Pi et de Mg<sup>++</sup> si on les transfère dans un milieu tamponné de pH=8

# L'ATP synthase



# Le rotor de l'ATP synthase



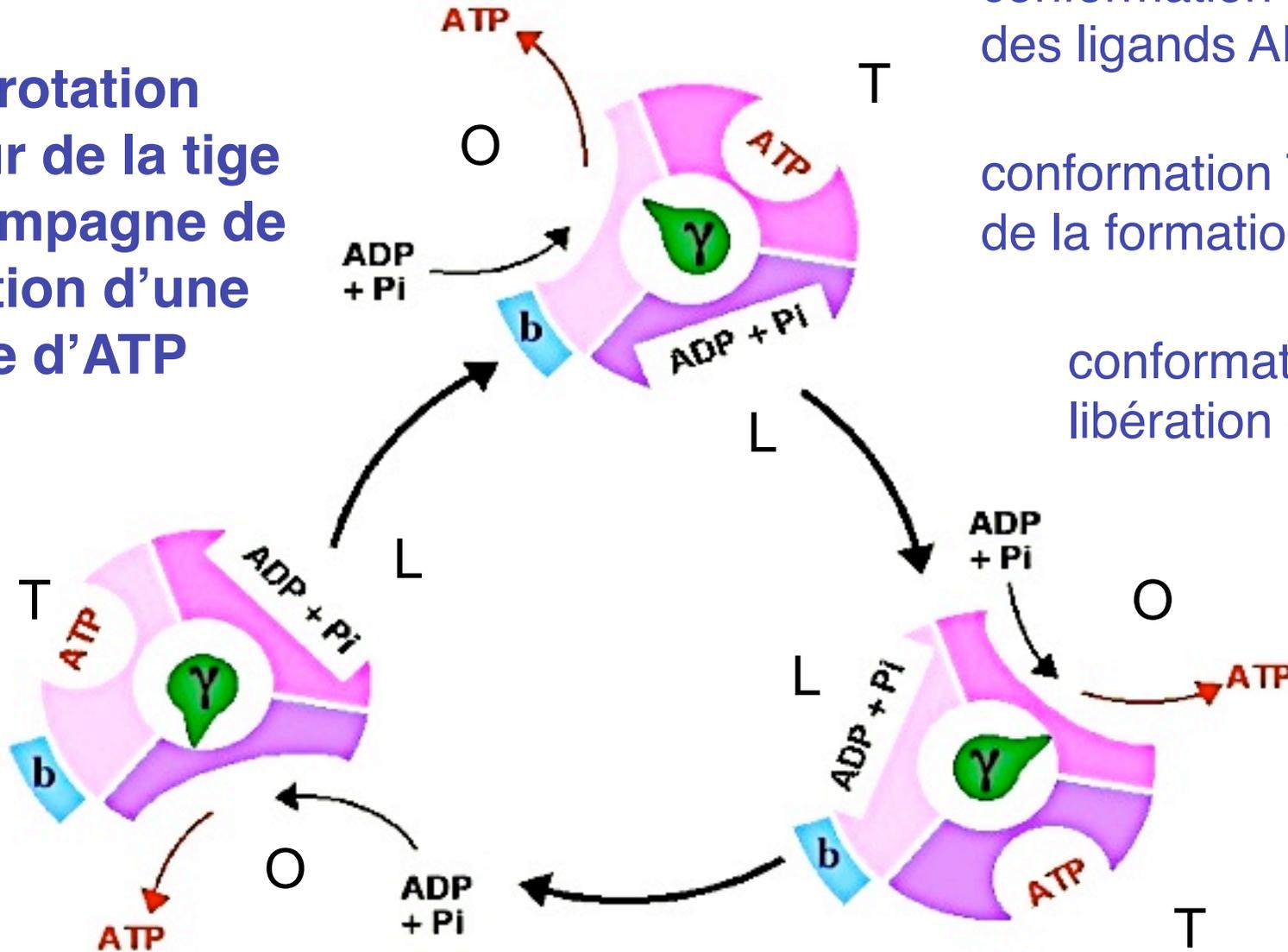
Les sous-unités  $\beta$  ont été fixées à un support et un filament d'actine fluorescent a été lié à la tige  $\gamma$ . Un film montre la rotation du filament d'actine.

<https://www.youtube.com/watch?v=QeHCAFKaWM8>

# Mécanisme de synthèse d'ATP



Chaque rotation d'1/3 tour de la tige  $\gamma$  s'accompagne de la libération d'une molécule d'ATP



