

COURS DE METABOLISME

Chapitre 4

Pr C. ZINSOU

PHOSPHORYLATIONS CELLULAIRES

1 - INTRODUCTION - DEFINITION

2 - FORMATION DE L'ATP PAR TRANSFERT D'ENERGIE ET DE GROUPEMENT PHOSPHATE D'UN PHOSPHODERIVE RICHE EN ENERGIE

3 - PHOSPHORYLATION OXYDATIVE

3.1- INTRODUCTION -LOCALISATION

3.2 - ΔG° ' DE L'OXYDATION DE NADH,H⁺ ET DE FADH₂

3.3 - LES GROUPES TRANSPORTEURS D'ES ELECTRONS

3.3.1 - Complexe I - NADH,H⁺ - CoQ Réductase (FP₁)

3.3.2 - Complexe II - Succinate - CoQH₂ réductase (FP₂).

3.3.3 - Complexe III - CoQH₂ - Cytochrome réductase

3.3.4 - Complexe IV - Cytochrome c oxydase

3.3.5 - Organisation du transport des électrons dans la chaîne respiratoire

3.4 - CREATION DE GRADIENT DE DENSITE DE PROTONS

3.4.1 - Gradient de densité de protons

3.4.2 – Calcul de l'énergie libérée pour la production de l'ATP

3.5 - MECANISME DE FORMATION DE L'ATP - Théorie de Mitchell

3.6 – INHIBITEURS DU COMPLEXE ATP SYNTHETASE

3.6.1 – Oligomycine

3.6.2 – Les découplants

3.7 – TRANSPORT DE MOLECULES A TRAVERS LA MEMBRANE MITOCHONDRIALE INTERNE

3.7.1 – Système ADP/ATP translocase

3.7.2 – Réoxydation des NAD,H⁺ cytosoliques / les navettes

3.8 – DEFICIENCES HERITEES LIEES A LA PHOSPHORYLATION OXYDATIVE (PCEM1)

4 - PHOTOPHOSPHORYLATION

4.1 - DEFINITION -LOCALISATION

4.2 - LES GROUPES TRANSPORTEURS D'ELECTRONS

4.2.1 - Photosystème II ou PSII.

4.2.2 - Le Photosystème I (PSI)

4.2.3 - Groupe 3 : Complexe intermédiaire ou Complexe bf

4.2.4 -Organisation du transport des électrons

4.3 - CREATION DE GRADIENT DE PROTONS

NB : Voir illustrations et figures sur le document de travail

1 - INTRODUCTION - DEFINITION

Le premier Principe de la thermodynamique dit : “ l'énergie ne peut ni être créée ni être détruite, elle ne peut qu'être transformée ”. Par opposition aux êtres inanimés, les êtres vivants sont capables de transformer l'énergie en ses différentes composantes, énergie chimique (ATP), travail, chaleur, etc., ce qui leur permet entre autres d'édifier et de maintenir une structure organisée au cours de leur évolution. La seule source universelle d'énergie pour la cellule est l'ATP. Pour former l'ATP la cellule dispose de deux sources :

- le catabolisme des glucides, des lipides et accessoirement des acides aminés et des protéines. La cellule va récupérer une partie de l'énergie des liaisons entre les différents atomes des composés dégradés.

- la lumière. Seules les organismes chlorophylliens sont capables d'exploiter cette source d'énergie et de la convertir en ATP.

Les organismes vivants sont le siège de réactions chimiques au cours desquelles varie l'énergie libre susceptible d'être utilisée pour la formation de l'ATP. En fait il existe trois modalités de formation d'ATP dans la cellule :

- L'ATP est formé par transfert de groupement phosphate et d'énergie à partir d'un phosphodérivé riche en énergie.

- L'ATP est formé à l'issue d'un ensemble de processus de dégradations pendant lesquels les glucides, lipides (parfois les protéines) sont oxydés en CO₂ avec production de cofacteurs réduits riches en énergie (NADH, H⁺ et FADH₂). Ces derniers alimentent le transport des électrons dans la chaîne respiratoire, à laquelle est couplée la formation de l'ATP. Il s'agit de la **phosphorylation oxydative**.

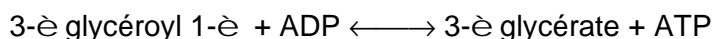
- L'ATP peut être formé chez les végétaux chlorophylliens, couplé au transport des électrons dans la photosynthèse. Les électrons transportés proviennent de la photolyse de l'eau. Ce processus est appelé conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique (ATP). Il s'agit de la **photophosphorylation** ou **phosphorylation photosynthétique**.

2 - FORMATION DE L'ATP PAR TRANSFERT D'ENERGIE ET DE GROUPEMENT PHOSPHATE D'UN PHOSPHODERIVE SUR L'ADP

Nous citerons seulement deux exemples. Ils constituent les deux réactions sur lesquelles est basée la production de l'énergie dans la glycolyse.

