

La cytochrome oxydase: l'enzyme de la réduction de l'oxygène

Marc Fontecave

*Laboratoire de Chimie et Biologie des Métaux, Université Joseph Fourier, CNRS, CEA/DSV/iRTSV
CEA-Grenoble 17 rue des martyrs 38054 Grenoble cedex 9, France
mfontecave@cea.fr; Phone: (0033)438789103 ; Fax: (0033)438789124*

Collège de France, 11 Place Marcelin Berthelot, 75231 Paris Cedex 05



COLLÈGE
DE FRANCE
— 1530 —

cea



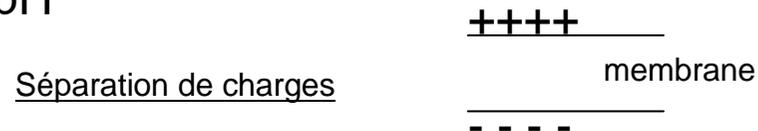


$$E = 0,82 \text{ V à pH 7}$$

→ Réduction d'O₂ thermodynamiquement favorable
 -NADH $\Delta G = -220 \text{ kJ.mol}^{-1}$ $E_{\text{NAD}} = -0,32 \text{ V}$
 -Cytaa₃ $\Delta G = -100 \text{ kJ.mol}^{-1}$ $E_{\text{cyt}} = 0,24 \text{ V}$

→ Réduction d'O₂ cinétiquement lente: O₂ / 4H⁺ / 4 e⁻
 Nécessité d'un catalyseur

→ Conversion de l'énergie chimique et stockage:
 Gradient de pH



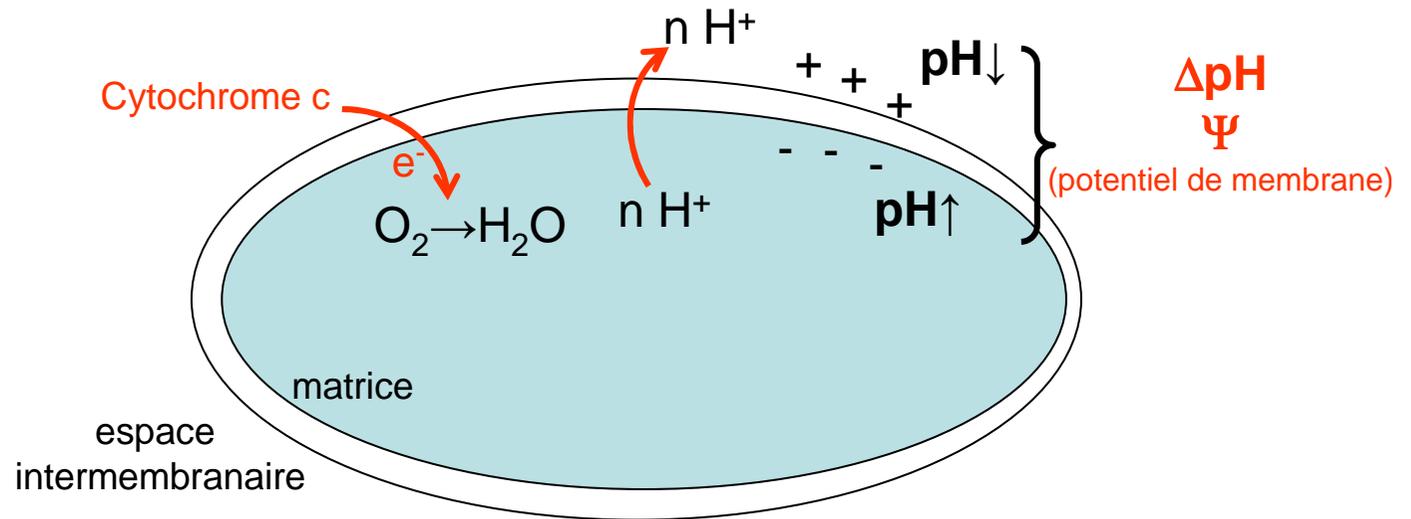
→ Utilisation de l'énergie « osmotique »:
 Synthèse d'ATP





