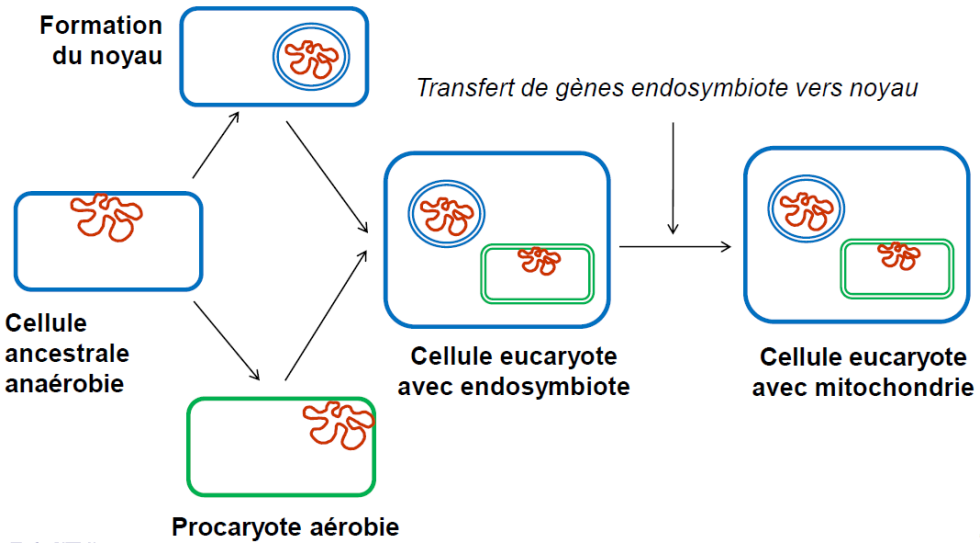
Mitochondries

Les mitochondries et les peroxysomes ne font pas partis du système endomembranaire

Origine des mitochondries

Origine bactérienne des mitochondries par une endosymbiose

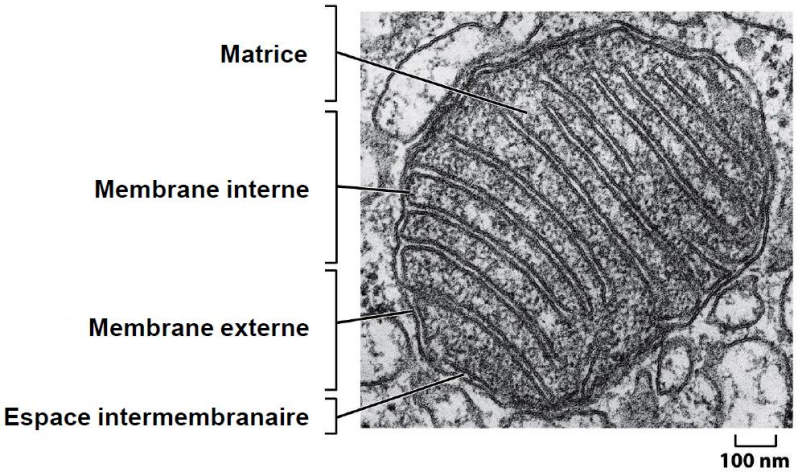


Caractéristiques morphologiques

Double membrane

- Formation de **crêtes** par la membrane interne

Diamètre : entre 0,5 et 1 μm (similaire aux bactéries)



• Méthodes d'étude

Fractionnement: lyse osmotique et centrifugation (différentielle et en gradient de densité)
Séparation des fractions:

- Espace intermembranaire
- Membrane interne
- Membrane externe
- Matrice

Analyse de la composition des différents compartiments de la mitochondrie

Microscopie

- Lumière visible: coloration au vert Janus B
- Fluorescence: Rhodamine 123 et MitoTracker, GFP avec signal d'adressage mitochondrial

Visualisation et suivi de la dynamique des mitochondries

- Les différents compartiments de la mitochondrie

La **membrane externe** contient :

- Des transporteurs dont les **porines**: pores aqueux laissant passer les petites molécules (<10 kDa) vers et du cytosol
  Les porines ne laissent pas passer les protons (H+)
- Des **protéines de régulation de la fusion/fission** des mitochondries
- Des **complexes protéiques** permettant l'accolement des 2 membranes

L'**espace intermembranaire** est caractérisé par :

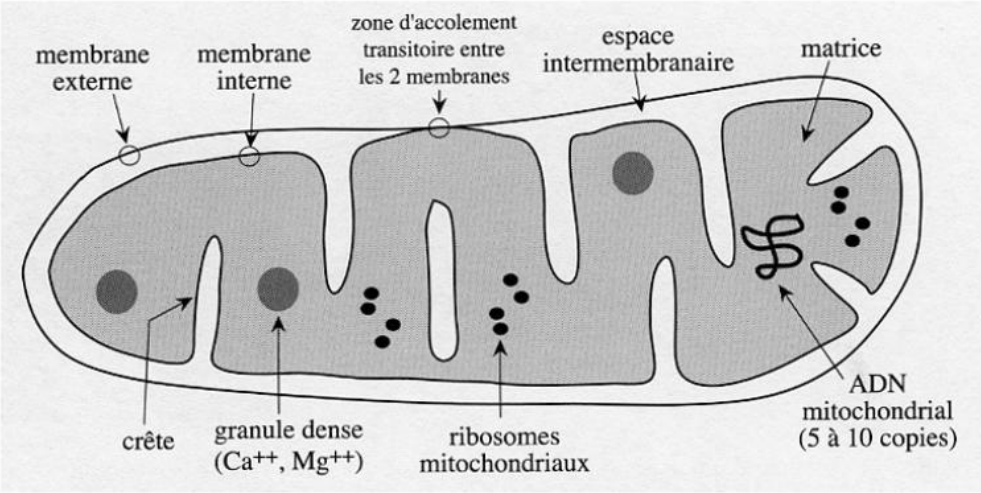
- L'**accumulation des protons** venant de la matrice
- La présence de **procaspases et cytochrome C** (implication dans l'apoptose)

La **membrane interne** contient :

- **Des crêtes**: multiplient la surface par 3 par rapport à membrane externe
  La présence de crêtes est directement liée à la présence d'**ATP-synthase** (morphologie et surface dépendent de la demande en ATP, ex: cellules cardiaques +++) : plus la demande en ATP est importante, plus la mitochondrie contient de crêtes
- **Des perméases** pour le co-transport proton-molécules
- De la **cardiolipine**: phospholipide à 4 chaînes d'acide gras
- Les enzymes de la **chaîne respiratoire**
- Des **complexes protéiques** permettant l'accolement des 2 membarnes