2.1 - LE 3-PHOSPHOGLYCEROYL-1-PHOSPHATE (PGP)

Il est formé par oxydation du 3-phosphoglycéraldéhyde. Le groupement phosphate fixé sur la fonction carboxylique est très riche en énergie. Son hydrolyse délivre une variation d'énergie libre (ΔG°) égale à -11,8 kcal/mol alors que la formation de l'ATP ne nécessite que +7.3 kcal/mol. La réaction est catalysée par la **3-phosphoglycérate kinase** :



2.2 LE PHOSPHENOLPYRUVATE (PEP)

Ce phosphodérivé riche en énergie est formé dans la glycolyse par départ d'une molécule d'eau sur le 2-è glycérate. Le PEP est le phosphodérivé le plus riche en énergie formé par la cellule avec une ΔG° d'hydrolyse égale à -14,8 kcal/mol. La réaction de transfert de l'énergie et du groupement phosphate est catalysée par la **pyruvate kinase** :



3 - PHOSPHORYLATION OXYDATIVE

3.1- INTRODUCTION - LOCALISATION

En suivant la logique de la production de l'énergie à partir du glucose en présence d'oxygène nous arrivons après l'oxydation des 6 carbones au bilan suivant :



Comme nous pouvons le constater, seules 4 liaisons phosphates, riches en énergie, sont directement formées, ce qui représente seulement 10,5 % de l'énergie totale susceptible d'être libérée par le glucose. Mais son oxydation complète en CO_2 , dans la cellule, s'accompagne de la formation de 10 NADH,H^+ et de 2 FADH_2 . Ces derniers alimentent le transport d'électrons dans les mitochondries des hétérotrophes et des autotrophes, à travers des séquences de réactions d'oxydoréductions respiratoires, jusqu'à l'oxygène, accepteur final. Ce processus est responsable de la formation de la majeure partie de l'ATP. La synthèse d'ATP, couplée à ce transport d'électrons, est appelée **Phosphorylation oxydative**. Tous les êtres vivants, pouvant vivre en présence d'oxygène, possèdent la capacité de produire de l'ATP par phosphorylation oxydative.

La phosphorylation oxydative se déroule dans les mitochondries possédant :

- Ø une membrane externe, semi-perméable
- Ø une membrane interne, présentant des invaginations appelées crêtes, intrinsèquement imperméable aux ions et aux petites molécules. Ces derniers ne peuvent la traverser que s'ils disposent de transporteur spécifique. Elle renferme les différents complexes impliqués dans le transport d'électrons et la synthèse de l'ATP.
- Ø un espace intermembranaire
- Ø un milieu intérieur, appelé matrice, entouré par la membrane interne.

Chaque membrane ou compartiment possède ses enzymes ou ses complexes spécifiques, voir tableau 39, résumant la distribution des enzymes dans la mitochondrie.

3.2 - VARIATION D'ENERGIE LIBRE D'OXYDATION DE NADH,H^+ ET DE FADH_2

Les deux principaux coenzymes, donneurs d'électrons dans la chaîne respiratoire, sont le NADH,H^+ et le FADH_2 . Les électrons sont transportés jusqu'à l'oxygène. L'énergie libre d'oxydation de NADH,H^+ et de FADH_2 peut être calculée à partir de la formule liant ΔE° et ΔG° . Les réactions globales d'échange des électrons entre les couples rédox sont :



L'énergie libérée par l'oxydation de ces cofacteurs réduits est disponible au niveau de la cellule pour la production de l'ATP mais la cellule ne peut supporter de brusques variations de potentiel ni d'énergie libre de telle ampleur, qui conduiraient à sa destruction. Pour s'en protéger la cellule met en œuvre une séquence de groupes de transporteurs. Les électrons sont alors transportés par étape à travers une série de complexes multi-enzymatiques. La variation de potentiel ou d'énergie se fait donc par fractions et par escaliers depuis le cofacteur réduit jusqu'à l'oxygène.

3.3 - LES GROUPES TRANSPORTEURS DES ELECTRONS

On distingue 4 groupes qui sont des complexes multi-enzymatiques, voir figure 40 :

- Ø Complexe I - NADH,H⁺ - CoQ Réductase (FP₁)
- Ø Complexe II - Succinate - CoQ Réductase (FP₂).
- Ø Complexe III – CoQH₂ - Cytochrome c réductase
- Ø Complexe IV - Cytochrome c oxydase

3.3.1 - Complexe I - NADH,H⁺ - CoQ Réductase (FP₁)

C'est un complexe multi-enzymatique qui transporte les électrons de NADH,H⁺ au coenzyme Q appelé encore Ubiquinone à travers une séquence où apparaissent des protéines Fer-Soufre (FeS): La circulation des électrons est spontanée et se fait dans le sens d'une augmentation du potentiel.

NADH,H⁺ ® FMN ® Fe-S ® CoQ.

L'enzyme principale de ce complexe I est la **NADH,H⁺ déshydrogénase** à FMN. C'est une flavoprotéine appelée FP1, de masse moléculaire de 250 000 daltons. Cette enzyme est inhibée par l'Amtyal, la roténone et la ptéricidine. L'un de ces composés inhibe le transport des électrons dans le complexe I.

3.3.2 - Complexe II - Succinate - CoQ réductase (FP₂).

Ce complexe enzymatique transporte les électrons du succinate jusqu'au coenzyme Q. L'enzyme principale du complexe est la **succinate déshydroogénase** à FAD. C'est la flavoprotéine FP₂. Ici encore les protéines FeS interviennent pour donner la séquence suivante :

Succinate .® FAD ® (Fe-S) ® CoQ.