Peter Mitchell
Nature 1961
Nobel 1978

Théorie chimio-osmotique ou force proton motrice



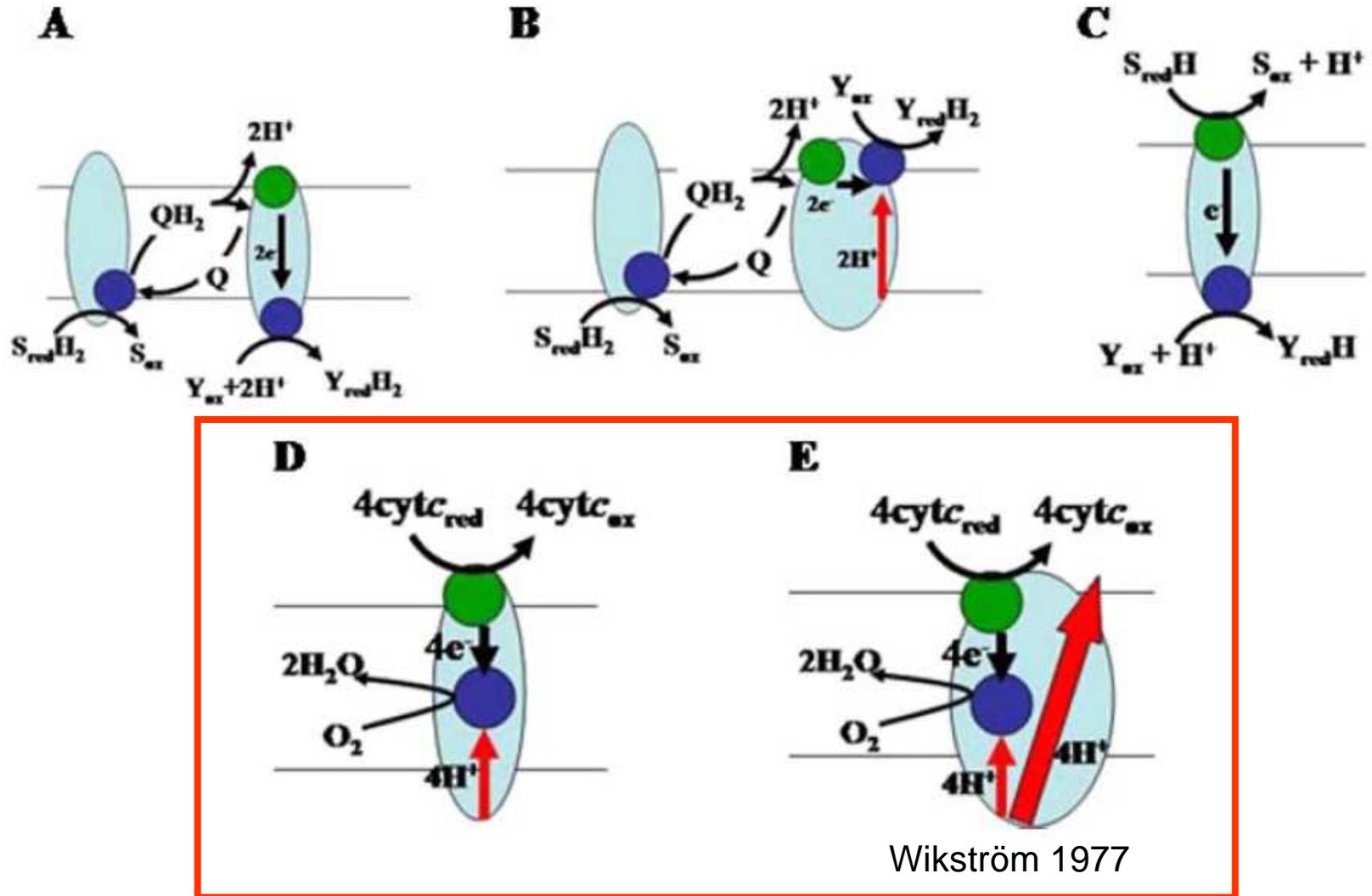
$$\text{Pour } 1 \text{ H}^+ \quad \Delta G = \Delta G_{\text{chim}} + \Delta G_{\text{élec}} = 2,3 \times RT \times \Delta \text{pH} + F \times \Psi$$

$$p = \Delta G / F = \Psi + 0,06 \Delta \text{pH} \quad \text{force proton motrice en V}$$

Cond. Physio.: $\Psi = 0,14\text{V}$; $\Delta \text{pH} = 1,4$; $p = 0,22\text{V}$; $\Delta G = 22 \text{ kJ.mol}^{-1}$

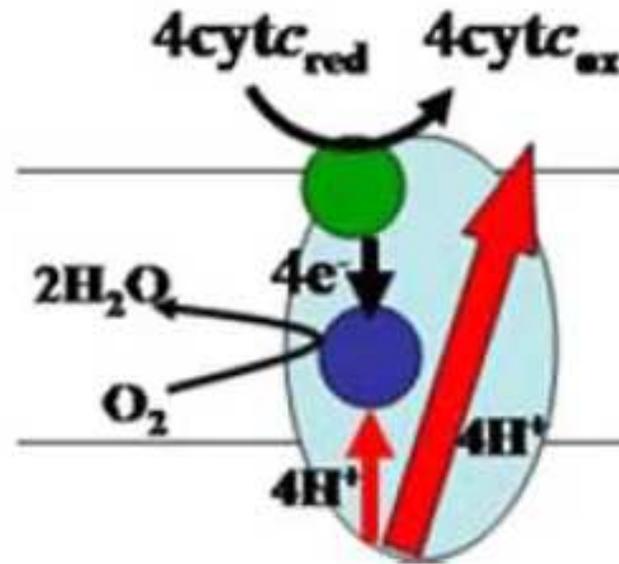
Réduction par NADH (220 kJ.mol^{-1}) permet le passage de 10 H^+

Couplage réactions rédox et gradient de pH

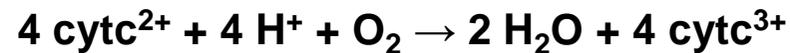


La cytochrome oxydase: une pompe à protons

Énergétique



2 H⁺ / e⁻ !!
(50 Å)



$\Delta E \sim 500 \text{ mV}$ (820 – 260)

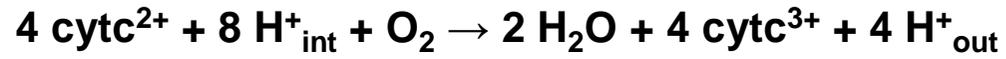
$p \sim 220 \text{ mV}$ (il faut 440 mV pour faire passer 2H⁺)

