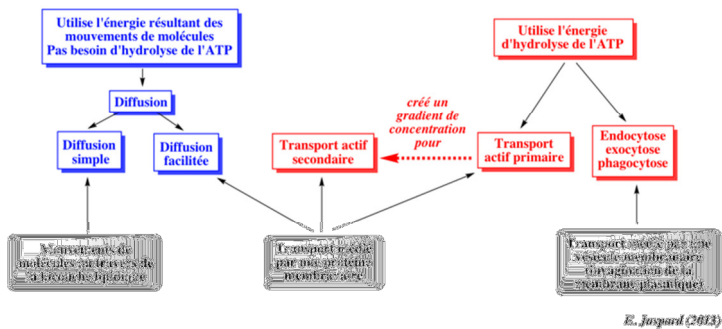


## Résumé du module : Physiologie Cellulaire et Moléculaire

### Chapitre 2 : Les Biomembranes, Le transport transmembranaire.

#### Les différents modes de transport membranaire

Il existe deux modes de transport membranaire : le transport transmembranaire et le transport cytotique (endocytose et exocytose)



#### 1. Le transport transmembranaire

Il existe deux types de transport transmembranaire : le transport passif et le transport actif

##### 1. Le transport passif

- il se fait selon le gradient de concentration ou électrochimique
- il ne consomme pas d'énergie
- il peut se faire directement à travers la bicouche lipidique (diffusion simple) ou fait intervenir des perméases de nature protéique : les transporteurs et les canaux ioniques.

##### 1.1 .La diffusion simple dépend de trois facteurs :

- La taille de la molécule
- L'ionisation
- Du degré de solubilité de la molécule dans les lipides

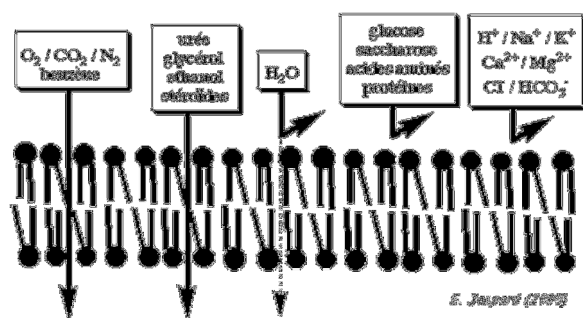


Fig3 : Schéma illustrant la perméabilité sélective de la membrane plasmique

##### 1.2. La diffusion facilitée est

- un mode de transport rapide
- un processus saturable
- assurée par des transporteurs

Remarque : Le transporteur du glucose de type GLUT4 des cellules musculaires et adipeuses est absent au niveau de la membrane plasmique, son insertion à cette dernière, par une exocytose régulée, nécessite la fixation de l'insuline à son récepteur membranaire.

1.3. Les canaux ioniques et hydriques assurent un transport très rapide des ions et de l'eau.

## 2. Le transport actif

- Il se fait contre le gradient de concentration ou électrochimique
- Il fait intervenir des pompes et des transporteurs
- Il consomme de l'énergie

2.2. Le transport actif est dit primaire quand l'énergie consommée est sous forme

- d'ATP
- Lumineuse (plastes)
- d'énergie d'oxydoréduction (mitochondries)
- Il est assuré par des pompes

2.2.1. Les pompes de type P : exemple la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>

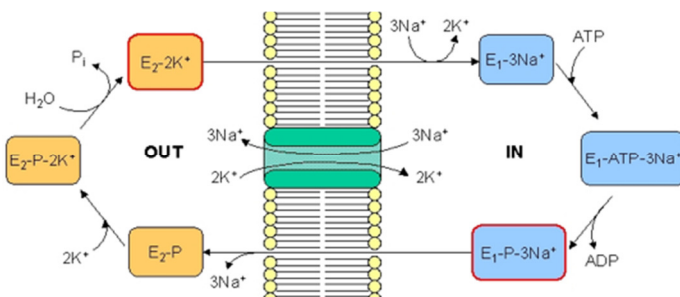


Fig7 : Schéma illustrant le mécanisme d'action de la pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> de la membrane plasmique.

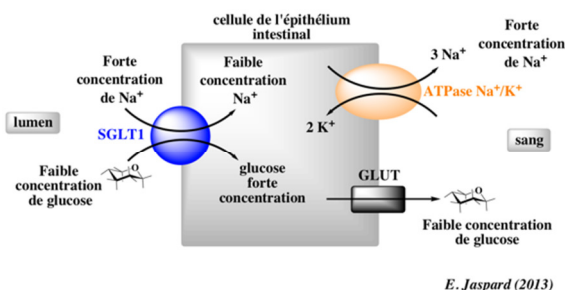
La pompe Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> a pour conséquences :

- La régulation du volume intracellulaire
- La conduction de l'influx nerveux
- Le transport actif secondaire de certains solutés.