D'autres complexes de moindre importance, non impliqués dans la chaîne respiratoire, transportent aussi des électrons jusqu'au niveau du coenzyme Q pour alimenter le transport des électrons. Les plus importants sont les suivants :

- **Complexe Acyl-CoA déshydrogénase (FP₃).** Enzyme de la β-oxydation des acides gras
R-CH₂-CH₂-CO-SCoA ® FAD ® (Fe-S) ® CoQ.

- **Glycérol 3-phosphate déshydrogénase (FP₄) mitochondriale à FAD.** C'est aussi une flavoprotéine.

Glycérol 3-è ® FAD ® (Fe-S) ® CoQ

3.3.3 - Complexe III - CoQH₂ - Cytochrome c réductase

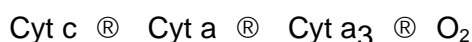
Ce complexe multi-enzymatique transporte les électrons entre le coenzyme Q réduit (CoQH₂) et le cytochrome c suivant la séquence suivante :



Le transfert des électrons dans ce complexe est spontané. Il est inhibé entre le cyt b et le cyt c₁ par l'ANTIMYCINE A.

3.3.4 - Complexe IV - Cytochrome c oxydase

Il transporte les électrons jusqu'à l'oxygène. On obtient :



Le transfert des électrons entre le cyt a₃ et l'oxygène est inhibé par l'azide, par le CO et par les cyanures qui constituent des poisons respiratoires violents,

3.3.5 - Organisation du transport des électrons dans la chaîne respiratoire

L'organisation du transport montre l'ordre d'intervention des différents complexes et coenzymes. (Figure 40). Deux coenzymes, le coenzyme Q et le cytochrome c ne sont pas fixés aux membranes et peuvent s'y mouvoir.

3.4 - CREATION DE GRADIENT DE DENSITE DE PROTONS

3.4.1 - Gradient de densité de protons

Lors du transport des électrons un gradient de densité de protons (gradient électrochimique) est créé à travers la membrane mitochondriale interne. Des protons sont pompés de façon unidirectionnelle de la matrice vers l'espace intermembranaire. Au niveau des complexes I, III et IV. il existe, dans la membrane mitochondriale interne, des complexes protéiques qui se comportent comme des pompes à protons, alimentées par l'énergie libre fournie par le transport des électrons. Ceci constitue la théorie chimio-osmotique postulée par P. Mitchell en 1968.

Le pH à l'intérieur de la matrice augmente et devient supérieur à celui de l'espace intermembranaire. Il se crée un ΔpH négatif. Les protons sont pompés au niveau de 3 sites (voir figure 41) :

- site 1 : Complexe NADH,H⁺ - CoQ réductase (FP1)
- site 2 : Complexe CoQH₂ - Cytochrome c réductase
- site 3 : Cytochrome c oxydase

Le passage des électrons à chaque site crée un ΔE°. Le ΔG° correspondant sera utilisé pour la synthèse de l'ATP. Ainsi l'oxydation de NADH,H⁺, dont les électrons circulent à travers les 3 sites, provoque la formation de 3 ATP; celle de FADH₂, dont les électrons entrent au niveau du site 2 provoque la formation de 2 ATP. Les électrons qui entrent au niveau du site 3 permettent la formation de 1 ATP, voir figure 41.

La création d'un gradient de densité de protons par le flux des électrons à travers les 3 sites de conservation de l'énergie implique que les protéines de transport de protons fonctionnent de façon irréversible et asymétrique de telle façon que les protons puissent être pompés du côté matriciel vers le côté cytoplasmique.

3.4.2 – Calcul de l'énergie libérée pour la production de l'ATP

Le gradient électrochimique ΔV (exprimé en volt) créé par le déplacement d'une mole de protons est donné par la formule dans laquelle $\Delta \Pi$ (= 0,14 V) est le potentiel de membrane ; ΔpH est égal à $-1,4$ par mole de H^+ transporté. On en déduit :

$$\Delta V = \Delta \Pi - 2.3 RT \Delta \text{pH} / F = 0.14 - 0.06 * (-1,4) = 0.224 \text{ V.}$$

$$\Delta G^\circ = - 96500 * 0.224 = - 21.6 \text{ kJ/mol.}$$

On voit que, pour couvrir les $+30.5 \text{ kJ/mol}$ nécessaires à la synthèse de l'ATP, il faut déplacer au niveau de chaque site au moins 2 moles de protons.

3.5 - MECANISME DE LA SYNTHÈSE DE L'ATP - Théorie de Mitchell

Les étapes sont les suivantes :

- Ø En tout premier lieu, le transport des électrons à travers la chaîne respiratoire est nécessaire.
- Ø La formation de l'ATP exige la création de gradient de densité de protons entre la matrice et l'espace intermembranaire. c'est le potentiel électrochimique créé qui fournit l'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP.
- Ø Une fois le gradient créé, la synthèse de l'ATP est effectuée par une enzyme contenue dans des protubérances sphériques situées sur le côté matriciel de la membrane mitochondriale interne. Ces sphères sont connues sous le nom de facteur de couplage 1 ou F1. Son rôle physiologique est de catalyser la synthèse de l'ATP. Il contient l'ATPase ou l'ATP synthétase.
- Ø A la base de F1 et constituant son pédoncule membranaire, il existe une autre unité protéique essentielle appelée Fo ou canal protonique. La liaison entre Fo et F1 est assurée par plusieurs autres protéines dont l'ensemble est le complexe Fo-F1. Le facteur Fo assure le reflux des protons de l'espace intermembranaire vers la matrice à travers la membrane interne et permet la libération de l'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP.