« driving force » $\sim 60 \text{ mV}$ par électron

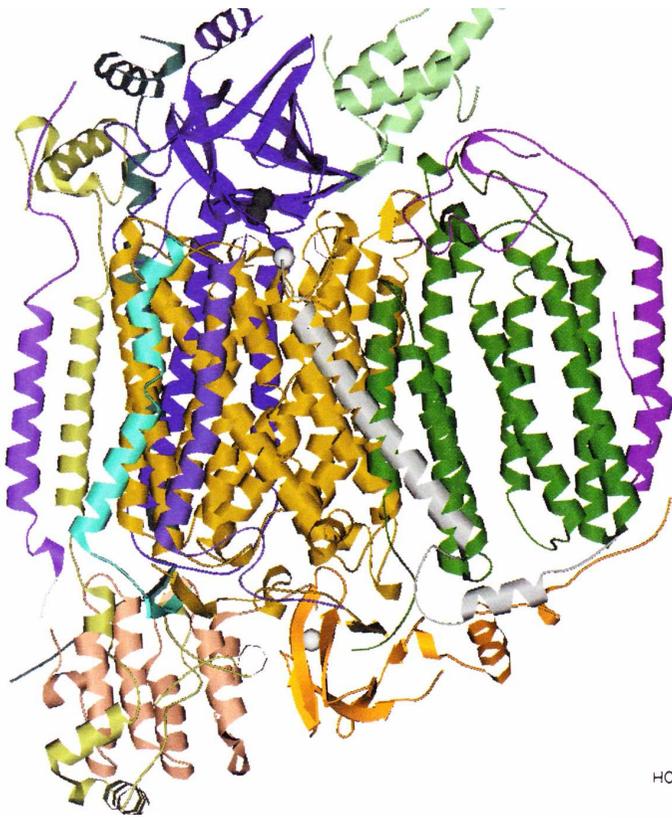


Couplage entre le transfert d'électrons et le transfert des protons pour donner H₂O (« H⁺ chimiques ») et pour créer le $\Delta p\text{H}$ le plus grand (« H⁺ pompés »)

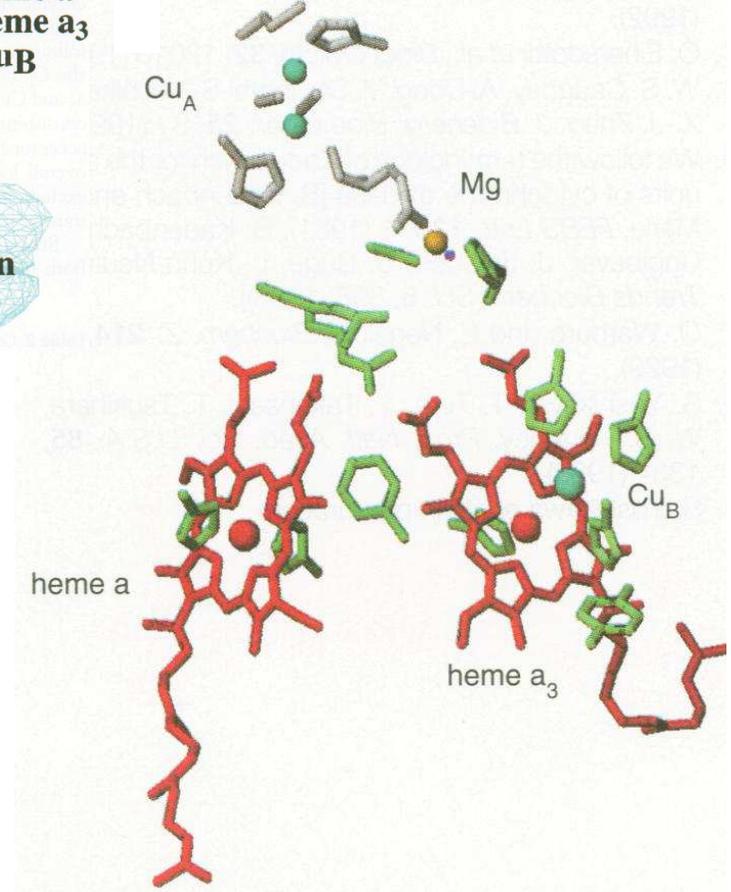
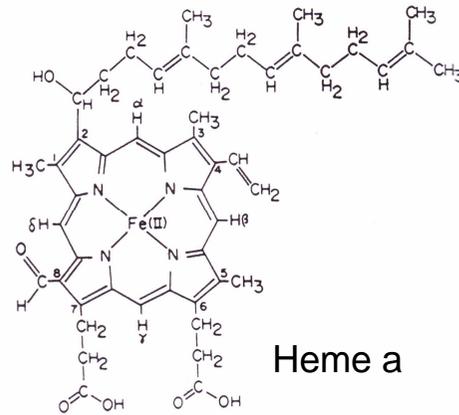
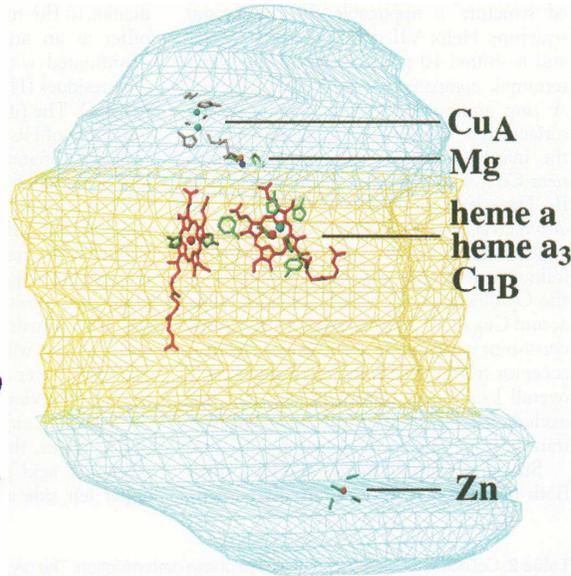
La cytochrome oxydase: structures