conformation L = fixation des ligands ADP et  $P_i$

conformation T = catalyse de la formation d'ATP

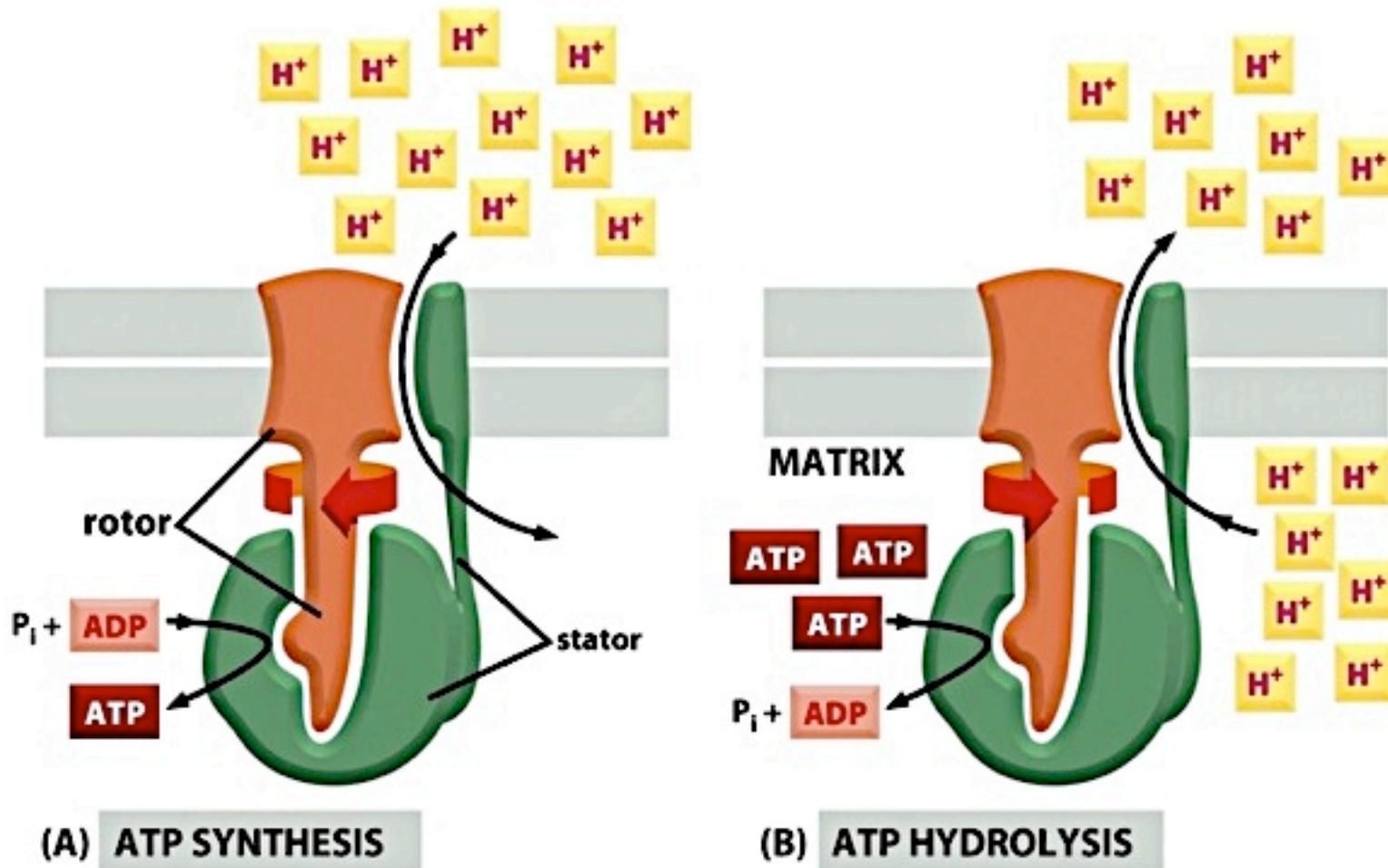
conformation O = libération de l'ATP

L = loose

T = tight

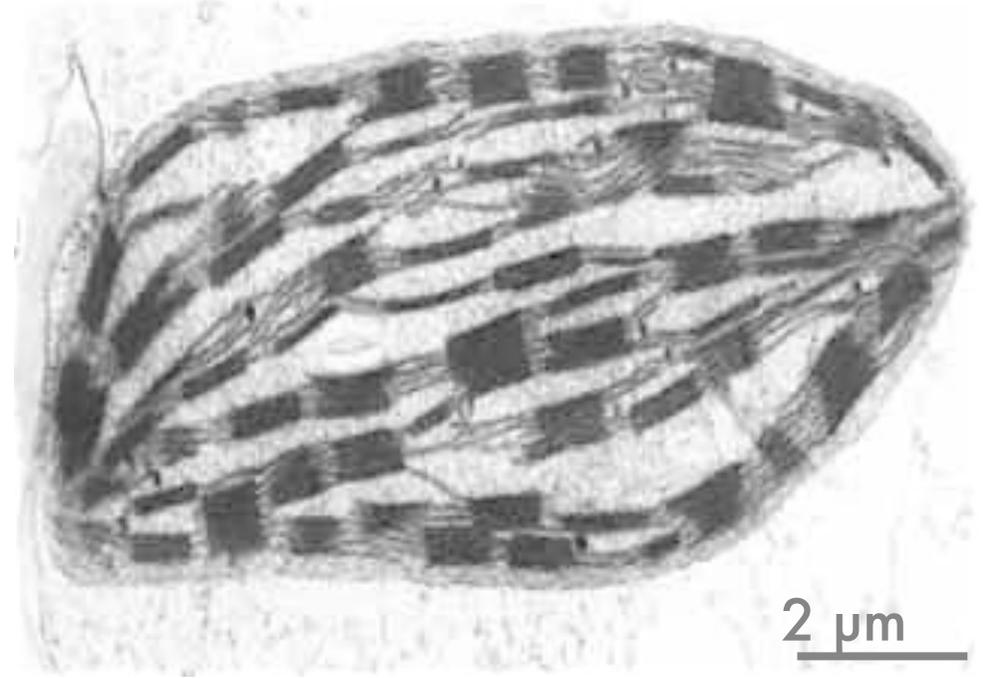
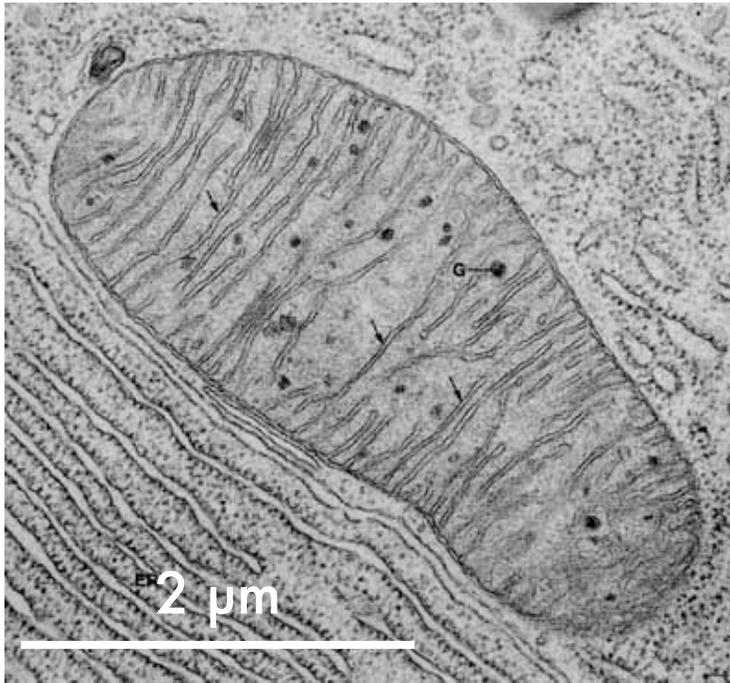
O = open

# Le fonctionnement de l'ATP synthase est réversible



### **3. Les molécules organiques, sources énergétiques**

# Mitochondrie / chloroplaste



## MITOCHONDRIE

organite semi-autonome de 3  $\mu\text{m}$   
division binaire  
milieu réactionnel = **matrice**  
ADN, ribosomes, enzymes  
membrane externe perméable  
membrane interne à replis (**crêtes**)  
présence de transporteurs d'électrons  
et d'ATP synthase

## CHLOROPLASTE

organite semi-autonome de 10  $\mu\text{m}$   
division binaire  
milieu réactionnel = **stroma**  
ADN, ribosomes, enzymes  
membrane externe perméable  
membrane interne formant des **thylakoïdes**  
présence de transporteurs d'électrons et  
d'ATP synthase