Quant à la synthèse de l'ATP on sait peu de choses. On pense que son initiation débute grâce à l'action directe du flux de protons à travers Fo sur F1. Le P_i est activé et, simultanément, est attaqué par l'ADP pour donner l'ATP (voir figure 42).

La vitesse de phosphorylation oxydative est conditionnée par le besoin en ATP. Dans les conditions physiologiques le transport des électrons est étroitement lié à la synthèse de l'ATP. Le facteur le plus important qui détermine la vitesse de phosphorylation est le taux d'ADP dans la cellule. Le transport des électrons, nécessaire à la formation du gradient de densité de protons, et la synthèse de l'ATP sont deux processus couplés. Sur le plan expérimental on a montré que l'ADP stimule la respiration en présence de NADH, H^+ et entraîne la conversion de l'ADP en ATP. La régulation de la vitesse de phosphorylation oxydative par le taux d'ADP est appelée **contrôle respiratoire**. La signification physiologique est évidente. La consommation d'ATP entraîne l'augmentation du taux d'ADP qui constitue un signal important qui déclenche l'écoulement des électrons dans la chaîne respiratoire à partir de NADH, H^+ et de FADH_2 .

3.6 – INHIBITION DE LA SYNTHÈSE DE L'ATP

La formation de l'ATP utilise l'énergie mise en réserve par le potentiel électrochimique créé lors de la formation du gradient de densité de protons. Elle entraîne donc la dissipation de l'énergie. Par le reflux des protons vers la matrice elle permet aussi la neutralisation du gradient électrique (relaxation). Plusieurs composés peuvent affecter le fonctionnement de ce complexe.

3.6.1 - Oligomycine :

C'est un antibiotique. Elle se fixe sur le canal protonique (Fo) et le bloque, empêchant ainsi le reflux des protons vers la matrice. La synthèse de l'ATP et la relaxation de la membrane sont donc inhibées. Par voie de conséquence le transport des électrons dans la chaîne respiratoire se trouve à son tour arrêté. En résumé l'oligomycine bloque le transport des électrons et la phosphorylation de l'ADP d'où inhibition de la phosphorylation oxydative.

3.6.2 - Les découplants

Ce sont souvent des transporteurs lipophiles de protons. Le composé souvent cité est le **2,4-dinitrophénol**. Il diffuse à travers la membrane mitochondriale interne et peut ainsi transporter des protons d'un lieu à un autre. Par ce fait il annule le gradient de densité de protons associé au transport des électrons. Les découplants inhibent la phosphorylation sans perturber le transport des électrons. L'énergie libre fournie par le transport des électrons est, dans ce cas, entièrement dissipée sous forme de chaleur. Cette production d'énergie en présence de découplant prend le nom de thermogénèse. Les animaux et les humains développent un tissu adipeux spécial, appelé graisse brune. Ce dernier est très riche en mitochondries qui possèdent, dans leur membrane interne, une protéine découplante appelée thermogénine. Après la création du gradient, les protons, au lieu de retourner à la matrice par le canal protonique (Fo), sont acheminés par la thermogénine pour produire de la chaleur plutôt que de l'ATP. Ce processus est sollicité pour la lutte contre le froid et pour le maintien de la température corporelle des animaux en hibernation.

3.7 – TRANSPORT DE MOLECULES A TRAVERS LA MEMBRANE MITOCHONDRIALE INTERNE

3.7.1 – Système ADP/ATP translocase

L'ATP est synthétisé dans la mitochondrie qui n'est pas le lieu d'utilisation. Il doit être transporté hors de la mitochondrie après formation. Le transport de l'ATP est assuré par le système Adénine nucléotide translocase (ADP/ATP translocase) qui couple la sortie d'une molécule d'ATP matriciel à l'entrée d'une molécule d'ADP cytosolique. Ce système évite l'engorgement de la mitochondrie et règle le flux d'ATP et d'ADP. Cette translocase est localisée dans la membrane mitochondriale interne. Elle représente 6 % des protéines totales de la mitochondrie. Le fonctionnement de ce système peut être inhibé par une toxine végétale : l'**atractyloside**, qui empêche l'entrée de l'ADP dans la mitochondrie, ce qui arrête la formation de l'ATP.

3.7.2 – Réoxydation des NADH,H⁺ cytosoliques / Régénération du pouvoir oxydant de la glycolyse : les navettes

Le NADH,H⁺ a deux origines :

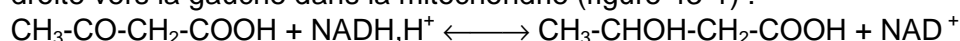
- ∅ cytosolique. Il est formé essentiellement dans la réaction d'oxydoréduction de la glycolyse, par consommation de NAD⁺ (pouvoir oxydant de la glycolyse).
- ∅ mitochondriale. Il est formé dans les réactions d'oxydation du pyruvate, des acides gras et du cycle de Krebs. Le NADH,H⁺ formé dans ces conditions est déjà à l'intérieur de la mitochondrie et sa réoxydation est assurée par le transport des électrons jusqu'à l'oxygène par la chaîne respiratoire.