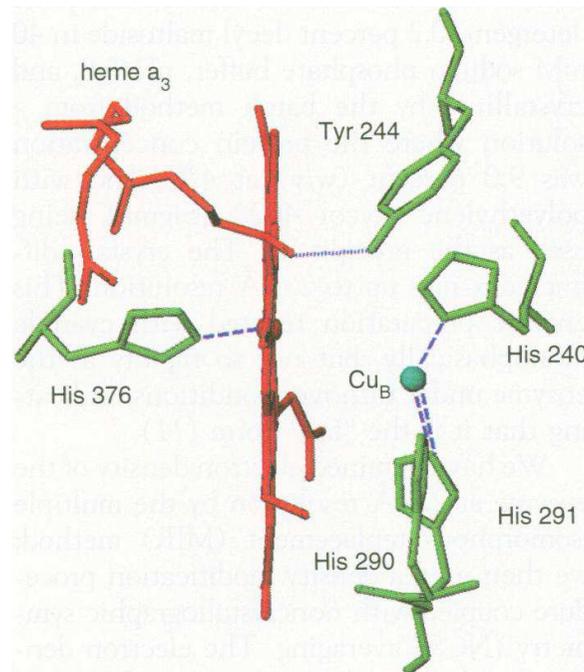
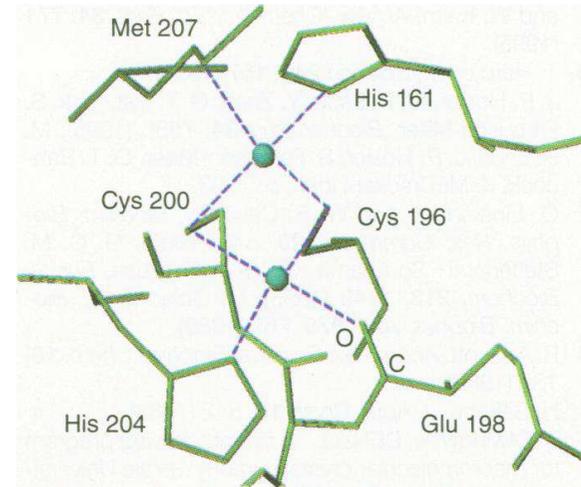
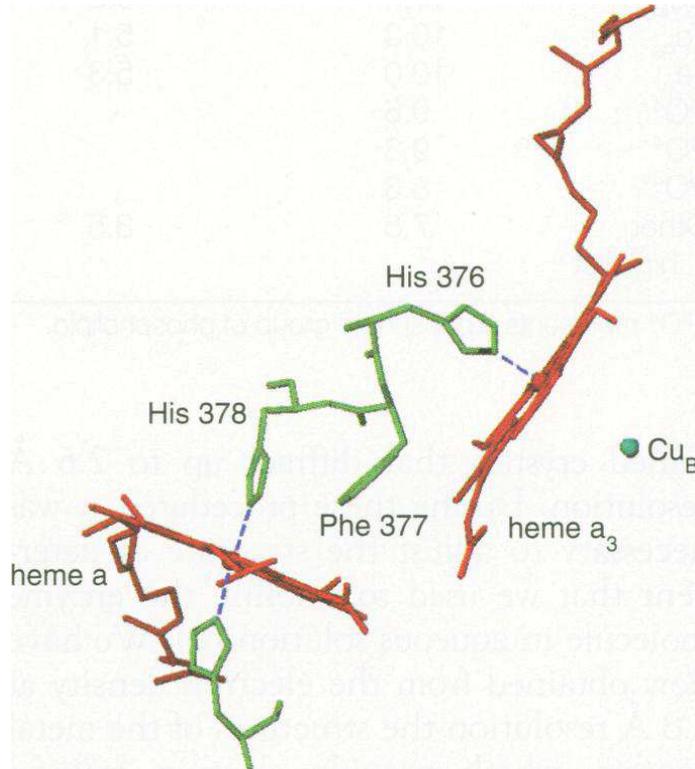
- Mitochondries de cœur de bœuf (1995)
- Paracoccus denitrificans (1995)
- E. coli (2000)
- T. thermophilus (2000)
- Rhodobacter sphaeroides (2002)
- Résolution: 1,8-2,5 Å