## 2.3. Transport actif secondaire

Le transport actif est dit secondaire quand l'énergie consommée est une énergie potentielle, qui provient de la dissipation (disparition) du gradient électrochimique ;

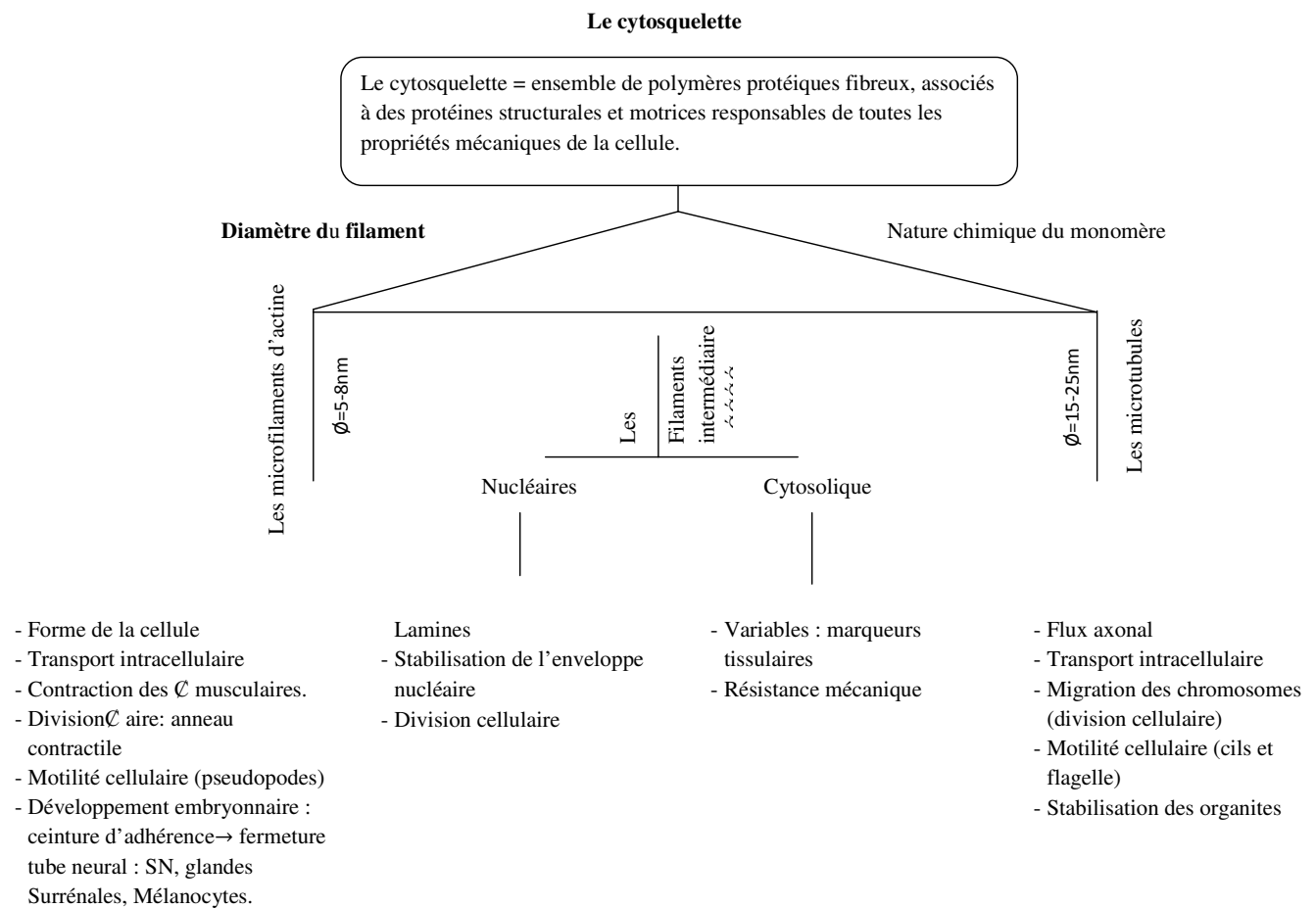
Au niveau de la membrane plasmique, c'est le gradient électrochimique du Na<sup>+</sup> qui est utilisé pour assurer le transport actif secondaire d'un soluté donné. Au niveau de la membrane mitochondriale interne c'est le gradient électrochimique des protons H<sup>+</sup>. Les transporteurs assurent à la fois le transport de deux substances : l'une d'une façon passive et l'autre d'une façon active.



E. Jaspard (2013)

Fig11 : Schéma du transport actif secondaire du glucose

-Le symport est le co-transport deux substances dans le même sens. L'antiport est le co-transport de deux substances dans deux sens inverses. Le transporteur est appelé aussi échangeur. Exemple Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> : entrée du Na<sup>+</sup> et sortie des H<sup>+</sup>. Cet échangeur permet de maintenir le pH intracellulaire à une valeur de 7.2.



**1. Les différents acteurs du cytosquelette**

Le cytosquelette des cellules eucaryotes est composé de trois polymères biologiques aux propriétés mécaniques particulières qui les prédisposent à des fonctions cellulaires précises : les microtubules(MT), les filaments intermédiaires(FI) et les microfilaments(MF) ou filaments d'actine.

**1.1. Les microfilaments(MF)**

L'actine monomérique s'auto-assemble pour former des microfilaments d'actine, semi-flexibles. Ces microfilaments ont **une structure hélicoïdale double brin. Ils sont polarisés.**

**1.1.1. Base structurale du monomère et du filament d'actine.**

L'actine monomérique est une protéine globulaire. Elle est exprimée en très grande quantité dans les cellules eucaryotes.

L'actine est une protéine fondamentale des cellules musculaires et des cellules non musculaires, . Les séquences des gènes codant pour l'actine sont conservées à 80 pourcent entre les espèces.