# L'acétyl-coenzyme A

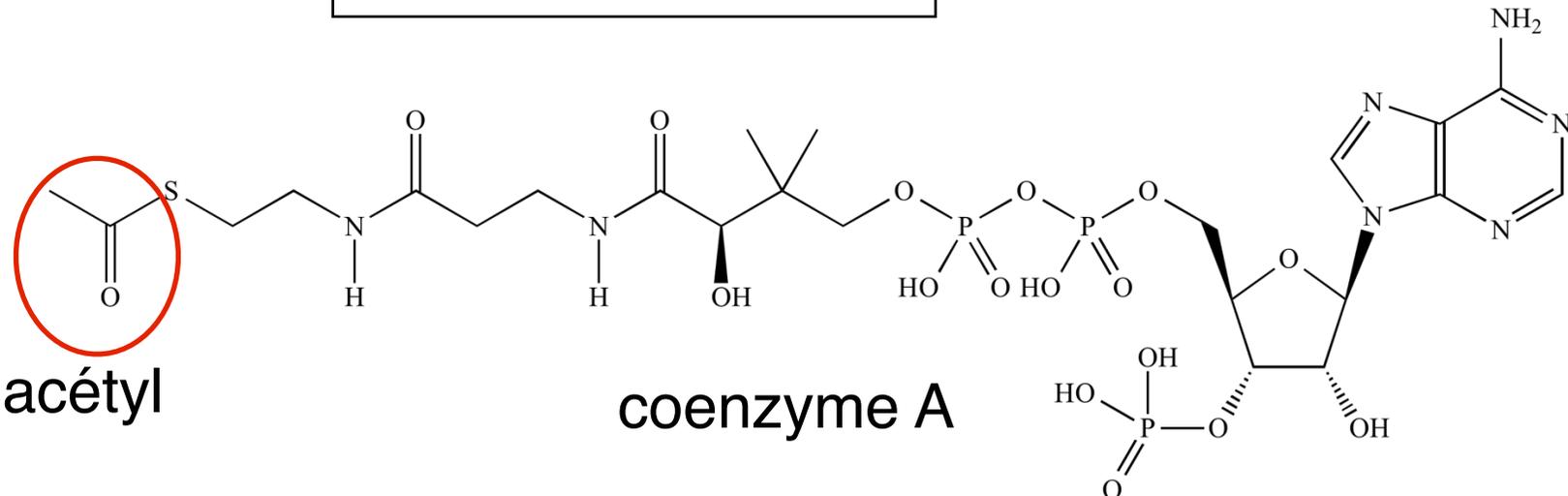
glucides

lipides

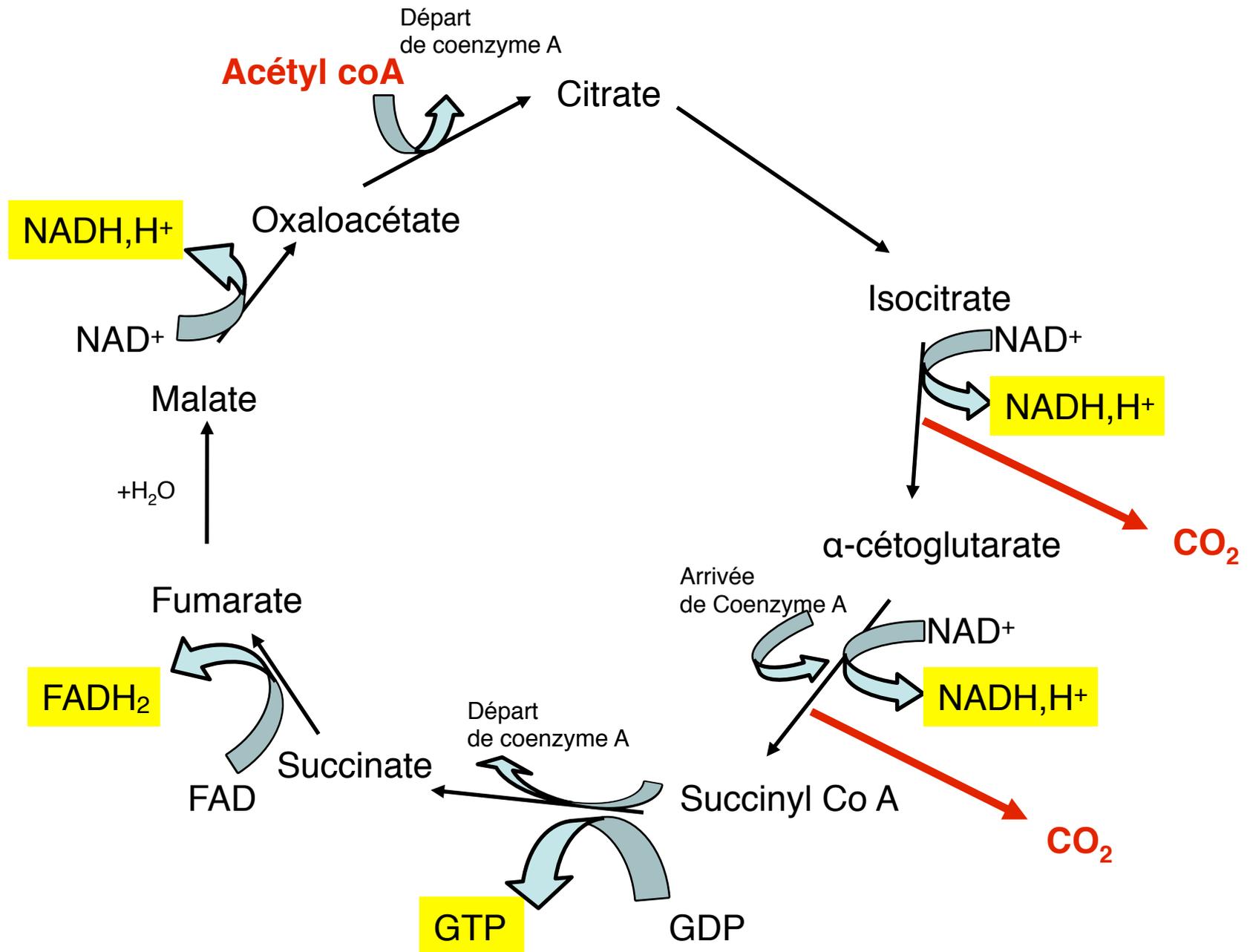
acides aminés

voies cataboliques

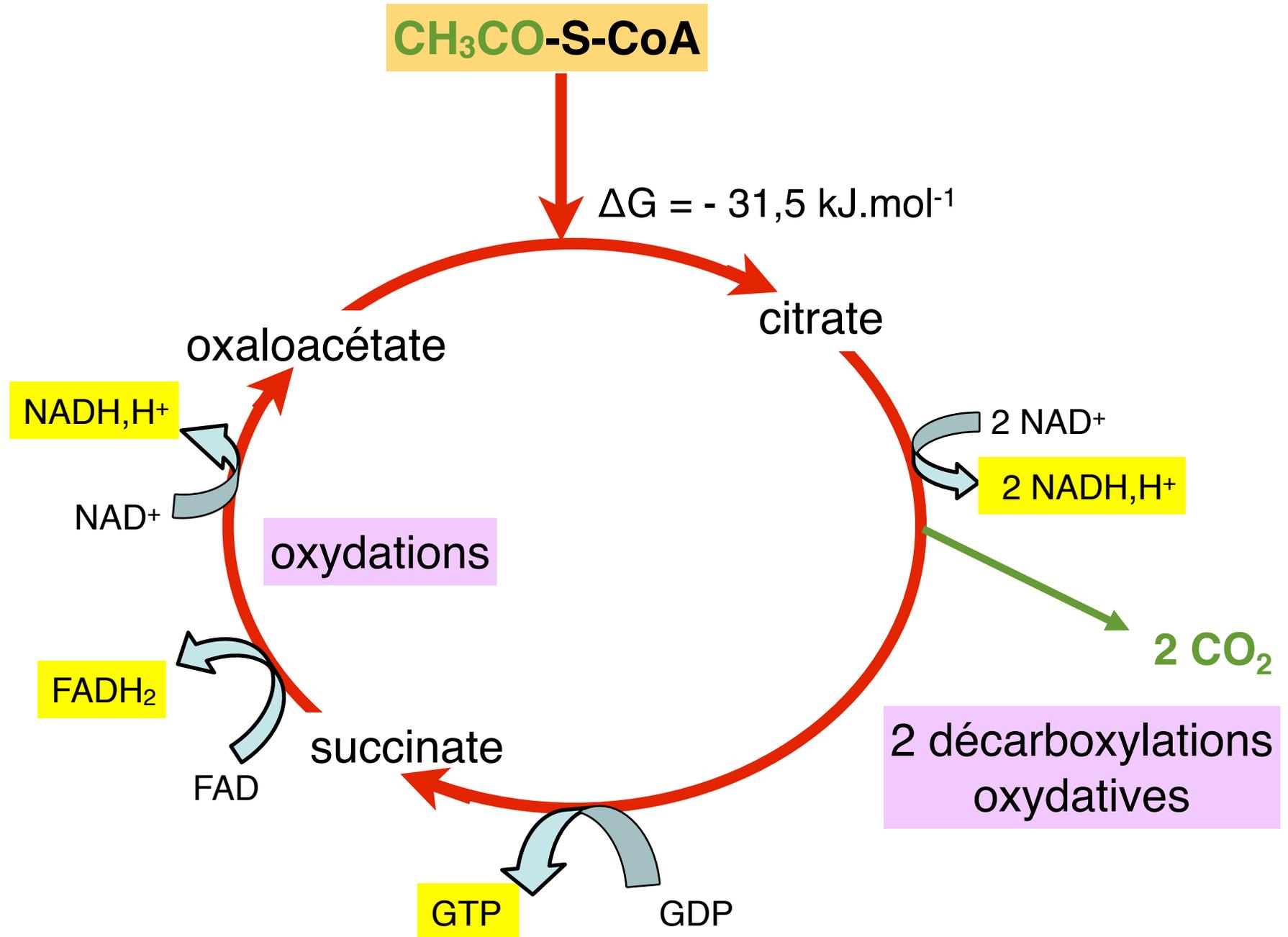
acétyl-coenzyme A  
noté  $\text{CH}_3\text{CO} - \text{S-CoA}$



# Le cycle de Krebs



# Le cycle de Krebs (simplifié)



# Membrane des crêtes et transport d'électrons

## - des transporteurs d'électrons et protons

- flavine mononucléotide (FMN) = groupement prosthétique de la NADH déshydrogénase.
- ubiquinone, petite molécule hydrophobe à groupement prosthétique = coenzyme Q

## - des transporteurs de seuls électrons

On connaît plus de 15 métalloprotéines dont :

- 5 **cytochromes**, avec un hème dont le fer peut passer de l'état ferreux réduit ( $\text{Fe}^{2+}$ ) à l'état ferrique oxydé ( $\text{Fe}^{3+}$ ) par perte d'un électron et inversement.
- 6 **protéines fer-soufre**.