La **matrice contient** :

- Les enzymes du **cycle de Krebs**
- Les enzymes de **dégradation des acides gras et du pyruvate**
- De l'**ADN mitochondrial**, des **mitoribosomes** (= ribosomes mitochondriaux), de l'**ARNt**…



Les mitochondries forment un réseau dynamique associé au cytosquelette

Fonctions de la mitochondrie

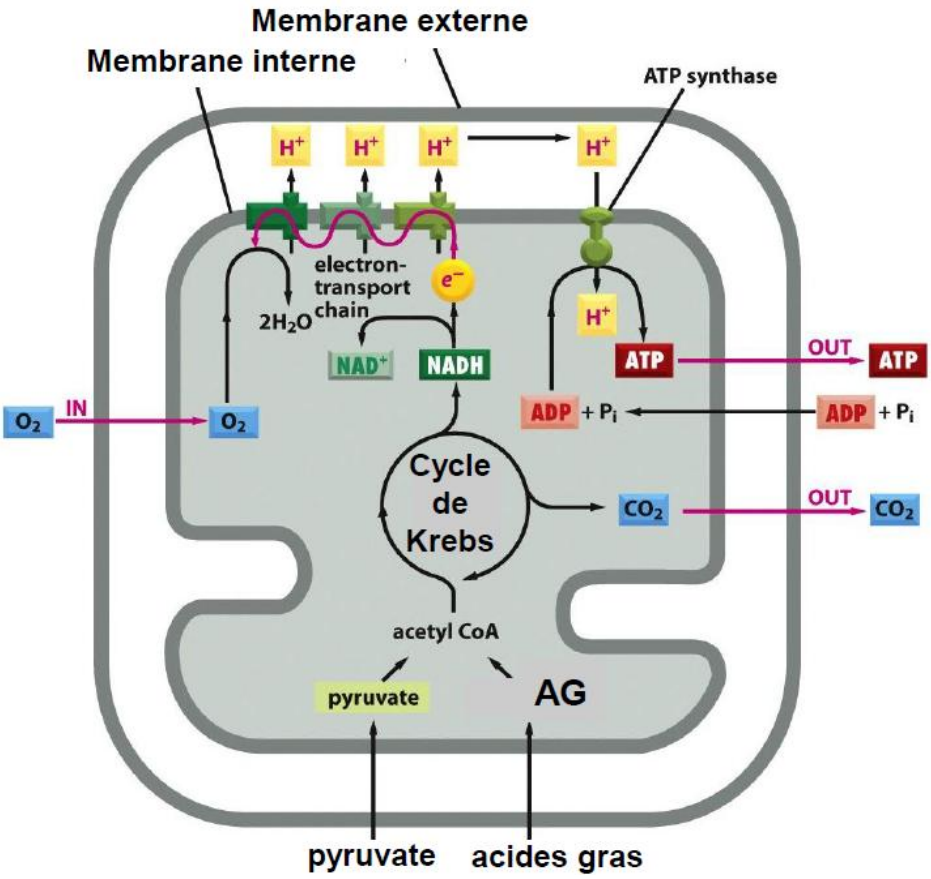
Fonctions principales

- **«Respiration cellulaire»**: production d'ATP et de CO_2, consommation d'oxygène et de molécule carbonées
- **Dégradation des acides gras** (β-oxydation)
- Participation à l'**apoptose**
- **Synthèse de métabolites**: hème, hormones stéroïdes, hydroxylation de molécules par cytochrome P450…
- **Contrôle des concentrations cytosoliques en calcium**, **balance redox** (cofacteurs réduits ou oxydés),…

Intégration du métabolisme procaryote ancestral chez la cellule eucaryote

Fonction de génération d'énergie

Transformation du pyruvate et des acides gras dans la matrice en acétyl-CoA
Le cycle de Krebs convertit l'acétyl-CoA en CO_2 et produit des cofacteurs réduits NADH et $FADH_2$ qui permettent le transport des électrons dans la chaîne respiratoire
La chaîne respiratoire permet le transport des électrons jusqu'à l'O_2 (qui est l'accepteur final des électrons) et génère un gradient de protons
L'ATP-synthase convertit l'énergie du gradient de protons en ATP

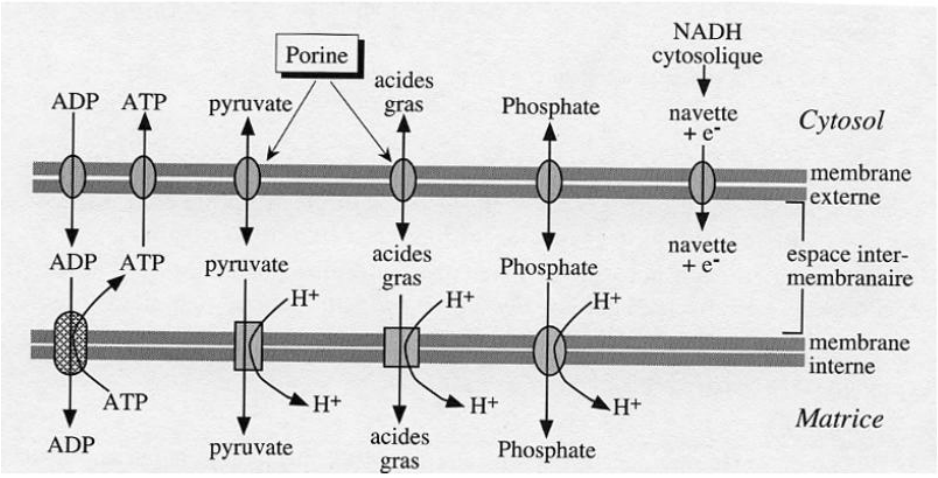


- Échanges avec le cytosol

Membrane externe: échanges par des **perméases** (diffusion facilitée)
Transport des électrons (cofacteurs réduits cytosoliques) par des navettes passant librement la membrane externe

Membrane interne (transports actifs)
- Antiport ADP/ATP
- Symports métabolite-proton

La différence de potentiel et le gradient de proton permettent le **co-transport actif** à travers la membrane interne: entrée ADP et métabolites (pyruvate, AG, phosphate), sortie ATP