**1.1.1.1. Structure de l'actine (monomérique et polymérique)**

La protéine est séparée en deux domaines par un sillon à l'intérieur duquel peuvent se fixer avec une forte affinité un cation divalent calcium ou magnésium et un nucléotide ATP ou ADP

Ces deux domaines sont eux-mêmes divisés en deux sous-domaines .Il est généralement admis que dans les cellules, le monomère d'actine est associé à un cation  $Mg^{2+}$ , et la majorité de l'actine monomérique se trouve liée à un ATP.

Les différences structurales entre les monomères d'actine liés à l'ATP ou à l'ADP semblent mineures. L'actine G ATP favorise la polymérisation, alors que l'actine G ADP favorise la dépolymérisation.

Le filament d'actine se présente sous la forme d'une double hélice avec un diamètre de 7 nm.

Le filament d'actine est polarisé, on distingue l'extrémité barbée ou barbelée(+) de l'extrémité pointue(-).

### **1.1.2. Dynamique de la polymérisation *in vitro***

La réaction de polymérisation de l'actine est classiquement décomposée en trois phases. :

#### **1.1.2.1. Phase de nucléation**

Dans une première phase, dite phase de nucléation, les monomères d'actine s'auto-assemblent d'abord sous forme d'oligomères instables. Dès que les oligomères dépassent la taille d'un trimère, ils adoptent une conformation hélicoïdale, deviennent stables, et la réaction de polymérisation peut s'engager aux deux extrémités du filament d'actine. Cette phase est lente.

#### **1.1.2.2. Phase d'élongation**

Seuls, les monomères d'actine-ATP polymérisent aux extrémités barbée et pointue du filament d'actine. La vitesse de polymérisation au niveau de ces deux extrémités barbée (+) et pointue(-), n'est pas la même, elle est respectivement élevée au niveau de la première et faible au niveau de la seconde.

**1.1.2.3. Phase d'équilibre :** L'actine associée au MF a tendance à hydrolyser son ATP. En effet l'extrémité(+) va avoir tendance à capter en très grande majorité de l'actine-ATP, favorisant la polymérisation à cette extrémité ; l'extrémité(-) étant moins active, l'actine est sous forme d'actine-ADP par conséquent, elle tend vers la dépolymérisation, ce qui fait que la chaîne croît de l'extrémité(+) et décroît de l'extrémité(-).

**1.1.2.3.1.** L'hydrolyse du nucléotide influence la dynamique d'assemblage des filaments d'actine.

Au cours de l'assemblage des filaments d'actine réalisé, en présence d'ATP, le nucléotide ATP lié à l'actine G, dans le filament, peut s'hydrolyser rapidement sous la forme ADP-Pi, puis le phosphate inorganique Pi peut se dissocier.

Contrairement à l'actine monomérique, l'actine filamenteuse ne peut pas échanger son nucléotide. Ainsi, les actines G à l'intérieur d'un filament évoluent toutes d'un état ATP vers un état ADP, mais jamais l'inverse.

**1.1.2.3.2.** Le "turnover simple" des filaments d'actine ou "treadmilling" ou tapis roulant

A l'état stationnaire, la plupart des filaments d'actine auront donc une extrémité barbée composée d'au moins quelques actines G-ATP, alors que les extrémités pointues auront majoritairement des actines G-ADP.

### **1.1.4. Les toxines des microfilaments**

- La cytochalasine B: c'est un alcaloïde qui se fixe sur l'extrémité (+) et bloque la polymérisation et mouvements cessent par dépolymérisation.
- La phalloïdine se lie latéralement au MF et empêche ainsi sa dépolymérisation, en d'autres termes, elle le stabilise.

#### **1.1.4. Les protéines associées à l'actine (ABPs : actin binding proteins)**

Un très grand nombre de protéines annexes permettent l'organisation et la stabilisation des filaments d'actine et assurent la régulation de la polymérisation: protéines de nucléation, de fragmentation, de séquestration et de coiffage ou se déplacent le long des microfilaments, protéines motrices

##### **1.1.4.1. Les protéines motrices**

Les protéines motrices associées à l'actine sont les myosines. Elles sont responsables des mouvements dont les MF sont l'un des acteurs dans les cellules musculaires et non musculaires.

La myosine type I se lie aux MF des cellulaires non musculaires et assure le transport périphérique des vésicules d'endocytose et d'exocytose. La myosine type II des filaments contractiles des cellules musculaires permet la contraction. L'hydrolyse de l'ATP par les têtes de myosine II, permet le déplacement orienté de leurs têtes le long des MF d'actine, en direction de leur extrémité(+)

## **1.2. Les microtubules**

Les microtubules sont des polymères cylindriques, creux et rigides. Ils ont un diamètre extérieur de 25 nm environ. La paroi est un polymère composé d'hétérodimères d'une protéine, la tubuline. Les hétérodimères sont disposés en rangées longitudinales, les protofilaments, alignés parallèlement au grand axe du tubule.

Généralement, le microtubule est composé de 13 protofilaments, mais il existe des microtubules qui sont le résultat de l'assemblage de 11 ou 16 protofilaments

Les microtubules sont polarisés l'extrémité(-) correspond à l' $\alpha$  tubuline, alors que la  $\beta$  tubuline représente l'extrémité (+). Ils sont abondants dans les cellules eucaryotes et particulièrement dans les cellules nerveuses dans lesquelles, ils représentent de 10-20% des protéines totales.