## Transporteurs regroupés en vastes complexes enzymatiques

- **Complexe NADH déshydrogénase**, avec au moins 12 chaînes polypeptidiques.
- **Complexe b-c1**, avec 8 chaînes polypeptidiques différentes.
- **Complexe cytochrome oxydase**, a-a3, avec 7 chaînes polypeptidiques.

# Potentiels rédox des transporteurs



Composant	Nomenclature	Composition	E <sup>0'</sup> (V)
Ubiquinone ou coenzyme Q	Ubiquinone ou coenzyme Q	Polyisoprène : lipide au sens large présentant une forme réduite et une forme oxydée	0,045
Complexe III	Q-cytochrome c réductase	8 sous-unités dont une protéine fer-soufre et des cytochromes (b et c1)	b : 0,077 c1 : 0,215
Cytochrome C	Cytochrome C	cytochrome	0,235
Complexe IV	Cytochrome C oxydase	13 sous-unités dont des cytochromes (a et a3)	a : 0,29 a3 : 0,385



**sens des potentiels  
croissants**

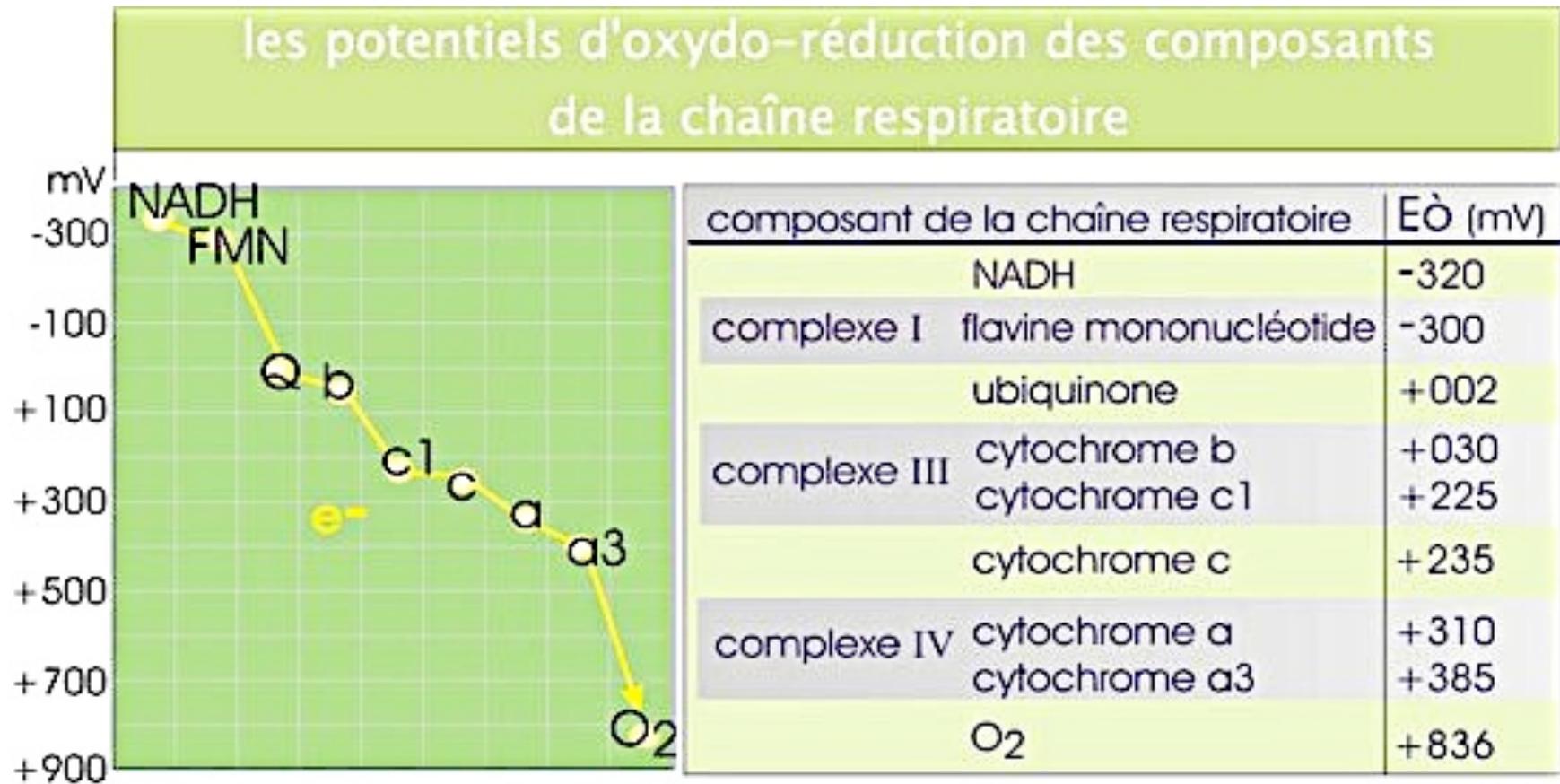
# Ordre des transporteurs d'électrons



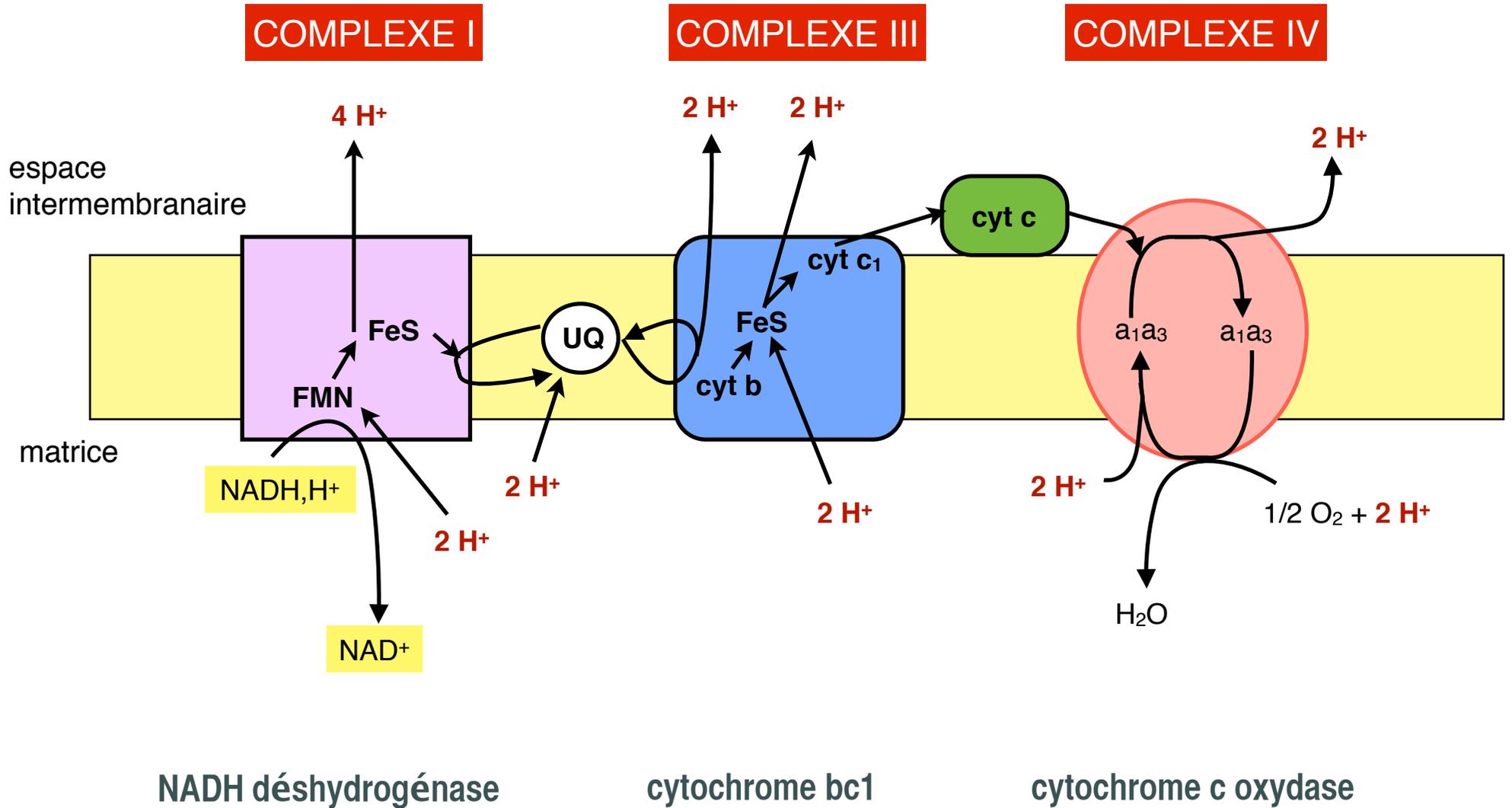
Par spectrophotométrie dans une solution de mitochondries, on peut déterminer l'état oxydé ou réduit de chaque complexe. On peut ajouter des poisons qui bloquent le transfert des électrons.