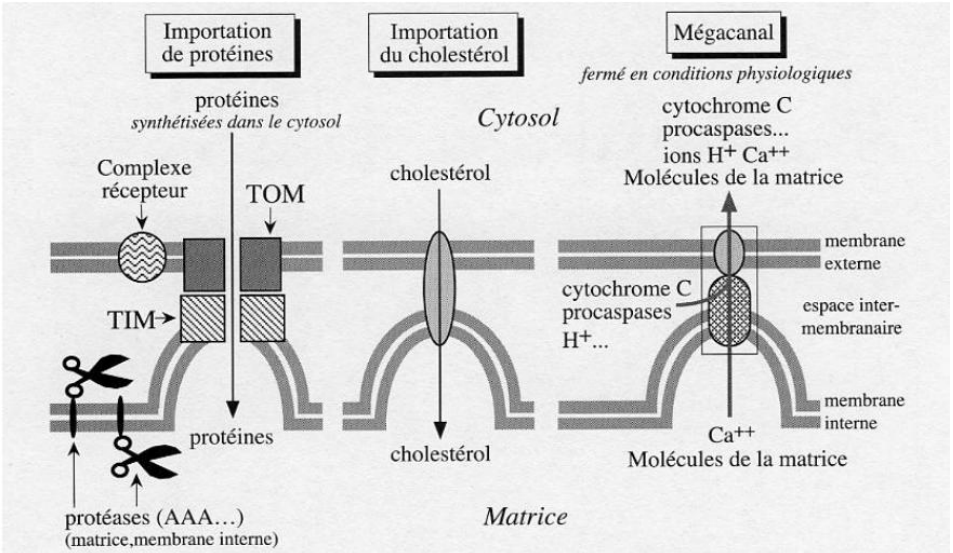


Les zones d'accolement

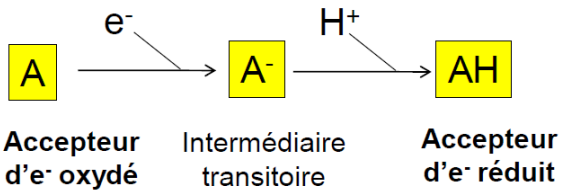
Accolement entre les membranes grâce à des complexes protéiques

Cholésterol: précurseurs d'hormones stéroïdes dont une partie de la synthèse se fait dans la mitochondrie

Mégacanal: rôle dans le déclenchement de l'apoptose

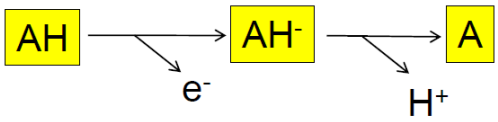


- Oxydoréduction et transfert d'électron



1:Transfert d'un électron du substrat vers un accepteur oxydé
2: un proton de l'eau neutralise la charge négative

1:Transfert d'un électron de l'accepteur réduit vers une autre molécule (UQ…)
2: un proton retourne à l'eau



UQ = ubiquinone

La **glycolyse** permet la **production de NADH cytosolique**
Le **cycle de Krebs et la β-oxydation** permettent la **production dans la matrice de NADH et $FADH_2$**

Accepteur final d'électrons = l'**oxygène** $^1/_2\, O_2 + H_2 \rightarrow H_2O$

- Les navettes mitochondriales

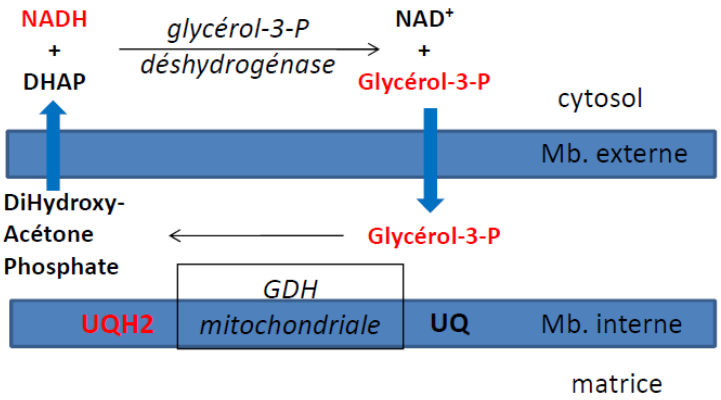
Le NAD^+ du cytosol (réduit lors de la glycolyse) doit être régénéré par la mitochondrie (membrane interne imperméable au NADH…): seuls les électrons sont transférés via 2 navettes

- Navette glycérol phosphate
- Navette malate-aspartate

La navette glycérol-phosphate

Transfert d'électrons du NADH cytosolique vers l'ubiquinone de la membrane interne

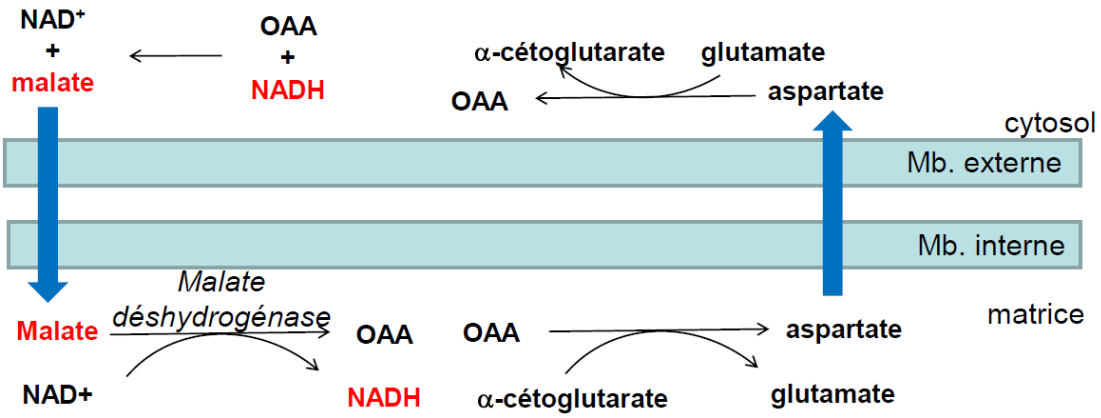
Le NADH cède ses électrons au DHAP qui devient du Glycérol-3-P
Le Glycérol-3-P cède ses électrons à l'ubiquinone par la GDH mitochondriale et devient du DHAP
Ubiquinone (UQ) : molécule hydrophobe dans la membrane interne