2. Caractéristiques des hétérodimères: chaque hétérodimère résulte d'une liaison forte entre les sous unités  $\alpha$  et  $\beta$  tubuline. Ces dernières lient le GTP; le GTP de l' $\alpha$  tubuline est enfoui à l'intérieur et donc non échangeable, alors que le GTP de  $\beta$  tubuline est exposé à la surface et échangeable, et donc hydrolysable.

## **3. Les types de microtubules**

3.1. **Les microtubules labiles:** représentés par les microtubules cytosoliques, sont:

-très dynamiques, instables, instabilité mise à profit lors de la réorganisation de la cellule ou lors de mitose ou méiose.

-Ils sont sensibles au froid et aux alcaloïdes dépolymérisants

3.1.2. **Les microtubules stables:** Ils ne dépolymérisent jamais et sont stabilisés par des protéines spécifiques. Ils forment des structures spécifiques: axonèmes des cils et flagelle, corpuscules basaux et centrioles.

## **4. Dynamique de polymérisation**

La formation des microtubules à partir des hétérodimères de tubuline passe par trois étapes:

#### 4.1. Phase de nucléation

Les microtubules sont des structures polaires : une extrémité est capable de croissance rapide (extrémité plus), alors que l'autre extrémité(-) se trouve le plus souvent enchâssée dans le centrosome

Le complexe d'anneau  $\gamma$  tubuline du centrosome, nucléé le microtubule et coiffe son extrémités(-).

La nucléation est un phénomène lent.

#### 4.2. Phase d'élongation

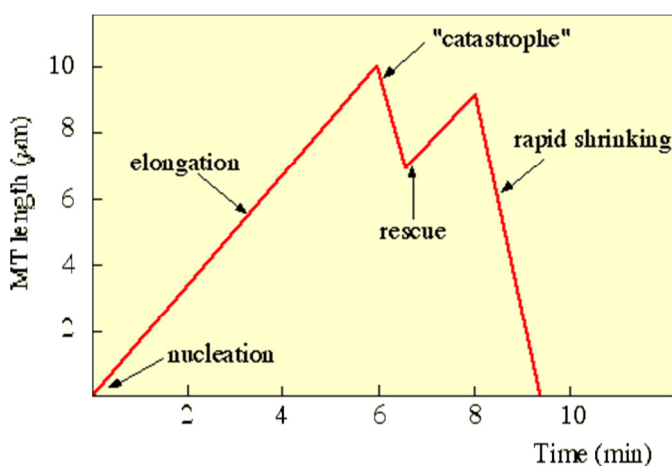
Au cours de la phase d'élongation, les hétérodimères de tubuline  $\alpha$  et  $\beta$ , chargés en GTP sont ajoutés et élaborent des protofilaments, qui s'assemblent latéralement entre eux, formant ainsi des feuilletts. Les feuilletts se replient progressivement sur eux mêmes pour former le microtubule, cylindre, creux et rigide

#### 4.3. Phase d'équilibre

Les microtubules se dépolymérisent et se repolymérisent continuellement, à vitesse variable (de l'ordre de quelques secondes ou quelques minutes), on pense que l'hydrolyse de GTP est à la base de cette instabilité dynamique. Quand un hétérodimère de tubuline s'ajoute à l'extrémité(+) d'un microtubule, seule la molécule de GTP apportée par la  $\beta$  tubuline est hydrolysée en GDP et Pi après un certain temps. L'hydrolyse du GTP change la conformation des sous-unités et affaiblit les liaisons dans le polymère. Les protofilaments peuvent alors se séparer et les dimères de tubuline situés à leur extrémité peuvent se libérer

A l'état d'équilibre, les microtubules s'allongent lentement jusqu'à ce qu'ils passent de façon aléatoire vers une phase de raccourcissement rapide. Cette transition est appelée catastrophe. Leur vitesse de dépolymérisation est alors de presque 1000 dimères/s. Le raccourcissement rapide est interrompu par un autre événement aléatoire, appelé sauvetage, à la suite duquel, le microtubule s'allonge de nouveau à une vitesse régulière. Il arrive qu'un microtubule disparaisse totalement lors de la phase du raccourcissement du fait que sa longueur atteint zéro, avant qu'un événement de sauvetage ne se produise, c'est la fonte.

L'instabilité dynamique est donc un facteur déterminant lors de la mitose (division cellulaire).



Graphique 1: Polymérisation et instabilité dynamique

### 5. Les protéines associées aux microtubules ou MAPs

#### 5.1. Les protéines MAP stabilisatrices des microtubules

Les cellules peuvent modifier l'instabilité dynamique par des protéines qui s'associent aux microtubules sur toute leur longueur : "microtubule associated proteins, MAP2, MAP4 et la protéine Tau (tubule associated

unit). On estime que la présence de ces protéines réduit 50 fois la probabilité de déclenchement d'une catastrophe.

MAP2 est concentrée dans les dendrites des neurones et Tau dans l'axone. MAP4 est exprimée surtout dans les cellules gliales du système nerveux. D'autres protéines stabilisatrices comme la protéine STOP se lie aux microtubules, ce qui les rend résistants à la dépolymérisation par le froid.