	NADH DH	cytochrome bc1	cytochrome oxydase
sans O <sub>2</sub>	red	red	red
avec O <sub>2</sub>	ox	ox	ox
+ antimycine	red	red	ox
+ KCN	red	red	red
+ amytal	red	ox	ox

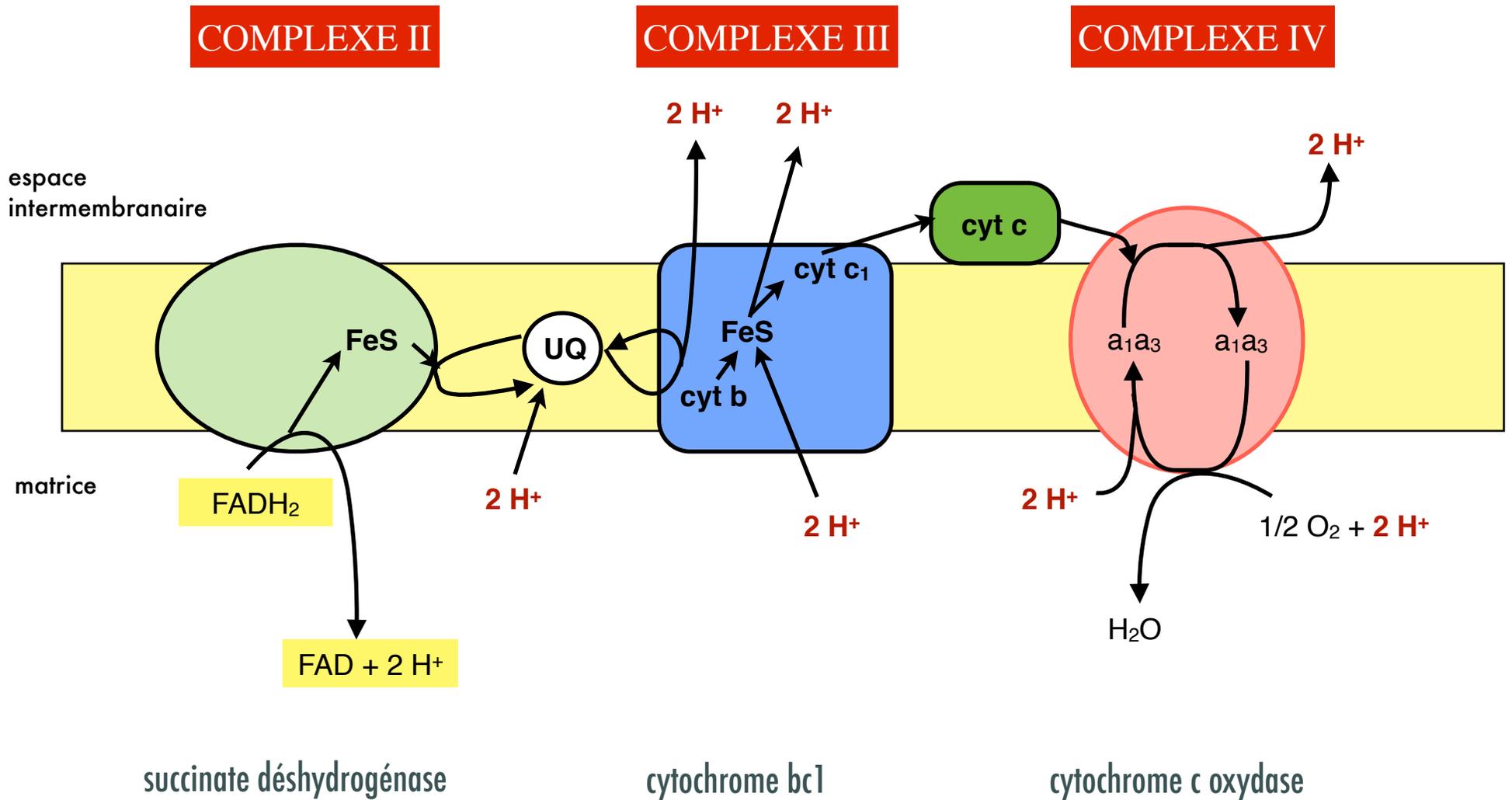
# Bilan : ordre des transferts



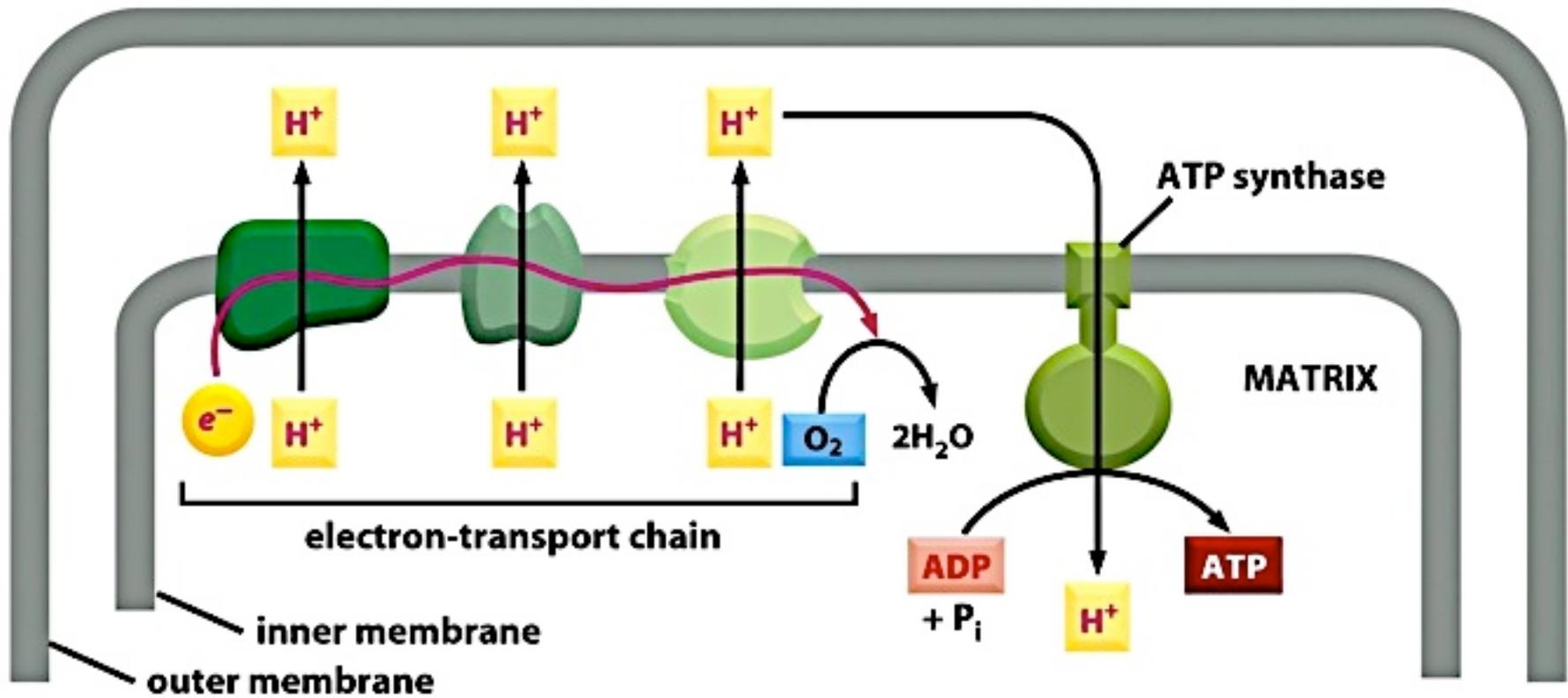
# À partir du NADH,H<sup>+</sup>



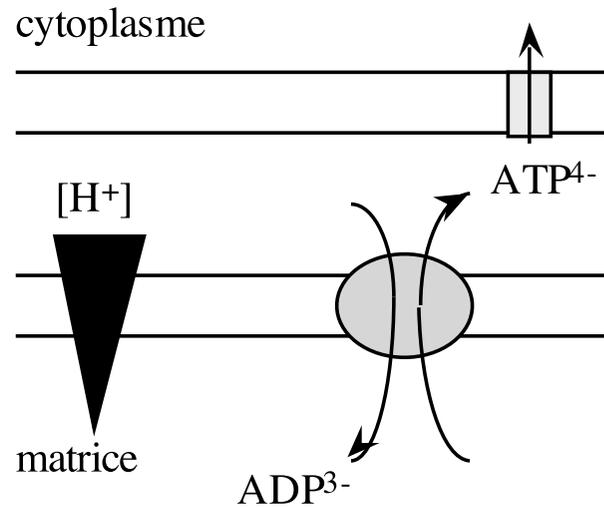
# À partir du FADH<sub>2</sub>



# Bilan



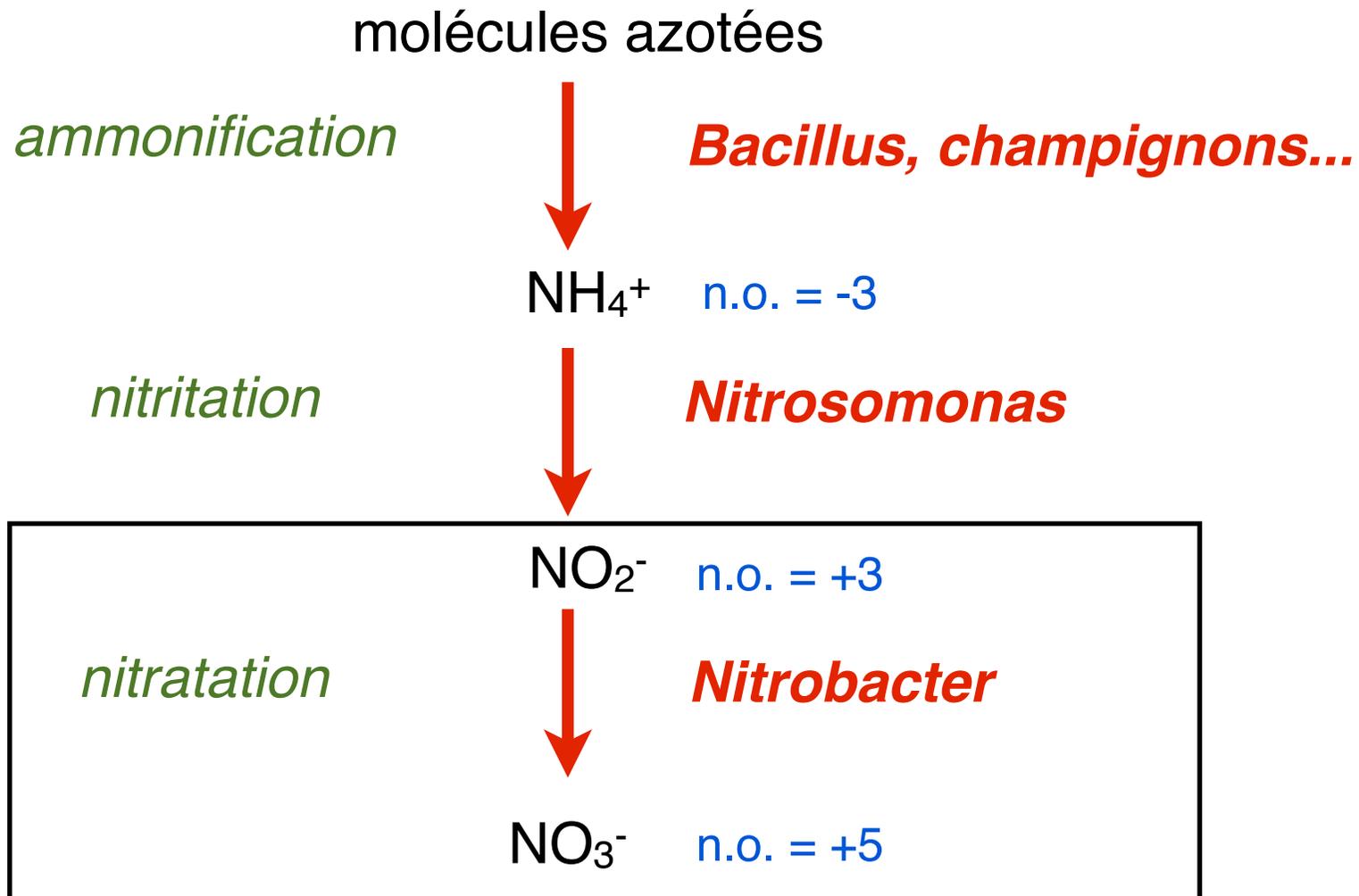