La navette malate-aspartate

Le NADH cède ses électrons à l'OAA (= oxaloacétate) qui devient du malate
Le malate cède ses électrons au NADH grâce à la malate déshydrogénase et redevient OAA qui retourne dans le cytosol grâce à un intermédiaire, l'aspartate

Le transfert d'électrons par la navette malate-aspartate aboutit à la formation de NADH dans la matrice mitochondriale grâce à la malate déshydrogénase



- Un métabolite central: l'acétylcoenzyme A

Pyruvate (formé par glycolyse et catabolisme cytosolique des acides aminés) : convertit en acétyl CoA dans la matrice
Remarque: le pyruvate est convertit en éthanol ou acide lactique en cas de fermentation

Acides gras: formation cytosolique d'acyl CoA qui subit 4 réactions enzymatiques dans la matrice (**β-oxydation** ou hélice de Lynen) aboutissant à une molécule d'acyl CoA (perte de 2 carbones) et un acétyl CoA + **NADH** et **$FADH_2$** par cycle

Acétyl CoA: alimente le **cycle de Krebs** qui aboutit à l'oxydation totale du groupe acétyl de l'acétyl CoA en CO_2 et génère des **électrons de haute énergie**.
Ces électrons sont captés par les cofacteurs (production de **NADH** et **$FADH_2$**)

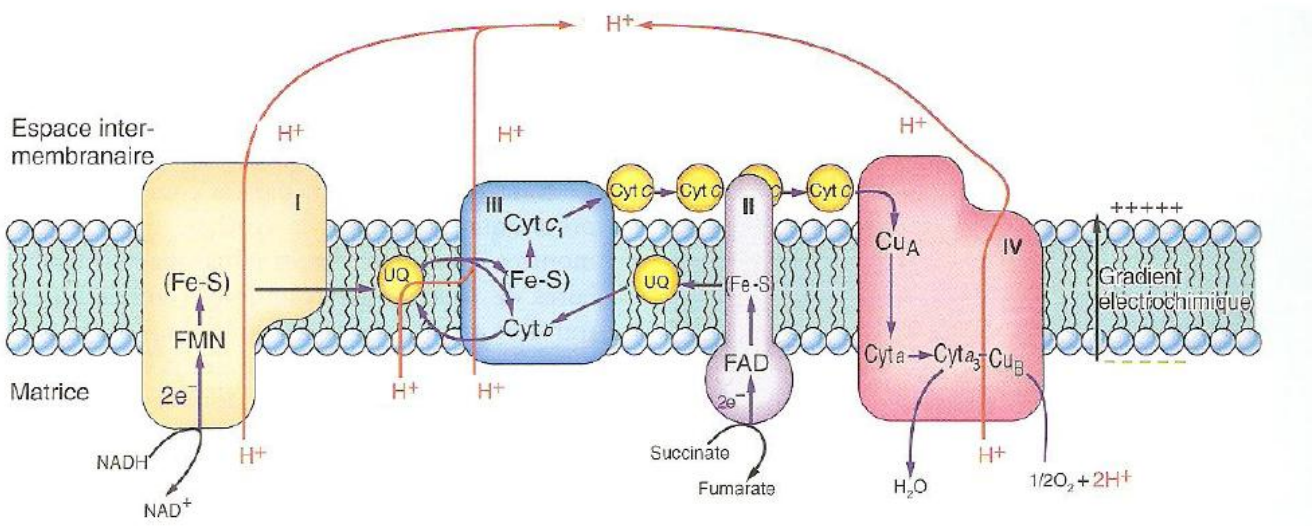
Les électrons sont ensuite transférés à la **chaîne respiratoire** de la membrane interne puis finalement à l'oxygène.
L'énergie dégagée est utilisée par l'ATP synthase pour réaliser la **phosphorylation oxydative** (production d'ATP à partir d'ADP).

- La chaîne respiratoire

Composée de **4 complexes protéiques membranaires** contenant des atomes métalliques récepteurs d'électrons (Fe, Cu et centres Fe-S) et 2 transporteurs d'électrons (**ubiquinone** dans la membrane interne et **cytochrome c** soluble dans l'espace intermembranaire)

Complexe I (NADH déshydrogénase): contient une flavoprotéine (=complexe de plusieurs enzymes), entrée des électrons provenant du **NADH** et transfert à UQ
Complexe II (succinate déshydrogénase): enzyme du cycle de Krebs, entrée des électrons provenant du **$FADH_2$** et transfert à UQ
Complexe III (complexe b-c1): récupération des électrons de l'ubiquinone réduit (UQH_2) et transfert au cytochrome c
Complexe IV (cytochrome c oxydase): récupère les électrons du cytochrome c réduit et transfert à l'oxygène (formation d'eau)

- **Perte d'énergie** des électrons à chaque étape : cette énergie est utilisée pour transporter un proton vers l'espace intermembranaire
- Complexes I, III et IV sont des **pompes à proton**



3 sources d'électrons pour la chaîne respiratoire:

- Transfert d'électrons du NADH cytosolique à l'ubiquinone (navette glycérol-phosphate)
- Transfert d'électrons au NAD^+ de la matrice (navette malate-aspartate)
- Cycle de Krebs et β-oxydation dans la matrice (génère du NADH et $FADH_2$)

La chaîne respiratoire est responsable de la **génération du gradient de proton**

- Stockage de l'énergie récupérée lors du transfert d'électrons sous forme de gradient électrochimique (génère une ddp et une différence de concentration) utilisée par l'ATP-synthase

Remarque: cyanure et azide se fixent au cytochrome c et bloquent le transport d'électrons

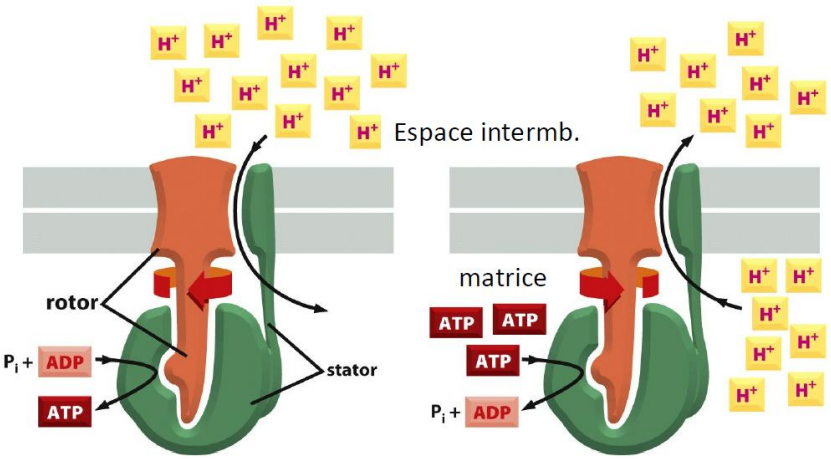
- L’ATP synthase

Complexe protéique (> 500 kDa) composé de :
- «Pied» transmembranaire et «tige»: ATPase F1
- «Tête»: ATPase F0