La réoxydation de NADH,H⁺ en NAD⁺, indispensable au maintien de l'activité glycolytique n'est pas assurée dans le cytosol des organismes aérobies et n'est possible que si ses électrons sont transportés dans la mitochondrie et jusqu'à l'oxygène. La seconde difficulté vient du fait que le NADH,H⁺ ne peut pas traverser la membrane mitochondriale interne qui ne dispose pas de transporteur pour les coenzymes nicotiniques (NADH,H⁺ et NAD⁺). Pour contourner ces difficultés, la cellule a développé des navettes qui assurent le transport des électrons et des protons du cytosol dans la matrice à travers la membrane mitochondriale.

Le principe est simple. La navette est assurée par des composés qui peuvent être transportés, sous forme oxydée ou réduite, à travers la membrane mitochondriale interne grâce à des transporteurs spécifiques. Elle utilise l'interconversion des fonctions cétone et alcool secondaire. Le composé transporteur oxyde, dans le cytosol, le NADH,H⁺ en récupérant les électrons et les protons. Il traverse la membrane interne et restitue, en se réoxydant, les électrons et les protons à NAD⁺ ou FAD mitochondrial. Il retourne ensuite dans le cytosol. Les navettes sont au nombre de 3 (Voir figure 43).

∅ Navette β -Hydroxybutyrate/acétoacétate.

Elle est basée sur la réaction ci-dessous catalysée par la ***β -Hydroxybutyrate déshydrogénase***. La réaction se fait de gauche vers la droite dans le cytoplasme et de droite vers la gauche dans la mitochondrie (figure 43-1) :



∅ Navette 3-è Glycérol/3-è dihydroxyacétone

La deuxième navette utilise l'interconversion du 3-è dihydroxyacétone et du 3-è glycérol. La réaction est catalysée par la ***3-è glycérol déshydrogénase*** à NADH,H⁺/NAD⁺ dans le cytoplasme et à FADH₂/FAD dans la matrice mitochondriale. Le transport des électrons et des protons est représenté sur la figure 43-2.

∅ Navette Aspartate/malate

La 3^e navette est plus compliquée car elle suppose d'abord la formation de l'oxaloacétate par une réaction de transamination entre l'aspartate et l' α -cétoglutarate. L'oxaloacétate formé ne dispose pas de transporteur. Il est réduit en malate par les électrons et les protons de NADH,H⁺ cytosolique. Le malate, l'aspartate et l' α -cétoglutarate sont capables de traverser la membrane mitochondriale interne. L'interconversion du malate et de l'oxaloacétate est catalysée par la ***malate déshydrogénase***. Les réactions dans le cytosol et dans la matrice sont illustrées sur la figure 43-3.

3.8 – DEFICIENCES HERITEES LIEES A LA PHOSPHORYLATION OXYDATIVE

A l'attention des étudiants de PCEMI

La mitochondrie contient environ 100 protéines. Treize des protéines, engagées dans le transport des électrons et dans la synthèse de l'ATP, sont synthétisées dans la mitochondrie à partir de l'ADN mitochondrial. Les autres sont synthétisées dans le cytosol et importées dans la mitochondrie. Les défauts rencontrés dans la phosphorylation oxydative sont dus aux mutations intervenues dans le DNA mitochondrial (provenant uniquement de la mère). Ces défauts affectent essentiellement les tissus grands consommateurs d'ATP comme le foie, le muscle cardiaque et squelettique, le cerveau et les reins. L'une des déficiences graves rencontrée est la neuropathie optique héréditaire de Leber. Elle entraîne une perte bilatérale de la vision centrale consécutive à une insuffisance de production de l'ATP.

4 - PHOTOPHOSPHORYLATION

La phosphorylation oxydative permet à tous les êtres vivants, hétérotrophes et autotrophes, pouvant vivre en présence d'oxygène, de fabriquer de l'ATP à partir de composés énergétiques, essentiellement glucides et lipides. Chez les autotrophes, végétaux et microorganismes chlorophylliens, il existe une voie importante de production de l'ATP à la lumière, par conversion de l'énergie lumineuse. Dans ces conditions la synthèse d'ATP à partir d'ADP et de P_i est indépendante de toute oxydation liée à l'oxygène. Sur le plan biochimique, les réactions de la phase lumineuse conduisent à la formation de l'énergie sous forme d'ATP et de pouvoir réducteur sous forme de $NADPH, H^+$. Ces deux composés ATP et $NADPH, H^+$ sont essentiellement consommés au cours de l'assimilation du CO_2 en présence de H_2O pour la synthèse des glucides (Cycle de Calvin). Le processus de production d'ATP couplée au transport des électrons dans la chaîne photosynthétique est la photophosphorylation ou phosphorylation photosynthétique.

4.1 - DEFINITION - LOCALISATION

La photophosphorylation est la synthèse de l'ATP à partir de l'ADP et du P_i , couplée au transport des électrons au cours de la photosynthèse. Elle est sous la dépendance de la lumière. Les électrons sont fournis par la photolyse de l'eau. Elle est aussi définie comme la conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique sous forme d'ATP.

La photophosphorylation se déroule dans les chloroplastes des végétaux et des algues, et dans la membrane plasmique ou dans les chromatophores des bactéries photosynthétiques. Le chloroplaste a une structure comparable à celle de la mitochondrie mais avec une taille plus grande variant de 1 à 10 nm. Comme la mitochondrie il possède son propre ADN. On distingue :

:

- ∅ une membrane externe, unique et continue très fragile, hautement perméable aux petites molécules et aux ions.