# Échanges avec le cytosol



Contrairement au chloroplaste, la mitochondrie exporte l'ATP vers la cellule qui l'utilise.

# Exercice : Nitrobacter

- ❁ La nitratisation est un processus de minéralisation qui a lieu dans le sol, lors de la décomposition des molécules azotées.



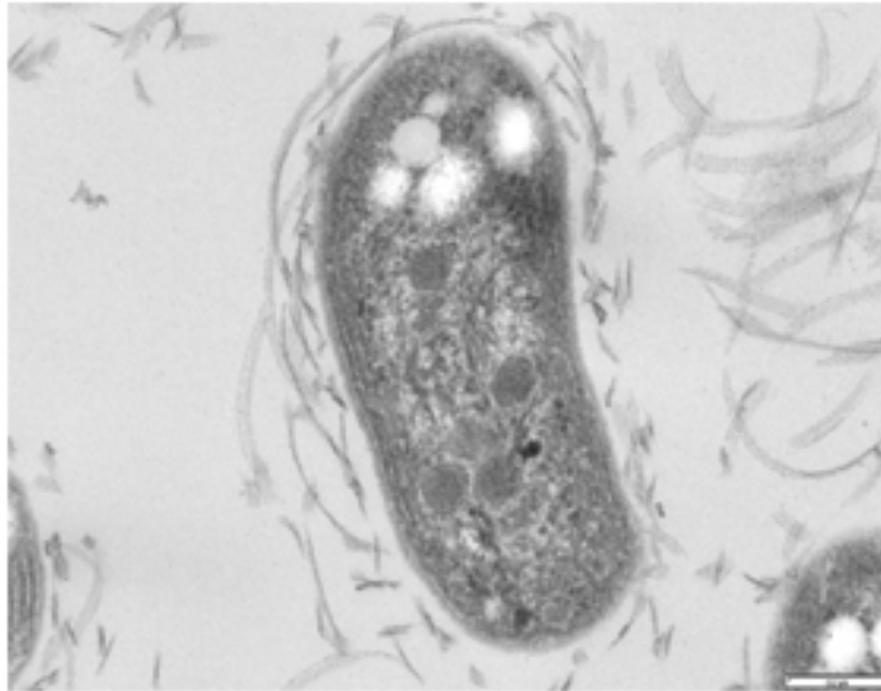
n.o. = nombre  
d'oxydation

# Nitrobacter, bactérie autotrophe pour C

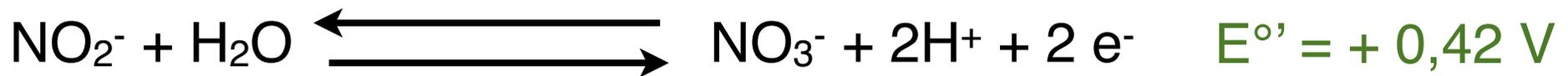


## Nitrobacter (MET)

(W.J. Hickey, University of Wisconsin-Madison, 2006)