Complexe composé d’un rotor et d’un stator: le passage de proton entraîne une rotation qui active les sous-unités de la tête → phosphorylation ADP en ATP

Énergie électrochimique (gradient de proton) → Énergie mécanique (rotation) → Énergie chimique (liaison phosphate ATP)

L’ATP synthase peut consommer de l’ATP pour pomper des protons dans l’espace intermembranaire (régénération du gradient)

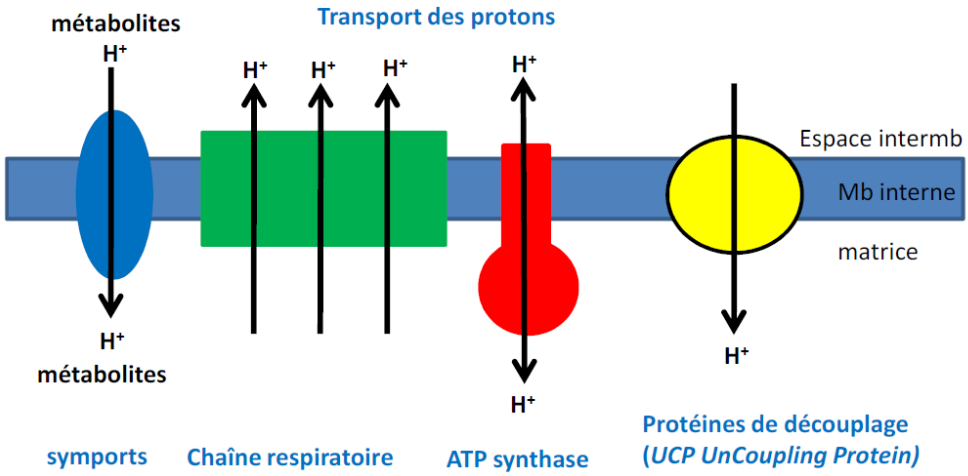


Synthèse d’ATP

Hydrolyse d’ATP

- Transport des protons

Différents moyens de transporter les protons à travers la membrane interne de la mitochondrie



Les protons sont transportés à travers la membrane interne des mitochondries:

- Par l'**ATP synthase** (réversible)
- Par les protéines de la **chaîne respiratoire** (vers l'espace intermb.)
- Par les **symports proton-métabolites** (dont phosphate, pyruvate et AG) vers matrice
- Par les **protéines de découplage** vers la matrice

Protéines de découplages: permettent la génération de chaleur par la «graisse brune» chez certains animaux (hibernation…) et les nouveaux-nés
Permettent de « chunter » l'ATP-synthase et de ne plus l'alimenter en H^+

La mitochondrie fournit également au cytosol:

- Du citrate pour biosynthèse d'AG et de stérols
- De l'OAA, α-cétoglutarate pour biosynthèse (AA…)
- Des cofacteurs réduits (ex: NADPH) pour biosynthèse
- Régénère le NADH produit par la glycolyse (balance redox)

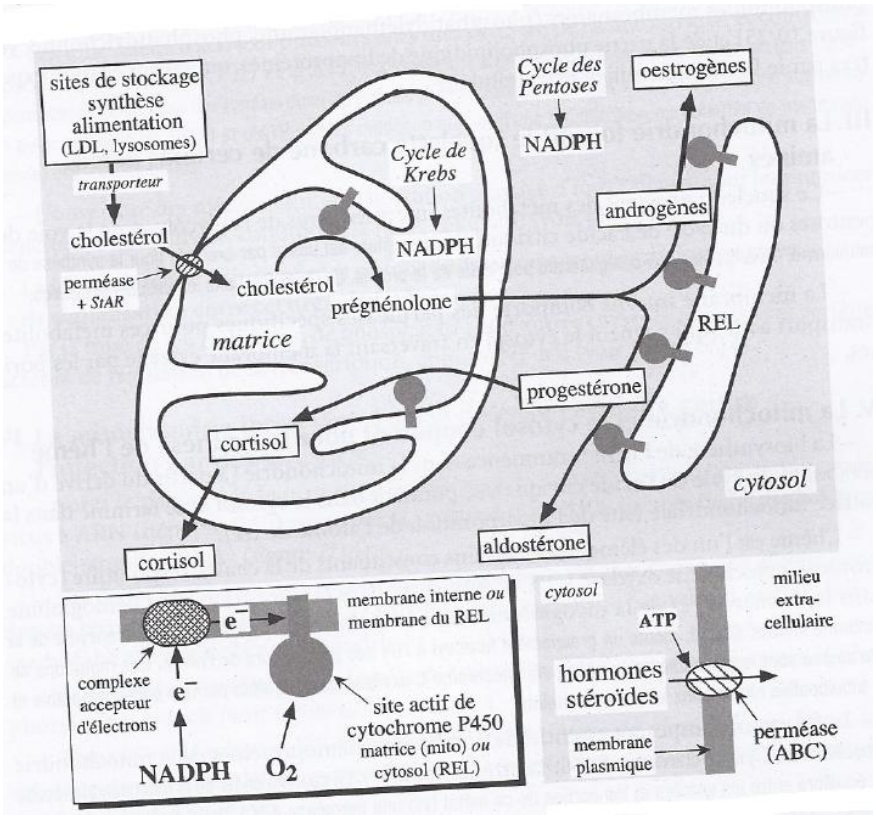
Synthèse et coopération avec les autres compartiments cellulaires

• Synthèse des stéroïdes : mitochondries et RE lisse

Les **Cytochrome P450** (mitochondrie: site actif dans la matrice, RE: dans le cytosol) utilisent des électrons fournit par du **NADPH** via 2 transporteurs:

- 1ère étape : Cholestérol hydroxylé par les cytochromes dans la matrice en prégnénolone
- 2ème étape : Prégnénolone hydroxylée sur la face cytosolique du RE lisse (formation d'œstrogènes, androgènes, aldostérone et progestérone)
- 3ème étape: Progestérone retourne dans la matrice pour être hydroxyler en cortisol