- ∅ une membrane interne continue, moins perméable et entourant un vaste espace central appelé STROMA. La membrane interne du chloroplaste contient un certain nombre de transporteurs de molécules chimiques notamment l'ATP, les acides dicarboxyliques. C'est le site d'interaction entre le chloroplaste et le cytoplasme. Contrairement à la membrane interne des mitochondries, elle n'est pas repliée en crêtes et ne contient pas les complexes de transport d'électrons.
- ∅ un espace intermembranaire séparant les deux membranes.
- ∅ Le système photosynthétique qui absorbe la lumière, les complexes de transport des électrons, les enzymes et protéines de synthèse de l'ATP sont contenus dans une troisième structure intrachloroplastique appelée **thylakoïde** (figure 45). La membrane des thylakoïdes est imperméable aux molécules et aux ions. Elle serait l'équivalent de la membrane mitochondriale interne.
- ∅ La membrane thylakoïde enferme un espace intérieur : espace intrathylakoïde.

On distingue deux types de chloroplastes Voir Figure 47 :

- les chloroplastes à granums (grana), situés dans les cellules mésophylliennes des graminées tropicales. Ils constituent le type unique le plus représenté dans les autres plantes, les algues vertes, etc...
- les chloroplastes sans granums situés dans les cellules périvasculaires des graminées tropicales, cellules à haute production photosynthétique.

4.2 - LES GROUPES TRANSPORTEURS D'ELECTRONS

Comme dans la chaîne respiratoire, le transport des électrons est assuré par des complexes multi-enzymatiques au nombre de 3 :

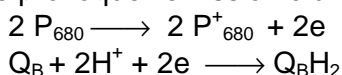
- Le Photosystème II (PSII) auquel est associée la photolyse de l'eau
- Le Photosystème I (PSI)
- Le complexe intermédiaire ou le complexe bf

4.2.1 - Photosystème II ou PSII.

Le photosystème II, localisé dans les régions accolées des granums, est organisé comme suit,

- ∅ un centre réactionnel appelé P_{680} dont le potentiel rédox standard est $E^{\circ} = + 0.90 \text{ V}$. Le P_{680} est un complexe formé d'une chlorophylle a et d'une protéine. Ce complexe absorbe à 680 nm d'où le nom de P_{680} .
- ∅ un centre collecteur d'énergie contenant des chlorophylles a, des chlorophylles b, des caroténoïdes, des phéophytines (chlorophylles privées de l'ion Mg), etc.
- ∅ deux types de plastoquinones : Q_A fortement associée à des protéines membranaires, Q_B moins liée à ces protéines. Ce sont des accepteurs d'électrons provenant du centre réactionnel.

La séquence des réactions provoquées par l'activation du centre réaction par la lumière provoque l'émission d'un électron par chaque P_{680} et son transport jusqu'à Q_B :

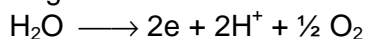


Cette dernière quinone une fois réduite se dissocie de ses protéines et s'éloigne par diffusion pour réduire une autre plastoquinone PQ.

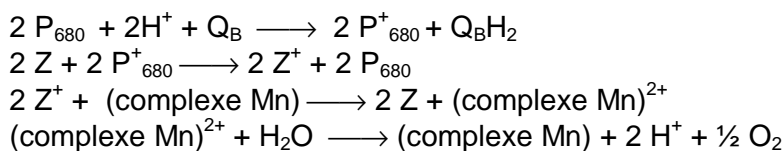
Pour éjecter les deux électrons du centre réactionnel ($E^{\circ}=+0,90$ V) et leur transport jusqu'aux quinones accepteuses ($E^{\circ}=0$ V) il a fallu apporter de l'énergie, fournie par la lumière :

$$\Delta G^{\circ} = - 46 (0 - 0.9) = + 41.4 \text{ kcal/mol.}$$

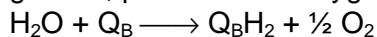
Pour compenser le déficit de charge créé sur les P_{680}^{+} la dissociation de l'eau apporte les électrons nécessaires. Ce processus est appelé **photolyse de l'eau**, qui fait partie intégrante de PS II.



Le transfert des électrons provenant de l'eau se fait un à un vers le P_{680}^{+} grâce à un "Complexe de photolyse" de l'eau. Le donneur d'électrons dans ce complexe est un résidu de tyrosine, appelé Z, de la protéine D1 du centre réactionnel du PSII. Le complexe de tyrosine récupère ses électrons d'un autre complexe, (complexe Mn), qui reçoit à son tour les électrons de l'eau. La séquence des réactions est la suivante :



Le bilan du transfert des électrons dans le photosystème II conduit à une réaction globale, productrice d'oxygène :



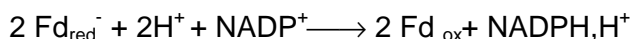
4.2.2 - Le Photosystème I (PSI)

Il est localisé dans les régions non accolées des thylakoïdes et est organisé comme suit,