**couples mis en jeu**

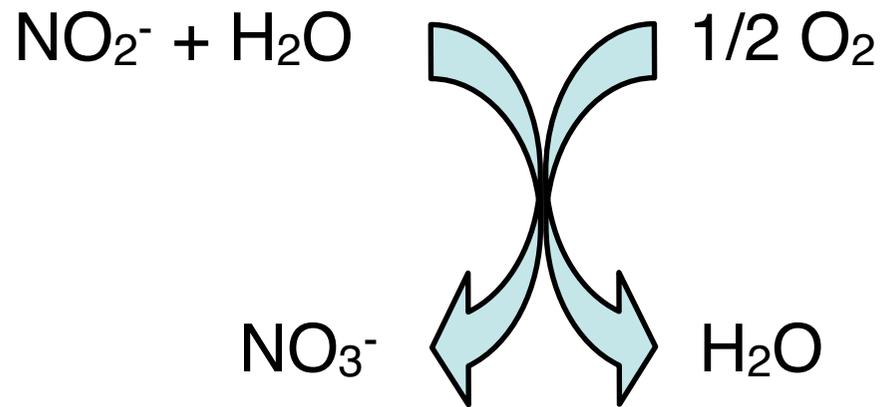


Quelle est la réaction bilan favorable ? Calculer  $\Delta G^{\circ'}$

# Étude de la réaction rédox



Réaction de nitratisation



Comment est réalisé le transfert des électrons ?

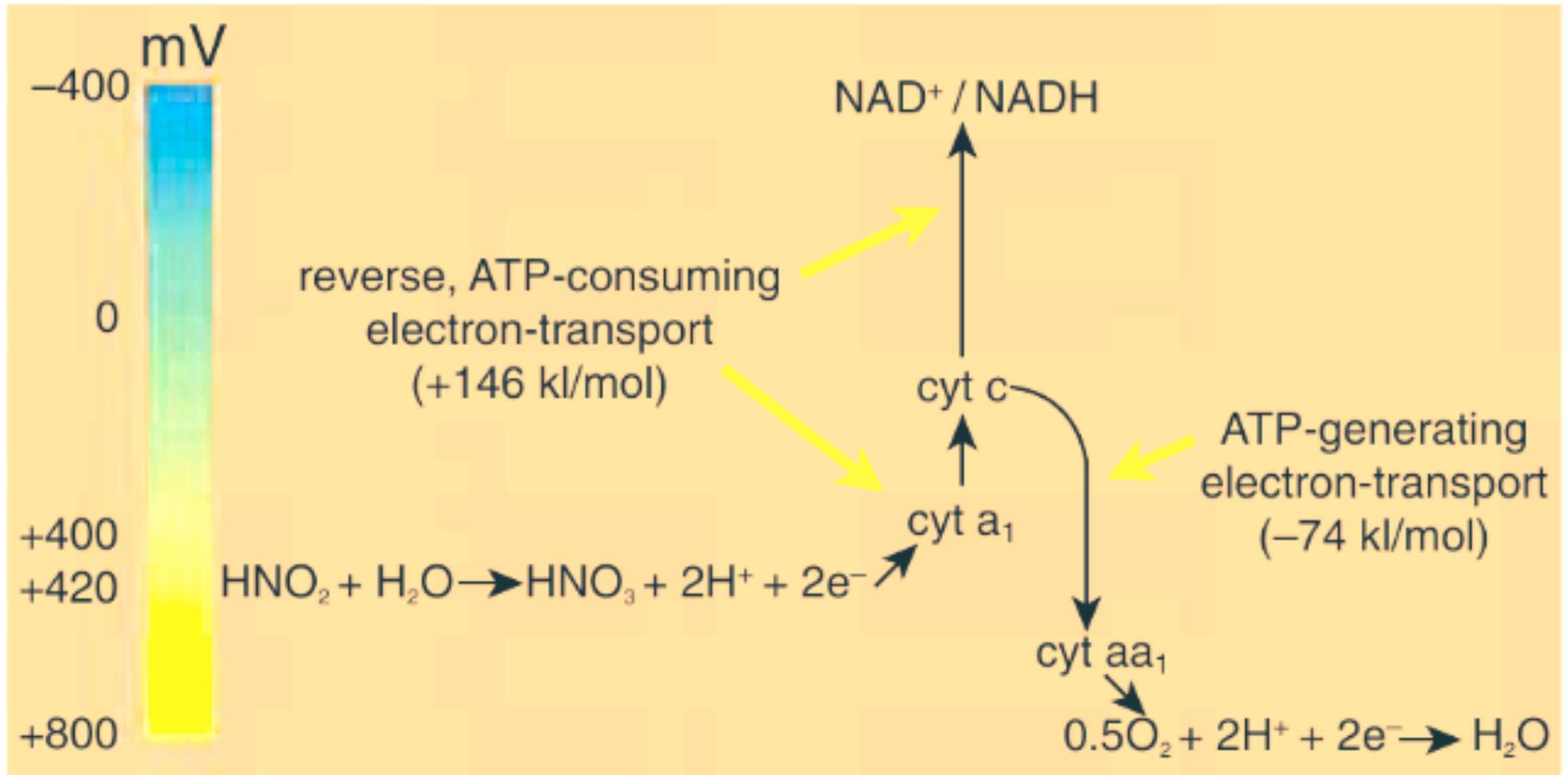
# La chaîne de transport des électrons



Composé rédox mis en jeu	$E^{\circ}$ en mV
$\text{NO}_2^-$	+ 420
cytochrome a1c1	+ 310
cytochrome c	+ 260
cytochrome a1a3	+ 385
$\text{O}_2$	+ 810