Les hormones stéroïdes sont libérées dans le milieu extracellulaire par des **transporteurs ABC** (ATP Binding Cassette)
+ Importation de phospholipides depuis la face cytoplasmique du RE

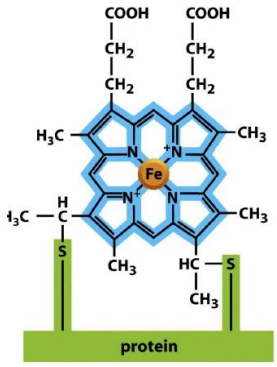


- Synthèse de l'hème: mitochondries et cytosol

Les 1ère étapes de la synthèse de l'hème ont lieu **dans la mitochondrie** (à partir de citrate)
Poursuite de cette synthèse **dans le cytosol** puis incorporation du Fe **dans la matrice mitochondriale**

L'hème est présent dans les cytochromes, les hémoglobines, les myoglobines…
Elle possède un **squelette de porphyrine**

Exemple : hème sur cytochrome c



Stockage du calcium (en liaison avec le RE)
La mitochondrie participe à l'homéostasie calcique de la cellule (+ libération dans l'apoptose).
Le calcium influence le métabolisme mitochondrial

Communication mitochondrie-noyau
Activation cytosolique de facteurs de transcriptions au niveau du noyau de la cellule (ex: NF-kB)

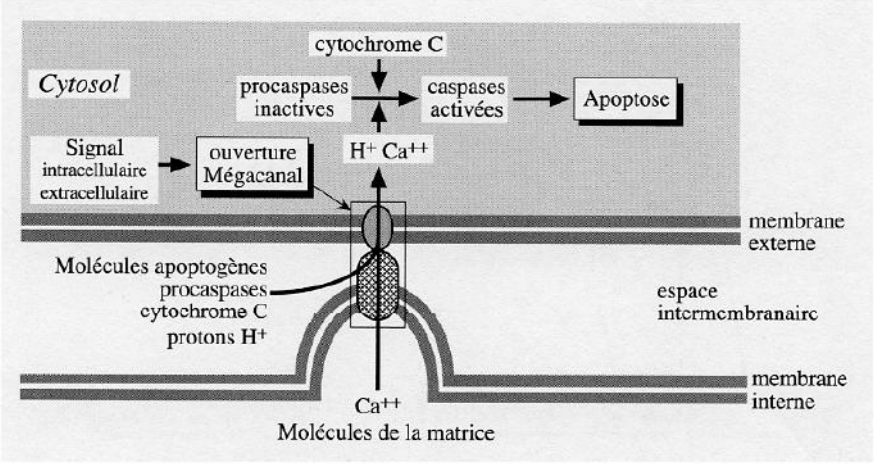
Radicaux superoxydes (02^-)
La mitochondrie produit et catabolise ces radicaux toxiques. Elle peut également générer des radicaux libres (implication dans le vieillissement…)

Défense antivirale
Activation par l'ARN viral double brin (dsRNA) d'une protéine à la surface des mitochondries
→ Activation de NF-kB (facteur de transcription)

- Rôle dans l'apoptose

Ouverture des mégacanaux: premières étapes de l'apoptose

- Libération dans le cytosol de **cytochrome c** et de **procaspases** (apoptose)
- Libération de **calcium** et de protons (acidification du cytosol)
- Effondrement des gradients et arrêt de la production d'ATP



Cycle biologique

Les mitochondries sont des organites semi-autonomes

Présence d'un génome mitochondrial variable selon les espèces :

- Circulaire (chez l'homme)
- Contient les **gènes codant pour les ARNr** des mitoribosomes et les **ARNt**
- Contient les **gènes codant pour 13 protéines mitochondriales**

La réplication de l'ADN mitochondriale (ADNmt) est **indépendante du cycle cellulaire**
Les ribosomes mitochondriaux sont de **type procaryote** (ils sont sensibles aux antibiotiques)
Les **cycles de division/fusion sont régulés par des GTPase** sur les deux membranes

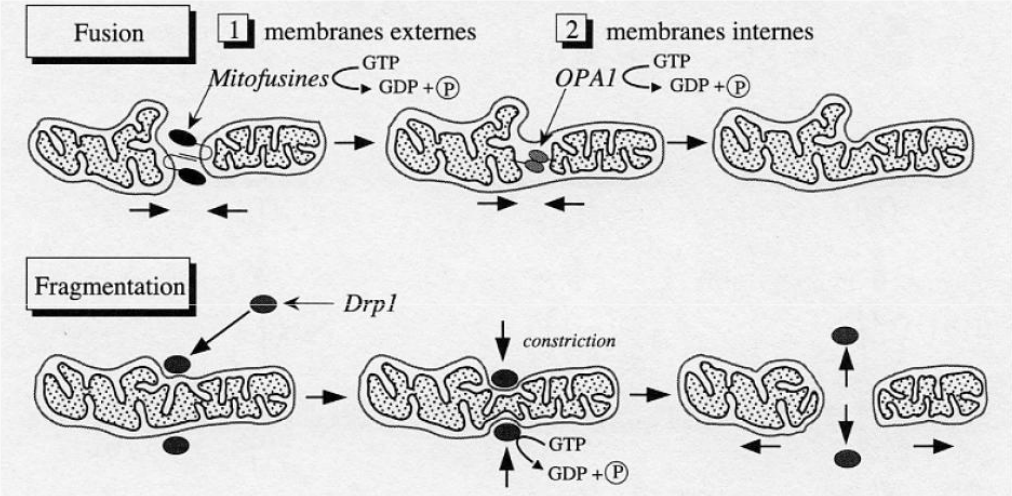
Le nombre de mitochondries par cellule est variable :

- Selon le type cellulaire
- Selon la demande en ATP pour un même type de cellule (ex : une cellule musculaire « entraînée » contient beaucoup de mitochondries)

Ce nombre de mitochondries par cellule est **contrôlé par la cellule hôte**

Fusion des membranes externes : **mitofusines 1 et 2** (protéines membranaires)
Fusion des membranes internes : **OPA-1** (protéines membranaires)
Fragmentation : **Drp-1** (protéines cytosoliques de la famille des dynamines), fragmentent également les péroxysomes

La fusion et la fragmentation sont **régulées par des protéines G monomériques**



Adressage des protéines

Génome mitochondrial: 13 protéines sont synthétisées par des mitoribosomes dans la matrice