## **6. Protéines motrices associées aux microtubules**

Deux familles de protéines motrices interagissent avec les microtubules. Les kinésines qui se déplacent vers l'extrémité plus du microtubule et les dynéines, qui se déplacent vers l'extrémité moins (en direction du centrosome). Ces protéines motrices utilisent l'énergie dérivée de cycles répétés d'hydrolyse de l'ATP pour se déplacer le long du microtubule.

Ces dimères se déplacent à la surface du microtubule, en se fixant uniquement de  $\beta$  tubuline en  $\beta$  tubuline. Ces protéines motrices assurent entre autres, le transport intracellulaire des vésicules d'endocytose et d'exocytose.

## **Chapitre 04 : Biosynthèse dans le Réticulum Endoplasmique**

### **1. Le Réticulum endoplasmique**

Les ribosomes cytoplasmiques synthétisent la plupart des protéines cellulaires qui peuvent rester dans le cytoplasme ou être dirigées vers des organites par des signaux contenus dans la protéine.

#### **4.1. Le réticulum endoplasmique (RE)**

##### **4.1.1. Définition**

Le RE est constitué de tubules et de saccules appelés citernes ; ces éléments sont agencés en un réseau tridimensionnel qui s'étend de l'enveloppe nucléaire jusqu'à la surface cellulaire.

Selon la liaison des ribosomes au RE ou non, on distingue respectivement : le REG (Granulaire) et le REL (Lisse).

##### **4.1.2. Réticulum endoplasmique granulaire (REG)**

Le REG représente le lieu de la synthèse des protéines destinées :

- au RE lui-même
- à l'appareil de Golgi,
- aux lysosomes,
- à la membrane plasmique
- au milieu extracellulaire.

Le REG et l'appareil de Golgi sont distincts de point de vue morphologique et fonctionnel, mais ils entretiennent des relations réciproques étroites par la navette continue de vésicules contenant des protéines et des lipides.

##### **4.1.2.1. Synthèse des protéines destinées au REG**

Selon le modèle ou l'hypothèse du signal, proposé par les biochimistes, la synthèse des protéines destinées au REG comporte :

#### 4.1.2.1.1. Le couplage de la synthèse et de la translocation dans le REG

Elle est récapitulée en ces étapes :

- Synthèse d'un peptide N-terminal, appelé séquence signal, composé d'acides aminés hydrophobes, par un ribosome cytosolique.

- Une protéine ribonucléique G(GTPASE) cytosolique, la SRP (signal recognition particle) qui reconnaît la séquence signal, se lie au ribosome et l'oriente vers le RE

- Suspension (arrêt) de l'élongation du polypeptide par l'interaction de la SRP et le ribosome.

- La liaison de la SRP du complexe SRP-ribosome à son récepteur (protéine d'ancrage) permet l'ancrage du ribosome inhibé à un canal aqueux, appelé, canal de translocation de la membrane du RE.

#### 4.1.2.1.2. Translocation cotraductionnelle dans le REG

La translocation cotraductionnelle se traduit par :

- une dissociation de la SRP de son récepteur et du ribosome par hydrolyse du GTP de la SRP et la reprise de la synthèse.

- une translocation du polypeptide en cours d'élongation par ouverture du canal aqueux

- une interception (empêchement) du passage de petites molécules par adhésion du polypeptide à la paroi du canal de translocation.

- Un recyclage de la SRP et son récepteur pour assurer l'ancrage d'autres ribosomes

#### 4.1.2.1.3. La translocation cotraductionnelle d'une protéine soluble

La protéine en cours d'élongation forme une boucle à l'intérieur du RE, sans jamais être exposée au cytoplasme. La séquence signal incluse dans la bicouche lipidique est clivée par la signal peptidase, localisée dans la lumière du RE.

La traduction continue jusqu'à la fin de la synthèse. Une fois la synthèse terminée, le ribosome se détache et les deux sous unités se séparent.

La séquence signal assure l'orientation des ribosomes vers le RE, mais pas vers d'autres organites qui exigent d'autres signaux, ces organites sont:

- Les mitochondries
- Les peroxysomes
- Le noyau
- Les ribosomes

- **N-Glycosylation**

**Définition** : la N- glycolysation est l'addition d'un oligosaccharide préformé à la fonction amine d'une asparagine d'une protéine soluble ou membranaire, de façon cotraductionnelle.

Elle assure le pliage des protéines natives en les rendant hydrophiles, afin d'empêcher leur agrégation ou bien leur dénaturation.



La N- glycolysation comporte les étapes suivantes :

-La synthèse dans le cytosol d'un oligosaccharide formé de 14 oses : 2 N-acétylglucosamines, 7 mannoses, 5 glucoses.

-La liaison de l'oligosaccharide à la face cytosolique de la membrane du RE par un lipide, le dolichol phosphate.

-Le basculement du glycolipide à travers la bicouche lipidique.

-La rupture de la liaison entre le dolichol phosphate et l'oligosaccharide par une oligosaccharide transférase qui reconnaît l'oligosaccharide porté par le dolichol phosphate

-Le transfert de l'oligosaccharide par la même enzyme, exclusivement, à une asparagine appartenant à une séquence consensus Asn-X- Ser/ Thr (X est un acide aminé quelconque sauf la proline),

- **Le contrôle de qualité**

**Définition :** Le contrôle de qualité est le processus par lequel le RE empêche le transfert des protéines natives, membranaires et solubles, à leurs destinations (RE ou AG) avant qu'elles ne soient correctement pliées et assemblées (des protéines mal pliées peuvent avoir des effets néfastes sur la cellule). Il est assuré par un ensemble de protéines chaperonnes qui permettent :

- le pliage ou enfouissement des domaines hydrophobes des protéines natives afin d'empêcher leur agrégation

-Repliage correct des protéines natives mal pliées.