- Ø un centre réactionnel appelé P_{700} dont le potentiel rédox standard est $E^{\circ} = + 0.43$ V. Le P_{700} est un complexe formé d'une chlorophylle a et d'une protéine. Ce complexe absorbe à 700 nm d'où le nom de P_{700} .
- Ø un centre collecteur d'énergie contenant des chlorophylles a et des chlorophylles b
- Ø Un accepteur A_0 dont la structure est très proche de celle d'une chlorophylle
- Ø Un accepteur A_1 qui est une phylloquinone
- Ø une Ferrédoxine, protéine Fer-Soufre, de potentiel rédox standard $E^{\circ} = - 0.42$ V, faiblement liée à la membrane

Le transport des électrons est analogue à celui du PSII. Les électrons arrachés aux P_{700} sont captés par le complexe A_i formé de A_0 , A_1 et A_2 . Les électrons passent de A_0 (phéophytine) à la phylloquinone (A_1) puis à A_2 . Ils sont transférés par l'intermédiaire de protéines Fer-Soufre à la ferrédoxine faiblement liée à la membrane thylakoïde. Les électrons échouent finalement au niveau de $NADP^{+}$ par l'intermédiaire d'une flavoprotéine, appelée **ferrédoxine-NADP⁺ oxydoréductase**.

La réaction résultante est :



Le P₇₀₀ oxydé récupère ses électrons de la plastocyanine une protéine soluble contenant du cuivre.

Le transport d'électrons du P₇₀₀ jusqu'à la ferrédoxine nécessite l'apport de l'énergie fournie par la lumière :

$$\Delta G'^{\circ} = -46 \Delta E'^{\circ} \longrightarrow -46 (-0.42 - 0.43) = +39 \text{ kcal/mol}$$

4.2.3 – Complexe III : Complexe bf ou Complexe intermédiaire

Les électrons stockés au niveau de Q_BH₂ sont transportés jusqu'au niveau de P₇₀₀ par l'intermédiaire de protéines membranaires connues sous le nom de complexe bf et une plastocyanine. Le premier cytochrome est du type b (b6) contenant deux groupements héminiques, le deuxième est le cytochrome f. Le transport se fait par l'intermédiaire d'une protéine fer-soufre.

Le fonctionnement de ce complexe est analogue à celui du complexe III des mitochondries, qui transporte les électrons du CoQH₂ (liposoluble) au cyt c (hydrosoluble). Dans la membrane thylakoïde les électrons sont transportés de Q_BH₂ (liposoluble) à la plastocyanine (hydrosoluble). Le transport des électrons au niveau du complexe bf, qui se comporte comme une **pompe à protons**, entraîne la formation d'un gradient de densité de protons. Ces derniers sont pompés du stroma vers l'intérieur du thylakoïde. Ce gradient sera indispensable à la synthèse de l'ATP. Le transport des électrons dans ce complexe se fait dans le sens d'une augmentation du potentiel, ce qui entraîne entre PQ et le cytochrome f une libération d'énergie qui peut être estimée comme suit :

$$\Delta G'^{\circ} = -46 (+0.365 - 0) = -16.8 \text{ kcal/mol.}$$

4.2.4 - Organisation du transport des électrons

Il existe deux types de transport d'électrons:

- Le transport acyclique ou non cyclique

Le flux d'électrons met en jeu les deux photosystèmes et le complexe intermédiaire. Les électrons arrachés à l'eau sont acheminés jusqu'au NADP⁺; le flux d'électrons est non cyclique. Il lui est associé une synthèse d'ATP, appelée **Photophosphorylation acyclique**, et la production d'oxygène. Voir figure 45 et 46).

- Le transport cyclique

Le second flux d'électrons met en jeu uniquement le photosystème I et une partie du complexe intermédiaire. Les électrons éjectés du PSI, activé par la lumière, reviennent au PSI à travers le cyt.b₆, le cyt.f et la plastocyanine. La synthèse d'ATP qui y est liée est appelée Photophosphorylation cyclique. Son fonctionnement n'entraîne ni formation de NADPH, H⁺ ni dégagement d'oxygène. Voir figures 45 et 46.

4.3 - CREATION DE GRADIENT DE DENSITE DE PROTONS

L'analogie entre les propriétés membranaires de la membrane mitochondriale interne et celles des thylakoïdes laissait présager des fonctionnements similaires à savoir que la synthèse de l'ATP est couplée au transport des électrons. Ce couplage est assuré par la création de gradient de densité de protons, découverte par Jagendorf en 1966. Dans le chloroplaste on observe que :

- ∅ les centres réactionnels, les centres collecteurs d'énergie lumineuse, les protéines impliquées dans le transport des électrons et l'ATP synthétase sont localisés dans la membrane thylakoïde.
- ∅ La photophosphorylation ne peut se faire que si la membrane thylakoïde est intacte.
- ∅ la membrane thylakoïde est imperméable aux protons.
- ∅ La phosphorylation peut être découplée par des agents chimiques qui inhibent la synthèse de l'ATP.
- ∅ la synthèse de l'ATP est assurée par un complexe CF_o-CF₁ analogue à celui rencontré dans la membrane mitochondriale interne.

L'écoulement des électrons le long du flux non cyclique ou cyclique crée un gradient de densité de protons à travers la membrane des thylakoïdes au niveau du complexe bf qui fonctionne comme une pompe à protons. Les protons sont pompés du stroma vers l'intérieur du thylakoïde qui devient ainsi plus acide.