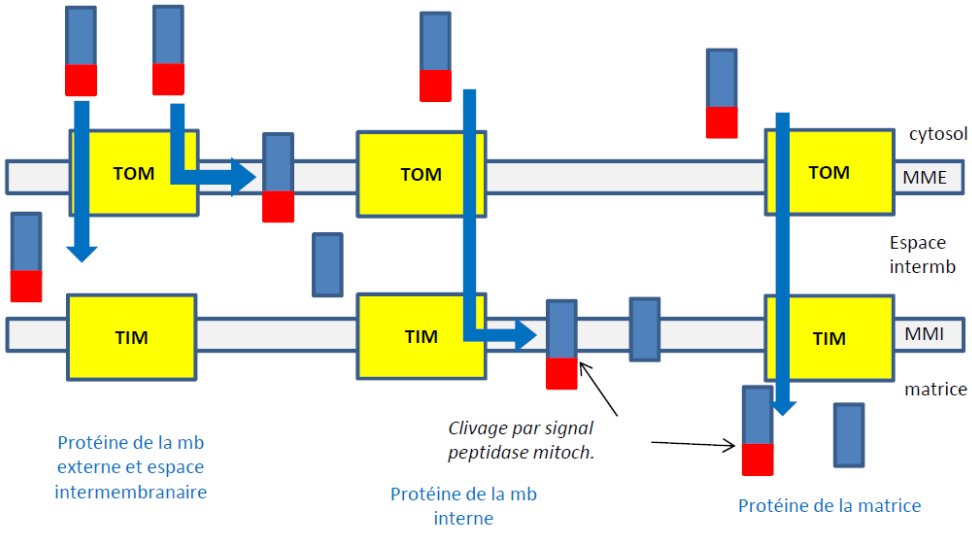
Génome nucléaire: 400-500 protéines sont synthétisées par des ribosomes libres dans cytosol
Les protéines mitochondriales codées par le génome nucléaire sont adressées à la mitochondrie de manière **post-traductionnelle**

La majorité des protéines de la matrice possèdent un **peptide signal N-terminal** (environ 20 AA) clivée après le transport
Toutes les protéines de la membrane externe + plusieurs de l'espace intermembranaire et de la membrane interne possèdent une **séquence signale interne non clivée**

La **translocation** met en jeux des complexes protéiques:

- **TOM** (Translocator Outer Membrane): à travers la membrane externe
- **TIM** (Translocator Inner Membrane): à travers la membrane interne

Intervention de **protéines chaperonnes**



Autres acteurs de la translocation des protéines adressées à la mitochondrie

Le transport des protéines à travers les complexes TOM et TIM se fait pour des **protéines semi-dépliées**

- **Chaperonnes cytosoliques** (dont **Hsp70**): liaison au peptide signal et maintient de la protéine sous forme dépliée

Hsp70 mitochondriale dans la matrice: «tire» la protéine vers la matrice (consommation d'ATP)
Hsp60 mitochondriale aide au repliement de la protéine

Potentiel de membrane (interne): composante électrique du gradient de proton, facilite la translocation de la protéine à travers le complexe TIM

Signal peptidase de la matrice: clive les peptides signaux N-terminaux après leur transport

Protéines codées par le génome mitochondrial

ARNm traduit dans la matrice par les ribosomes mitochondriaux

Protéines transmembranaires

Translocation co-traductionnelle dans la membrane interne grâce à la **translocase** (OXA) similaire au translocon du RE, puis association avec les sous-unités d'origine cytosoliques.
Exemple: sous-unités de l'ATP synthase et de la chaîne respiratoire

L'ensemble des protéines nécessaires à la réplication de l'ADNmt et à son expression (protéines ribosomales, polymérases…) sont **codées par le noyau**.

Transmission et pathologies

Chez l'homme, la transmission des mitochondries est uniquement d'**origine maternelle**

Il existe des **sous-unités** (codées par le noyau) **de la chaîne respiratoire spécifiques de certains tissus** (ex: muscles squelettiques, cœur…)

Des **anomalies du génome mitochondrial** (congénitales ou acquise) s'expriment dans des cellules caractérisées par:

- Une forte consommation d'oxygène
- Peu ou pas de renouvellement (ex: neurones et cellules musculaires)

Contribution au vieillissement: production d'ions superoxydes (O_2^-)

Peroxysomes

Caractéristiques des peroxysomes

Ils ne font pas partis du système endomembranaire

Organites à simple membrane
Taille: 0,1 à 1 µm

Aspect « en collier de perle » : ils sont composés de **vésicules reliées entre elles par des canalicules**, le tout forme la matrice du peroxysome

Ne possède pas de génome ni de ribosomes: la totalité des protéines sont codées par des gènes nucléaires
La majorité des protéines sont importées du cytosol + quelques protéines membranaires du RE

Utilisent l'O_2 dans 3 voies métaboliques:

- **β-oxydation** (= dégradation) des acides gras à très longues chaînes
- **Production/dégradation du peroxyde d'hydrogène H_2O_2**
- **Hydroxylation** des molécules

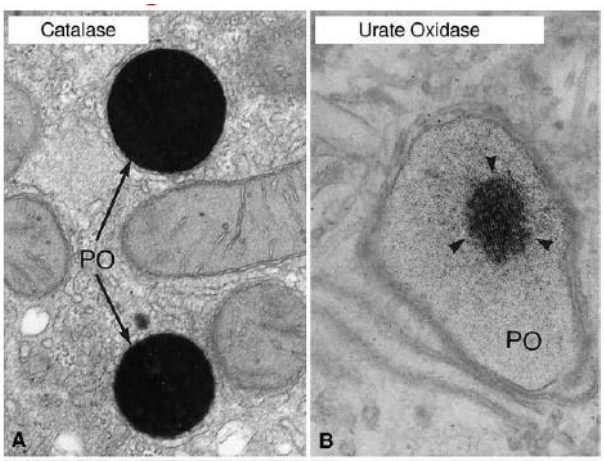
Les vésicules peuvent contenir une **région paracristalline** riche en protéines *(exemple : urate oxydase chez le rat et non chez l'homme)*

Les transports à travers la membrane du peroxysome se font par l'intermédiaire de :

- **Peroxines** : importation de toutes les protéines dans le peroxysome
- **Transporteurs ABC** : transport de métabolites