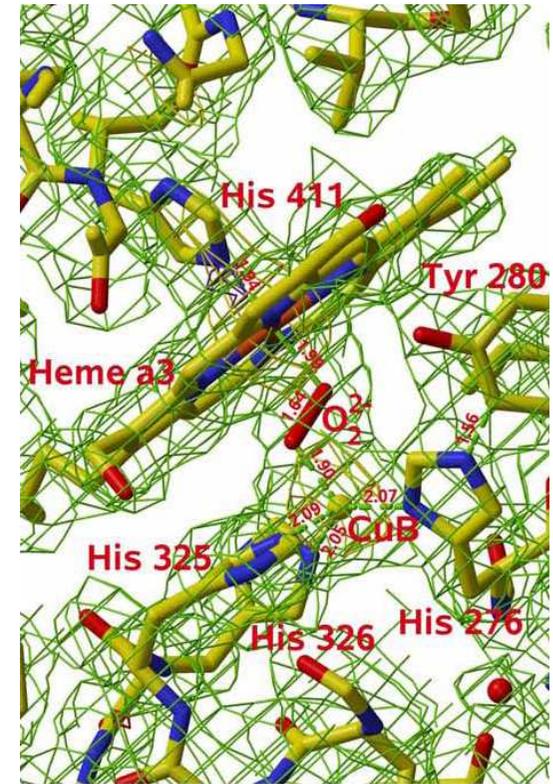
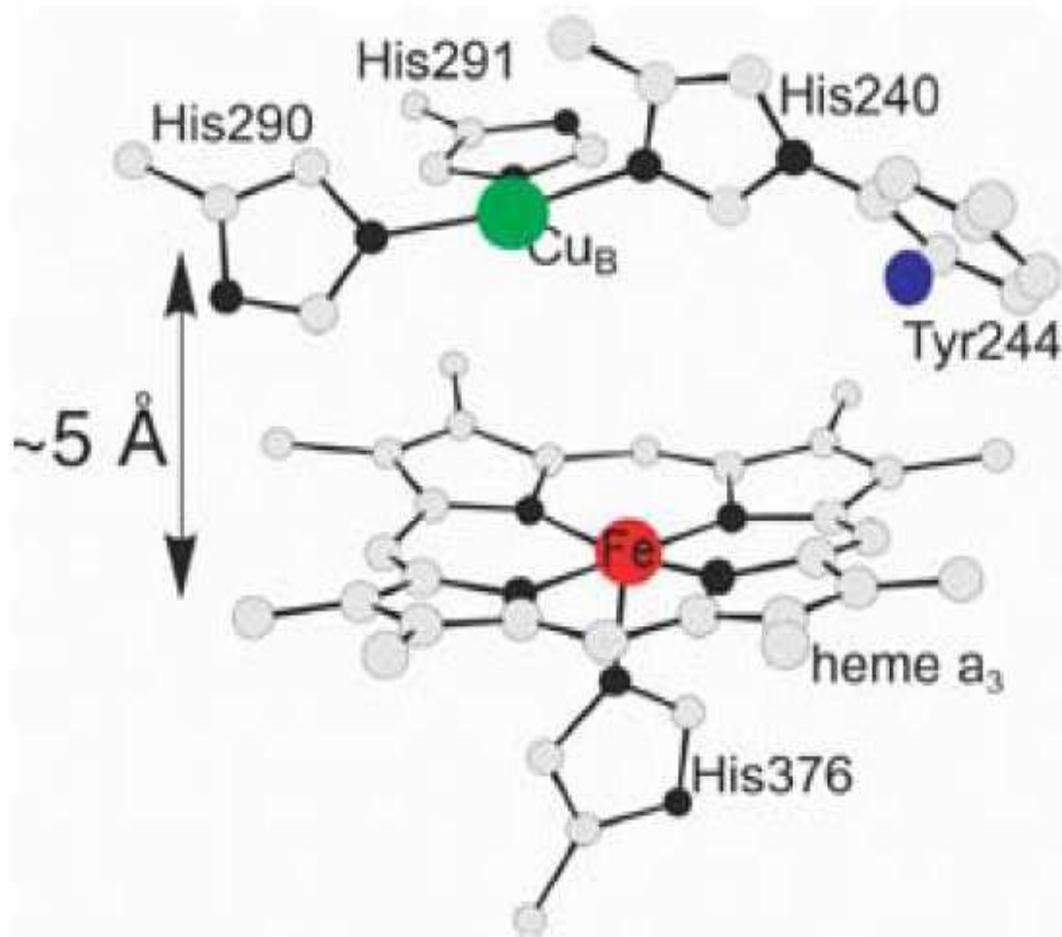
420000 Da
13 sous unités