- Réarrangement des ponts disulfure des protéines natives.

- **Mécanisme**

La protéine Bip, protéine chaperonne, la plus caractérisée (membre de la famille des HSP70 (Heat Shock Protein)) et la plus abondante du RE est une ATPase.

La présence d'un domaine d'hydrophobe exposé d'une protéine native indique que la protéine n'a pas encore fini de se plier. En effet, la protéine Bip se lie aux protéines natives grâce à ces domaines par cycles successifs de liaison et de détachement par hydrolyse de son ATP. Elle protège la protéine native de l'agrégation et lui donne des occasions multiples de réaliser sa conformation appropriée. Lorsque la protéine s'est pliée dans une structure compacte avec ses domaines hydrophobes enterrés. La protéine Bip se dissocie de la protéine native.

La protéine disulfure isomérase (PDI) assure la formation correcte des ponts disulfures (PDI) par catalyse de la formation des ponts disulfure entre les acides aminés, les cystéines de la protéine native, ainsi, elle assure le réarrangement des ponts disulfure qui ont été formés de façon incorrecte.

Les protéines qui ne sont pas pliées, après plusieurs tentatives de pliage sortent par le canal de translocation et seront détruites, après ubiquitination, par le protéasome cytosolique.

## **4.2. Le Réticulum Endoplasmique Lisse (REL)**

Le REL représente l'ensemble des tubules, citernes et vésicules du RE dépourvus de récepteurs de la SRP. Il a pour rôles :

- La synthèse des phospholipides membranaires
- La synthèse et la régulation du taux du cholestérol
- La synthèse des hormones stéroïdes
- La détoxification par hydroxylation et solubilisation des xénobiotiques.
- Stockage du calcium

## **Chapitre05 : La bioénergétique**

### **Les Mitochondries**

#### 5.1. Généralités

L'organisation structurale et moléculaire de la mitochondrie est identique chez tous les eucaryotes, animaux et végétaux..Les mitochondries et les peroxysomes ne font pas partie du système endomembranaire. Des déplacements des mitochondries dans le cytosol font intervenir le cytosquelette (microfilaments, microtubules et leurs protéines associées).

#### 5.2. Morphologie

Les mitochondries peuvent être observées directement à l'intérieur des cellules vivantes en culture, après coloration vitale par :

- Le vert Janus B (Mo visible)
- La rhodamine 123 (microscopie à épi fluorescence)

Elles se présentent sous forme de bâtonnets : de  $7\mu$  et de  $1\mu$  m de  $\emptyset$

#### 5.3. Ultrastructure et composition chimique

L'observation au microscope électronique à transmission montre que la mitochondrie possède deux membranes lesquelles délimitent deux compartiments :

- L'espace intermembranaire
- La matrice mitochondriale

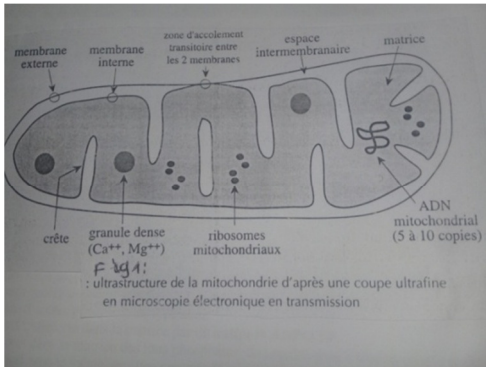
Elle présente des zones d'accolement transitoire au niveau desquels se déroulent des échanges entre le cytosol et la mitochondrie.

##### 5.3.1. La membrane mitochondriale externe

La membrane mitochondriale externe est une bicouche lipidique renfermant plusieurs types de protéines isolées ou constituant des complexes fonctionnels. Ces protéines sont représentées par :

Des perméases non glycosylées, appelées porines, formant des pores aqueux au travers de la bicouche lipidique qui permettent le transport.

- Trois complexes protéiques au niveau des zones d'accolement transitoire entre les membranes mitochondriales externe et interne.
- Des protéines impliquées dans les mécanismes de fusion et de fission (fragmentation)



### 5.3.2. L'espace intermembranaire

- Très étroit, c'est un lieu de transit pour toutes les molécules de taille inférieure à 10kda (ions, protéines) qui traversent d'une manière passive la membrane externe grâce aux porines.
- Il contient également les protons  $H^+$  transporteurs : de la matrice vers l'espace intermembranaire grâce à l'action de 3 des 4 transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire.

- De l'espace intermembranaire vers la matrice par :

- L'ATP- synthase
- Les co-transporteurs
- Les protéines de découplage UCP (uncoupling protein)
  - Il contient aussi des protéines impliquées dans l'apoptose
    - Les procaspases, précurseurs des caspases.
    - Le cytochrome c, hémoprotéine qui circule entre les deux membranes.

Sa libération dans le cytosol induit le clivage des procaspases inactives en caspases actives.

### 5.3.3. La membrane interne

La membrane interne est aussi une bicouche lipidique et présente des replis nombreux ou crêtes mitochondriales.