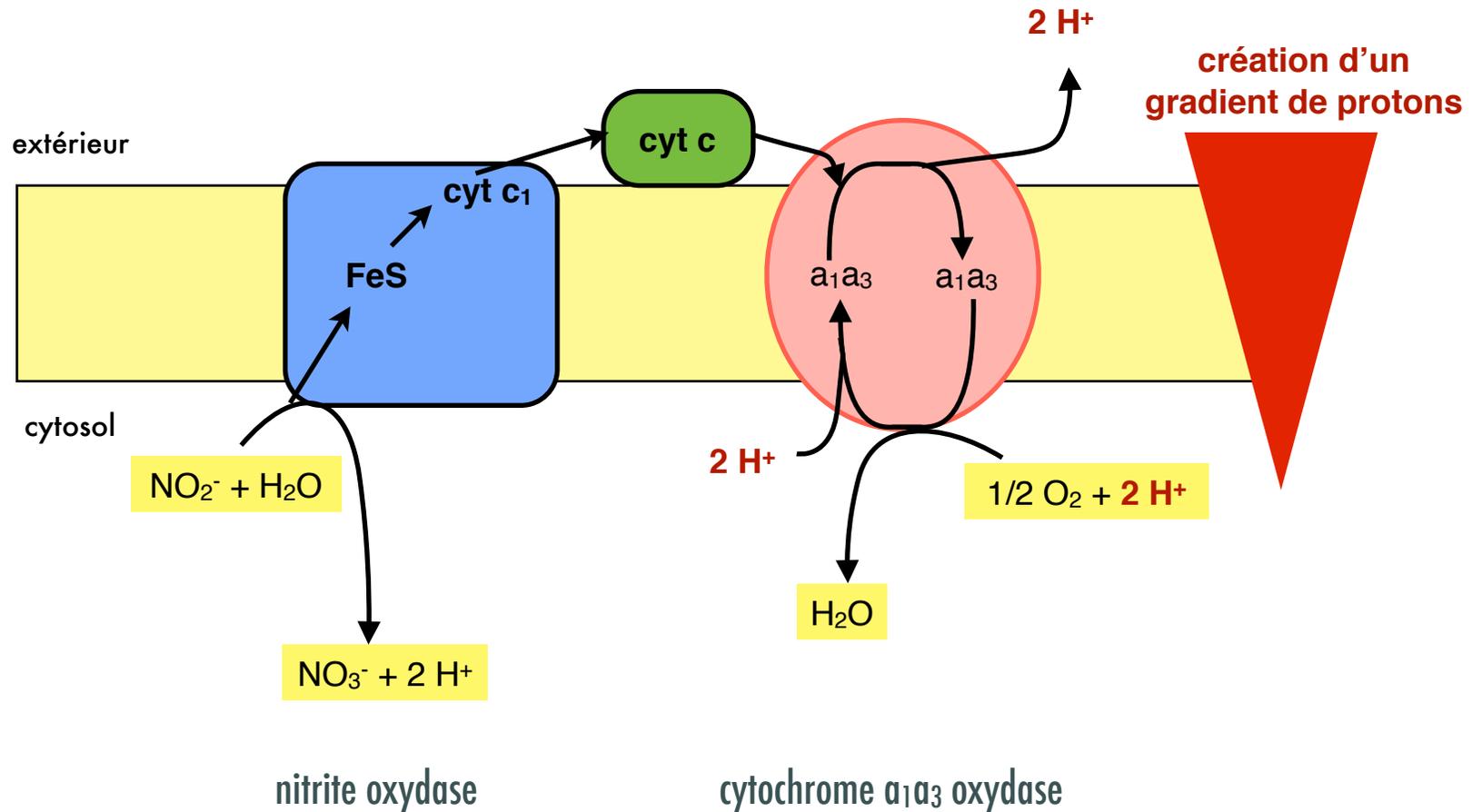
sens de transfert  
des électrons

# Transfert d'électrons chez *Nitrobacter*



The Prokaryotes: Vol. 2: Ecophysiology and Biochemistry  
publié par Martin Dworkin

# Création d'un gradient de protons



L'oxydation de  $\text{NO}_2^-$  permet de créer un gradient de protons exploitable pour produire de l'ATP.

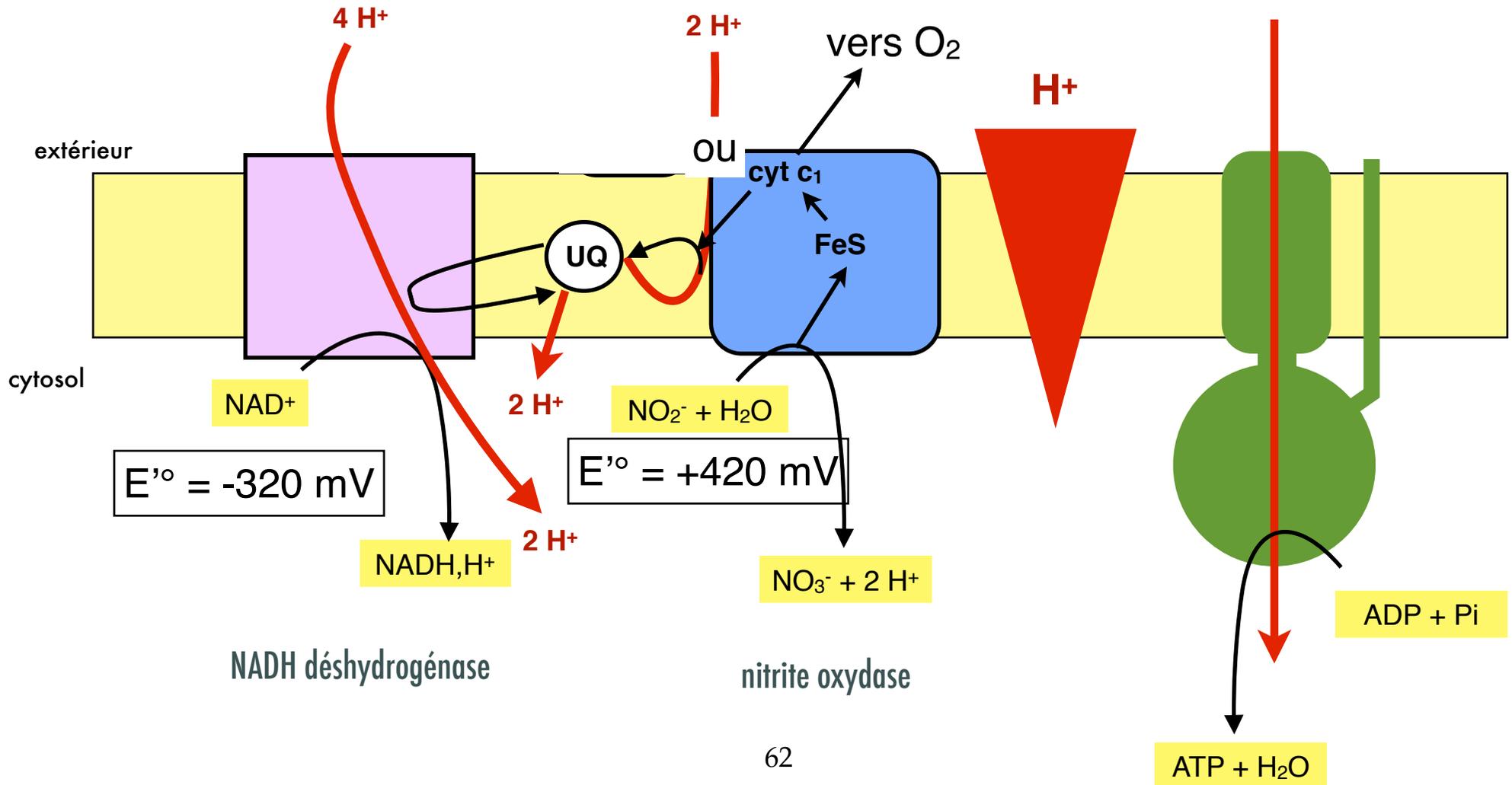
# Les 2 utilisations du gradient de protons

La production de  $\text{NADH}, \text{H}^+$  est défavorable à partir de  $\text{NO}_2^-$  mais un système force le passage des électrons vers  $\text{NAD}^+$  en utilisant le potentiel osmotique du gradient d' $\text{H}^+$ .



Forcer le transfert d'électrons pour produire du  $\text{NADH}, \text{H}^+$

Produire de l'ATP



# Bilan de Nitrobacter



L'oxydation de  $\text{NO}_2^-$  est utilisée pour :

- produire de l'ATP par une chaîne rédox spontanée et l'exploitation d'un gradient de protons ;
- produire du  $\text{NADH}, \text{H}^+$  par une voie endergonique dépendante d'un gradient de protons.

ATP et  $\text{NADH}, \text{H}^+$  permettent à la bactérie de réduire  $\text{CO}_2$  pour produire de la matière organique : la bactérie est donc **autotrophe**.

Elle ne nécessite pas de lumière puisque sa source énergétique est l'oxydation de matière minérale (énergie chimique).

***Nitrobacter* est dite « chimiolithotrophe ».**

# Les types trophiques

		Source d'électrons	
		minérale	organique
Source d'énergie	lumineuse	<b>Photolithotrophe</b> bactéries photosynthétiques, algues, plantes	<b>Photo-organotrophe</b>
	chimique	<b>Chimiolithotrophe</b> bactéries nitrifiantes, archées	<b>Chimio-organotrophe</b> animaux, champignons