Dans la membrane chloroplastique nous avons vu qu'il existait une ségrégation entre PSI et PSII au point de vue localisation. PSI et l'ATP synthétase sont localisés dans les zones non accolées de la membrane. PSII est situé dans les zones accolées des granums. Le cyt b₆ et le cyt f sont uniformément répartis. On conçoit que le transport des électrons entre les 2 photosystèmes soit assuré par les éléments mobiles à savoir la plastoquinone et la plastocyanine. C'est au cours de ce transport que les protons sont pompés du stroma vers l'intérieur de la membrane thylakoïde.

4.4 - MECANISME DE LA SYNTHÈSE DE L'ATP : THEORIE DE MITCHELL

- ∅ La formation de l'ATP exige le transport des électrons, activé par la lumière.
- ∅ Elle nécessite la création d'un gradient de densité de protons entre le stroma et l'intérieur du thylakoïde.
- ∅ L'ensemble enzymatique qui assure la synthèse de l'ATP est appelé complexe CF₁-CF_o. CF_o est appelé le canal protonique. Il est responsable du reflux des protons de l'espace intrathylakoïde vers le stroma qui active la synthèse de l'ATP et libère l'énergie nécessaire.
- ∅ L'enzyme qui assure la synthèse de l'ATP (ATP synthétase) est contenue dans le complexe CF₁. Ce complexe est enfermé dans les sphères qui font saillie à la face externe des membranes thylakoïdes (Voir figure 49). Dans les mitochondries l'enzyme, jouant le rôle similaire, est enfermée dans des protubérances sphériques qui font saillie sur la face matricielle de la membrane mitochondriale interne.

Le transfert d'électrons acyclique ou cyclique produit au niveau du complexe bf un vaste gradient de protons à travers la membrane des thylakoïdes. L'espace intrathylakoïde devient nettement acide avec un pH de l'ordre de 4. Le gradient transmembranaire induit un ΔpH de l'ordre de 3.5. Environ 3 moles de protons s'écoulent entre le complexe CF1-CFo donnant un $\Delta G'^{\circ}$ de -14.4 kcal/mol, suffisant pour la formation d'une mole d'ATP. Aucun ATP n'est formé si le gradient créé est inférieur à 2 unités pH.

Comme le complexe enzymatique de synthèse de l'ATP se trouve sur la face stromale des thylakoïdes, l'ATP formé et le NADPH, H^+ résultant du transport acyclique d'électrons sont libérés directement dans le stroma où se trouvent toutes les enzymes nécessaires à leur utilisation pour la transformation du CO_2 en glucides dans le Cycle de Calvin.

PHOSPHORYLATIONS CELLULAIRES
CE QU'IL FAUT RETENIR

Caractéristiques	Phosphorylation oxydative	Photophosphorylation
Localisation	Mitochondries	Chloroplastes
Energétique des processus	Séquences de réactions spontanées (exergoniques)	- Activation photo-dépendante de PSI et PSII (réactions endergoniques). - Autres séquences de réactions spontanées
Transport d'électrons		
- Localisation.	Membrane interne	Membrane thylakoïde
- Donneur d'électrons et de protons	NADH,H ⁺ , FADH ₂ ou autres composés	H ₂ O (photolyse)
-	- CI : NADH,H ⁺ -CoQ Réductase	- PS II : organisé autour du P ₆₈₀
Composition des Complexes transporteur	-CII : Succinate-CoQ Réductase	- PS I : organisé autour du P ₇₀₀
	- CIII : CoQH ₂ -Cyt c Réductase	- Complexe bf
	- CIV : Cyt c Oxydase	
Organisation	Les électrons circulent linéairement de NADH,H ⁺ ou de FADH ₂ jusqu'à l'oxygène	- Transport acyclique : Les électrons circulent de H ₂ O jusqu'au NADP ⁺ (Coopération de PSII, PSI et complexe bf) - Transport cyclique : Les électrons partent de P ₇₀₀ et retournent à P ₇₀₀
Synthèse de l'ATP		
- Création de gradient de densité de protons	1 pompe à protons au niveau des complexes CI, CII et CIII. Les protons sont pompés de la matrice vers l'espace intermembranaire à travers la membrane mitochondriale interne	1 pompe à protons au niveau du complexe bf. Les protons sont pompés du stroma vers l'intérieur du thylakoïde à travers la membrane thylakoïde
- Complexes protéiques	- Fo (Canal protonique) assure le reflux des protons de l'espace intermembranaire vers la matrice.	- CFo (Canal protonique) assure le reflux des protons de l'intérieur du thylakoïde vers le stroma.
	- Complexe F1 (ATP synthétase)	Complexe CFI (ATP synthétase)
Produits du processus	- 3 ATP à partir de NADH,H ⁺ - 2 ATP à partir de FADH ₂	- transport acyclique : 1 ATP, NADPH,H ⁺ et ½ O ₂ . - Transport cyclique : 1 ATP
Devenir de l'ATP formé	ATP transporté hors de la mitochondrie par l'ADP-ATP translocase pour couvrir les besoins de la cellule	ATP et NADPH,H ⁺ sont consommés dans le stroma : Voies de carboxylation, Cycle de Calvin et autres biogenèses.
Organismes vivants	Hétérotrophes et Autotrophes (organismes chlorophylliens)	Autotrophes (végétaux, algues et microorganismes chlorophylliens)