- Ce dispositif (crête) entraîne une augmentation d'un facteur 3 de sa surface par rapport à celle de la membrane externe (observation au M électronique)
- Le nombre et la surface des crêtes sont corrélés avec la demande en ATP de la cellule.

Les crêtes sont 3 fois plus nombreuses dans les mitochondries des cellules cardiaques (dans lesquelles la demande en ATP est très élevée) que dans celles des hépatocytes (où cette demande est moindre).

- L'ATP-synthase joue un rôle dans la morphologie des crêtes : l'absence de l'ATP-synthase entraîne l'absence de crêtes.
- Une dizaine d'édifices protéiques différents de la membrane interne contribuent aux fonctions essentielles de la mitochondrie.
- Des perméases ou co-transporteurs → co-transport entre l'espace intermembranaire et la matrice de : ATP, Acides gras, des métabolites du cycle de Krebs, ADP, ions phosphate, Pyruvate, de protons  $H^+$ , désoxynucléotides : biosynthèse et à la réparation de l'ADN
- Des complexes protéiques enzymatiques de la chaîne respiratoire.
- Plusieurs copies du complexe de l'ATP-synthase qui produit l'ATP (observées par coloration négative). Ils se présentent sous forme de particules sphériques, baignant dans la matrice mitochondriale et rattachées par une tige à un pied inclus dans la membrane interne.
- Les protéines de découplage ou UCP (uncoupling Protein) assurent le transport des protons de l'espace intermembranaire vers la matrice (dégagement de la chaleur)
- La membrane interne comporte plusieurs canaux ioniques  $Na^+$ ,  $K^+$  et  $Ca^{2+}$
- Dans les cellules endocrines productrices d'hormones stéroïdes, plusieurs molécules de la famille des cytochromes P450 sont ancrées dans la membrane interne, leur site actif baigne dans la matrice (NADPH matriciel qui provient d'une phosphorylation du NADH).

### 5.3.3. La matrice mitochondriale

En microscopie électronique en transmission, elle apparaît comme une substance finement granulaire. On peut y observer :

- Des granules denses aux électrons  $\leq 50nm$  : ce sont des cations
- Des ribosomes mitochondriaux  $\approx 25 nm$  chacun. Ils se distinguent des ribosomes cytoplasmiques par :
  - Leur composition en ARN et en protéines
  - Taille réduite
  - Leur sensibilité à certains antibiotiques proches des ribosomes des procaryotes
- L'ADN mitochondrial, circulaire, organisé en double hélice la mitochondrie en contient plusieurs copies.
- La matrice renferme de très nombreux systèmes enzymatiques
  - $\beta$  oxydation des acides gras, produisant l'acétylcoenzyme A.
  - L'oxydation du pyruvate produisant de l'acétyl-coenzyme A
  - Du cycle de Krebs
  - La synthèse de l'hème, constituant de l'hémoglobine et de la myoglobine, et de certains constituants de la chaîne respiratoire.

### **5.3.4. Les zones d'accolement**

Les zones d'accolement transitoire entre les deux membranes sont des sites d'importation et d'exportation entre le cytosol et la mitochondrie.

- Les complexes d'importation de protéines mitochondriales synthétisées dans le cytosol sous le contrôle du génome nucléaire qui est constitué du :
  - complexe de translocation TOM (translocation outer membrane) de la membrane externe, associé à un récepteur qui permet la fixation à la membrane externe des protéines à importer (ADN et ARN polymérase mitochondriales)
  - et du complexe de translocation de la membrane interne TIM (translocation Inner membrane).
- Un complexe protéique est responsable de l'entrée dans les mitochondries du cholestérol, utilisé pour la synthèse des hormones stéroïdes.
- Les mégacanaux sont fermés dans les conditions de fonctionnement normal des mitochondries. Ils sont impliqués dans les premières étapes de la mort cellulaire, en permettant la sortie massive, dans le cytosol, d'ions calcium de la matrice et de protéines localisées dans l'espace intermembranaire : procaspases et cytochrome C

### **5.4. Rôles physiologiques de la mitochondrie**

La mitochondrie assure plusieurs rôles physiologiques :

- Production de l'ATP
- Synthèse des hormones stéroïdes
- Production de la chaleur chez le nouveau né (graisse brune)
- Séquestration du calcium
- Synthèse de l'hème (noyau pyrrolique)
- Participation à la mort cellulaire.

#### **5.4.1. Production de l'ATP**

La mitochondrie est la principale source d'ATP des cellules eucaryotes.

C'est la dégradation d'une molécule de glucose qui sera prise en exemple, et l'exemple de la navette : glycérol-phosphate pour le transfert à la chaîne respiratoire des électrons portés par le NADH provenant de la glycolyse.

L'énergie est produite dans la matrice mitochondriale sous forme d'ATP par un mécanisme appelé phosphorylation oxydative. Ce mécanisme utilise l'oxygène dissous et s'accompagne de la formation du CO<sub>2</sub> et de l'H<sub>2</sub>O, ce qui correspond à la définition de la respiration cellulaire.

##### **. 5.4.1.1. Les étapes mitochondriales de la respiration cellulaire**

- **Le transport des différents types de molécules**

Le pyruvate, les acides gras, l'ADP et les ions phosphates traversent la membrane externe des mitochondries par l'intermédiaire des porines. Leur concentration dans l'espace intermembranaire est équivalente à leur concentration dans le cytosol.