La cytochrome oxydase: cofacteurs métalliques



La cytochrome oxydase: le site de réduction d'O₂

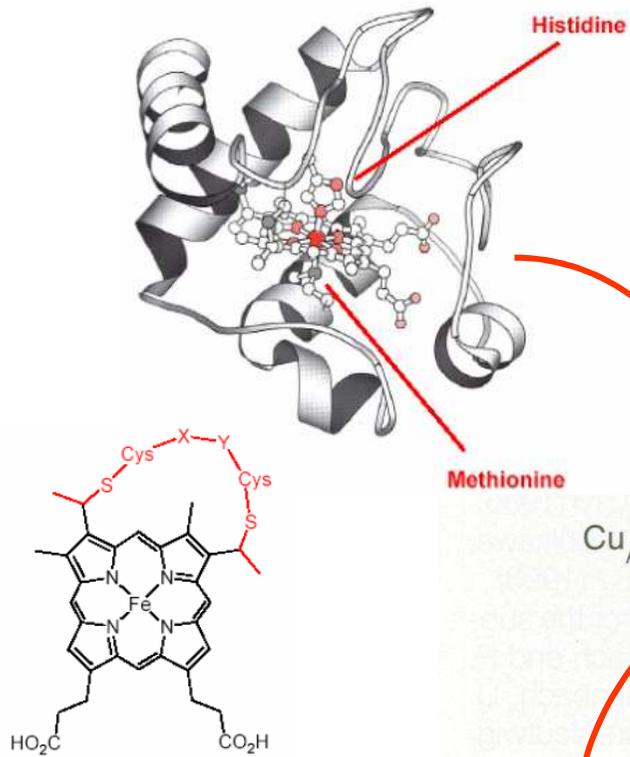


H Michel, BBA (2009) sous presse

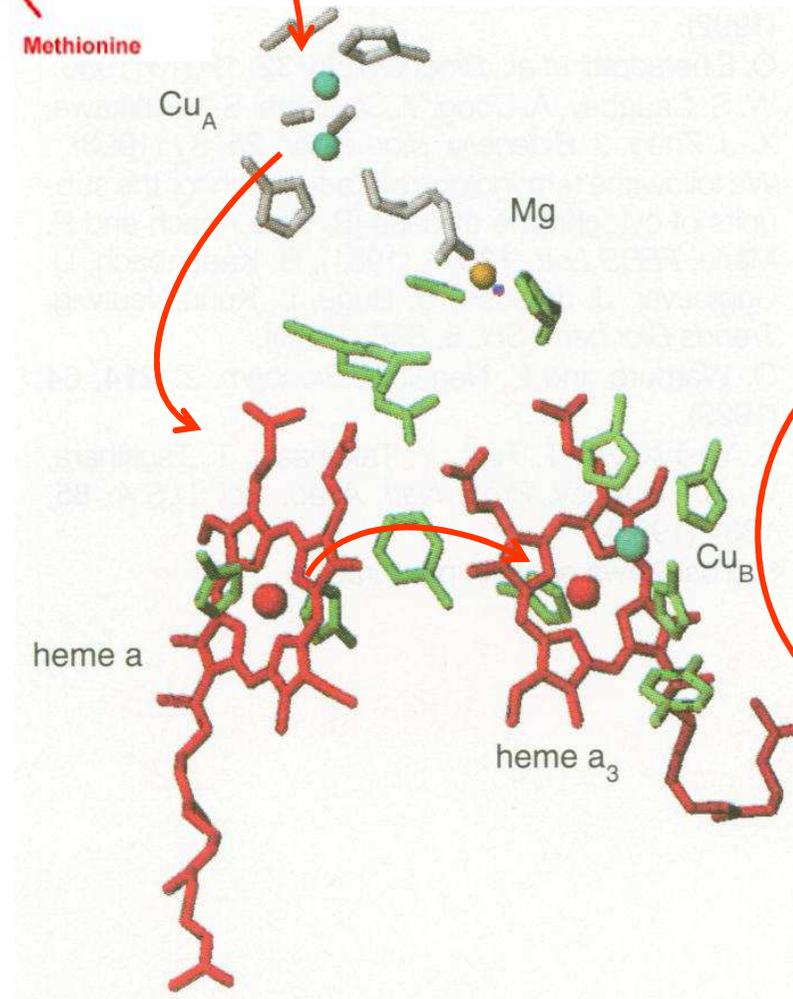
JP Collman, Chem. Comm. (2008) 5065

La cytochrome oxydase: mécanismes de transfert d'électrons

- Une réduction à 4 électrons avec un site actif qui n'en stocke que 2 !!?? (cf photosystème)
- 4 processus monoélectroniques sans relarguage de produits intermédiaires de réduction d'O₂



← Le cytc donne ses électrons un par un (0,1 ms; étape limitante)