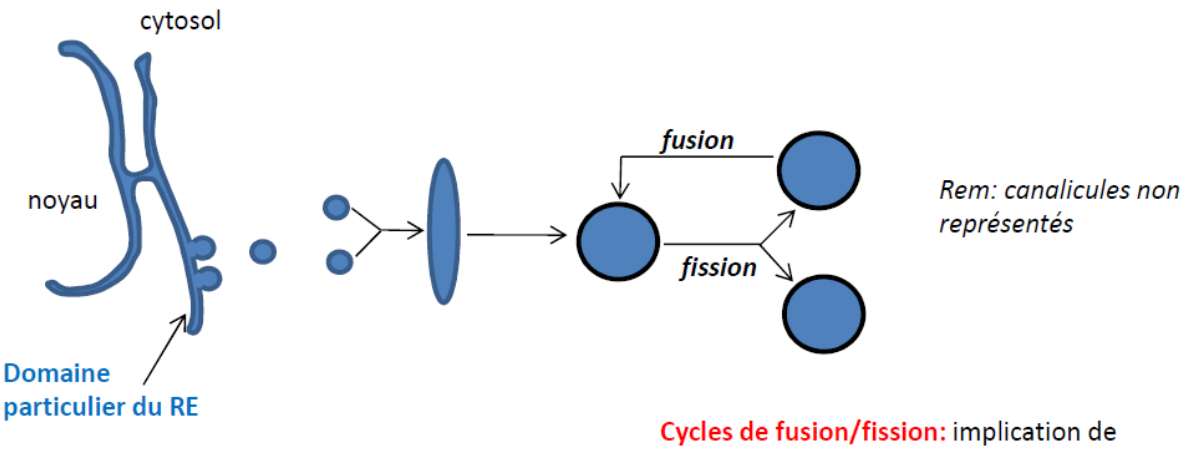
Localisation d'enzymes dans la matrice ou dans la région paracristalline

Détection cytoenzymologique de la **catalase** (enzyme spécifique du peroxysome) et de l'**urate oxydase** (chez le rat) : la catalase est présente dans toute la matrice tandis que l'urate oxydase n'est présent que dans la région paracristalline



Biogenèse des peroxysomes

La multiplication et la création de peroxysomes au cours du cycle cellulaire permet de garder un **nombre constant** de peroxysomes dans la cellule.
Ils peuvent subir un **phénomène de prolifération** (augmentation du nombre de peroxysomes par cellule) en cas de changements métaboliques.



Bourgeonnement de vésicules

Fusion (réseau) et maturation

Cycles de fusion/fission: implication de *Dynamin-related protein* (ex: Drp1)

Adressage des protéines

Toutes les protéines des peroxysomes sont synthétisées dans le cytosol.
Des **peroxines cytosoliques** prennent en charge les protéines adressées au peroxysome

Adressage des protéines solubles, 2 types de signaux

- **Signal PTS-1**: extrémité C-terminale
- **Signal PTS-2**: extrémité N-terminale

Translocation dans la matrice grâce à des **peroxines cytosoliques + complexe d'importation**

Adressage des protéines transmembranaires

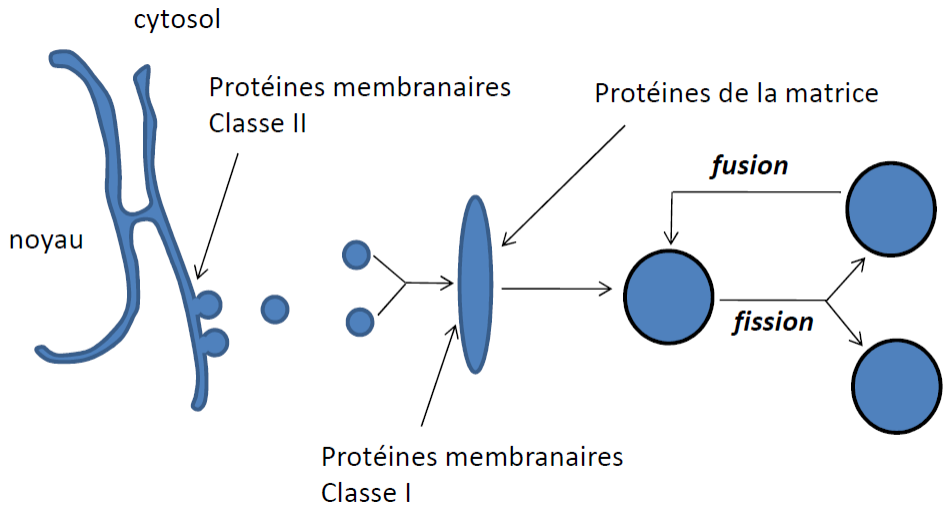
- **Signal PTS-2** si un seul domaine transmembranaire
- **Signal dans une boucle matricielle entre 2 domaines transmembranaires** pour les protéines à plusieurs domaines transmembranaires

Insertion dans la membrane grâce à des **peroxines cytosoliques**

Intervention de **protéines chaperonnes** consommant de l'ATP: maintient de la protéine sous forme dépliée
Pas de clivage des signaux d'adressages

Importation séquentielle des protéines du peroxysome

- Importation de **protéines membranaires de classe II** (ou peroxines précoces) au niveau du RE : rôle dans le bourgeonnement et l'importation des autres protéines
- Importation des **protéines membranaires de classe I** par des transporteurs ABC
- Importation de **protéines soluble de la matrice** (ex: enzymes)
  Enzymes caractéristiques du peroxysome : catalase, urate oxydase chez le rat, peroxydase



Fonctions du peroxysome

Changements métaboliques : prolifération des peroxysomes (augmentation du nombre par cellule)
Exemple: changement de source de carbone (glucose vers méthanol ou acides gras) chez la levure

PPAR (Peroxysome Proliferator-Activated Receptor): famille de récepteurs nucléaires contrôlant la prolifération des peroxysomes en réponse à la fixation de différents lipides

Dynamique des peroxysomes: variable selon le type de cellule, le métabolisme, les médicaments, le stress…

Dégradations (catabolisme et détoxification, génère H_2O_2 consommé par la catalase)

- Oxydation de nombreux métabolites (ex: éthanol)
- Oxydation des acides aminés D (ex: D-proline, NMDA…)
- Oxydation des purines
- β-oxydation des acides gras à très longues chaînes

Synthèses

- Acides biliaires: oxydation du cholestérol
- Plasmalogène: phopholipide particulier (liaison éther avec un alcool gras à la place d'un AG) présent par exemple dans le cerveau et cœur