Ces mêmes molécules ou ions sont transportés dans la matrice mitochondriale au travers de la membrane interne par d'autres perméases de type actif.

- L'ADP est transporté dans la matrice par un antiport ADP/ATP.
- Le transport dans la matrice des ions phosphates, des acides gras à chaîne courte et du pyruvate est couplé au transport dans le même sens des protons H<sup>+</sup> à l'intérieur du même complexe protéique (symport).

- **Les voies métaboliques de la matrice mitochondriale**

Deux voies métaboliques de la matrice mitochondriale produisent de l'acétylcoenzyme A, point de convergence des réactions du catabolisme cytosolique et voie d'entrée obligatoire dans le métabolisme mitochondrial.

- Les acides gras sont oxydés à l'intérieur de la matrice mitochondriale en acétylcoenzyme A, avec production de NADH et de FADH<sub>2</sub>. L'ensemble des réactions de la β-oxydation des acides gras constitue l'hélice de Lynen.
- Le pyruvate provient du catabolisme des aminoacides et des sucres simples (glycolyse).

- **Le cycle de l'acide citrique ou cycle de Krebs**

Au cours d'un cycle de dégradation d'une molécule d'acétyl-coenzymeA, il ya production de :

- 3 molécules de NADH, H<sup>+</sup>, contribuant à la constitution du stock matriciel de ce nucléotide.

Le NADH peut donner du NADPH utilisé par les cytochromes P450 (synthèse des stéroïdes).

- 1 molécule de FADH<sub>2</sub>.
- 1 molécule de GTP → ATP.
- Ainsi du CO<sub>2</sub> et l'H<sub>2</sub>O.

- **Sources des électrons de haute énergie**

Les électrons de haute énergie proviennent de trois sources :

- Ceux portés par les nucléotides réduits NADH et FADH<sub>2</sub> produits dans la matrice par le cycle de Krebs ou l'hélice de Lynen.
- Les électrons du NADH, H<sup>+</sup> cytosolique sont cédés à des molécules navettes (malate et glycérol-phosphate) qui les apportent à la mitochondrie.

Cette voie, qui génère 2ATP, est utilisée dans les mitochondries des neurones du cerveau et des cellules du muscle squelettique.

- La navette malate-aspartate cède les électrons au NADH matriciel, qui les apporte au complexe I de la chaîne respiratoire, générant 3 molécules d'ATP par paire d'électrons. Cette voie est utilisée dans les mitochondries des cellules du foie, du rein et du muscle cardiaque.

Les électrons de haute énergie sont transférés par l'intermédiaire des complexes enzymatiques de la chaîne respiratoire, insérés dans la membrane interne de la mitochondrie

- La chaîne respiratoire
- Les complexes enzymatiques

Les 4 complexes enzymatiques de la chaîne respiratoire sont des édifices moléculaires volumineuse qui renferment des atomes métalliques (fer, cuivre, centres fer- soufre) :

-Le complexe I ou complexe NADH déshydrogénase, est la porte d'entrée dans la chaîne respiratoire des électrons portés par le NADH, H<sup>+</sup> de la matrice mitochondriale.

-Le complexe II ou complexe succinate déshydrogénase, est la porte d'entrée des électrons transportés par le FADH<sub>2</sub>.

-Le complexe III ou complexe b-c<sub>1</sub> .

-Le complexe IV ou complexe cytochrome C oxydase

Les complexes I, III et IV sont aussi des pompes à protons qui utilisent l'énergie d'oxydoréduction libérée. Cependant le complexe II dont l'énergie d'oxydoréduction est faible ne pompe pas de protons.

Les atomes métalliques de ces complexes sont les accepteurs des électrons.

#### ▪ **Le transfert des électrons**

Les électrons sont transportés entre les complexes enzymatiques de la chaîne respiratoire dans l'épaisseur ou à la surface de la membrane interne, par deux molécules de petite taille :

- Ubiquinone ou coenzyme Q : celle-ci amène les électrons des complexes I ou II au complexe III.
- Le cytochrome c amène les électrons du complexe III au complexe IV

Le pH de l'espace intermembranaire (6,8) est plus acide que celui de la matrice mitochondriale ou celui du cytosol, puisque la membrane externe est imperméable aux protons.

Ce gradient est utilisé comme source d'énergie par 2 types d'édifices moléculaires de la membrane interne :

-Le complexe de l'ATP-synthase utilise le gradient de protons pour produire de l'ATP à l'intérieur de la matrice mitochondriale, c'est la phosphorylation oxydative.

L'ATP-synthase peut travailler en sens inverse, hydrolyser l'ATP en ADP et utiliser l'énergie produite pour transporter des protons  $H^+$  de la matrice vers l'espace intermembranaire si le gradient de protons est diminué.

-Trois symports : assurent le transport actif des métabolites indispensables (pyruvate, Acides gras et phosphate) et des ions  $H^+$  : Pyruvate/ $H^+$ ,

Acides gras/ $H^+$ , Ion phosphate/ $H^+$ .

La mitochondrie contrôle l'utilisation du gradient de protons qui est utilisé pour :

-Le transport dans la matrice des ions et des métabolites.

-La production d'ATP grâce à l'ATP synthase.

- les protéines de découplage (UCP)

L'activation du transport de protons par ces protéines UCP diminue la quantité de protons disponibles pour la production d'ATP et conduit à la production de chaleur, thermogénèse (chez le nouveau né→ graisse brune).