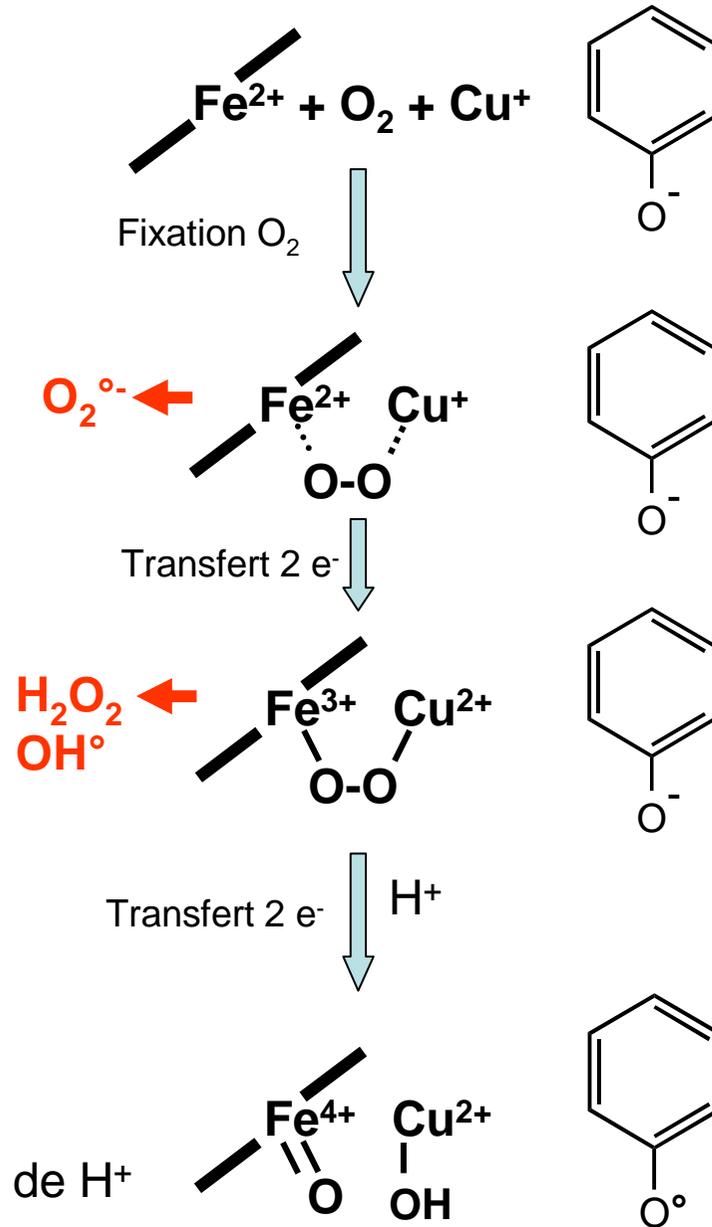
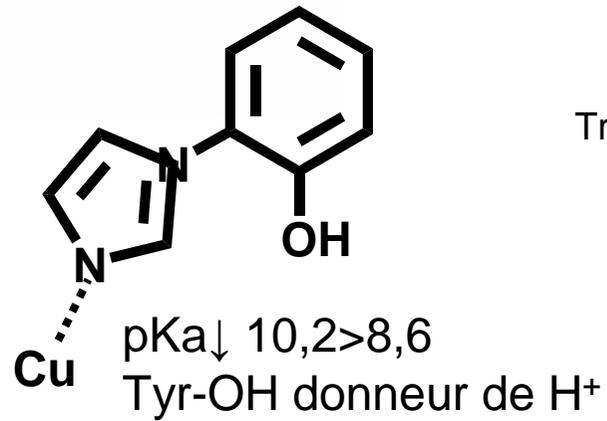
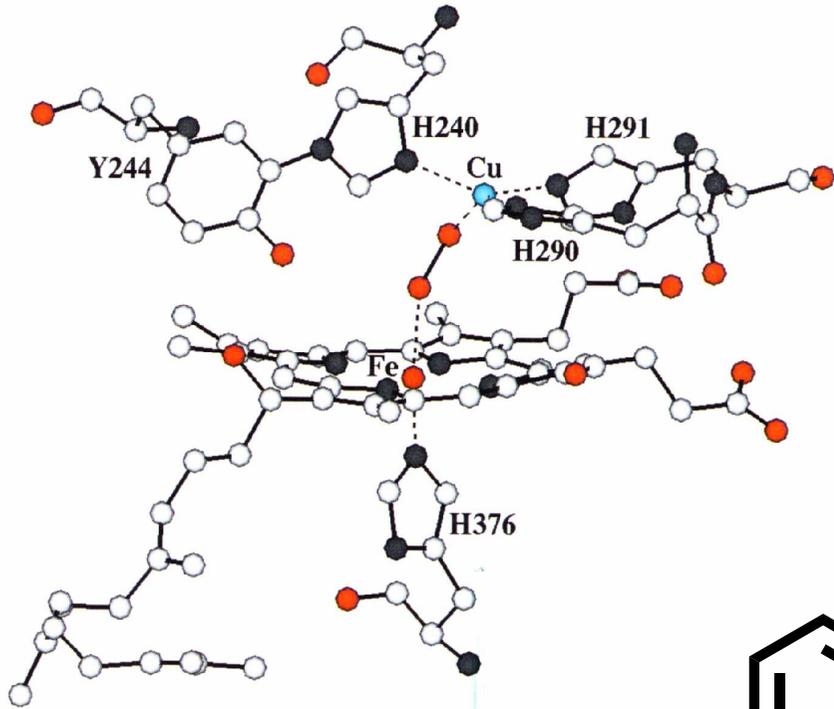


2 H₂O

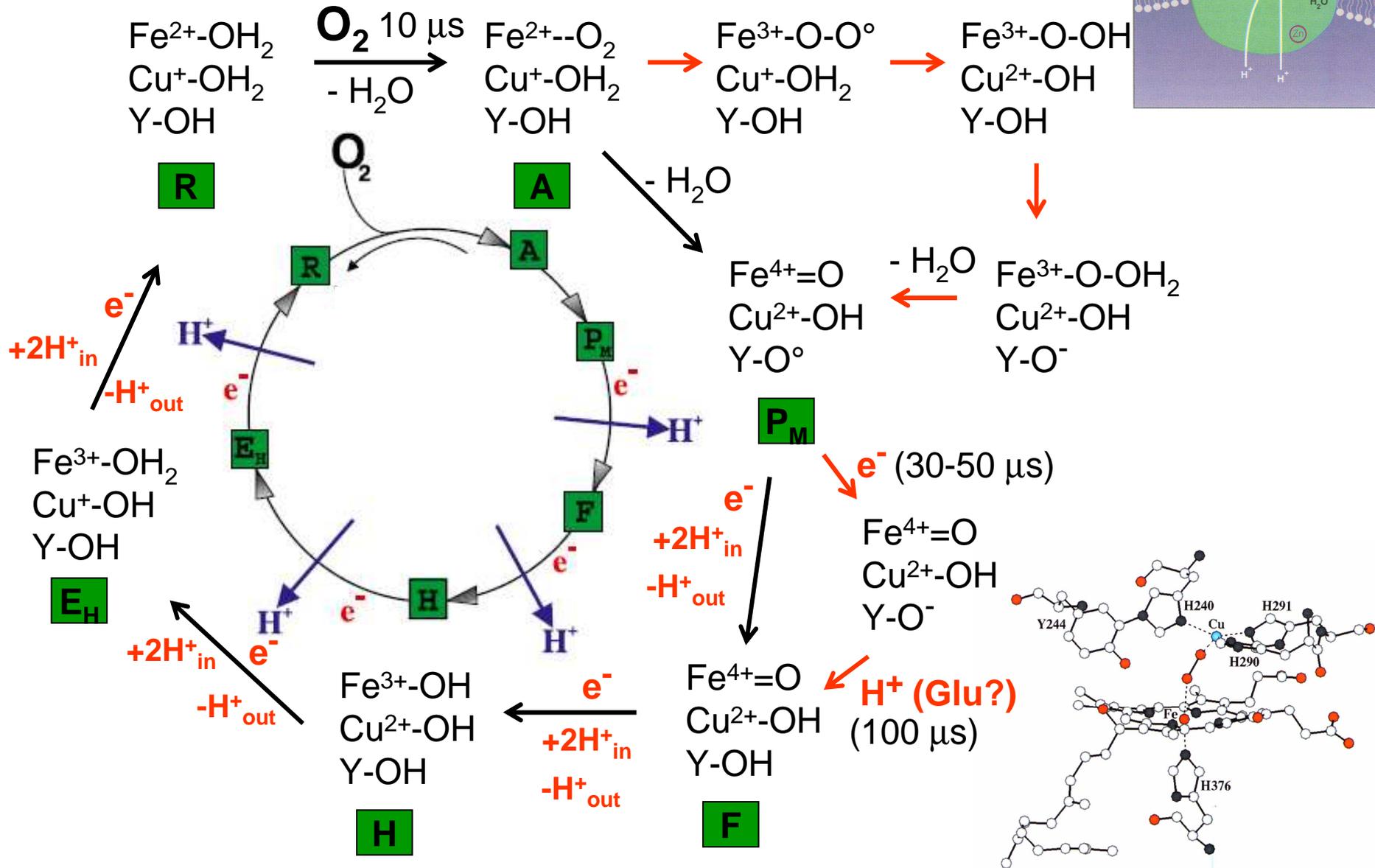
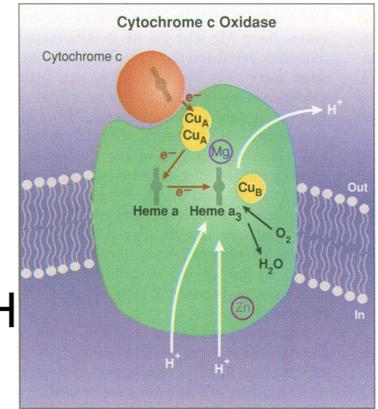
← Le site actif réduit O₂ à 4 électrons (250 μs)

O₂

Une réduction à 4 électrons.....
avec un site actif réduit à 2 électrons



Transfert d'électrons couplé au transfert de protons

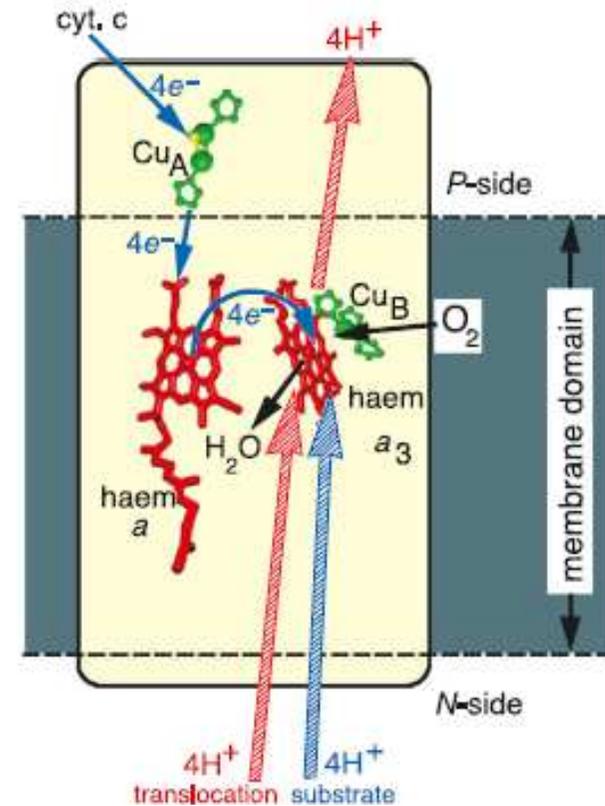


La cytochrome oxydase: mécanismes de transfert de protons

→ Principe d'électroneutralité
 $1 e^- \rightarrow 1 H^+$

→ Affinité des intermédiaires réactionnels pour H^+

→ Pompe à protons ?



Question 1: y a-t-il plusieurs canaux à H^+ ?

Question 2: est ce que les « H^+ chimiques » et les « H^+ pompés » utilisent le même chemin ?

Question 3: comment se fait le couplage « transfert e⁻/transfert H^+ » ?



Available online at www.sciencedirect.com



Biochimica et Biophysica Acta 1655 (2004) 241–247



Review

Cytochrome *c* oxidase: 25 years of the elusive proton pump

Mårten Wikström*

Helsinki Bioenergetics Group, Institute of Biotechnology, University of Helsinki, Biocenter 3 (Viikinkaari 1) PB 65, FI-00014 Helsinki, Finland

Received 2 June 2003; accepted 14 July 2003

J Bioenerg Biomembr (2008) 40:521–531

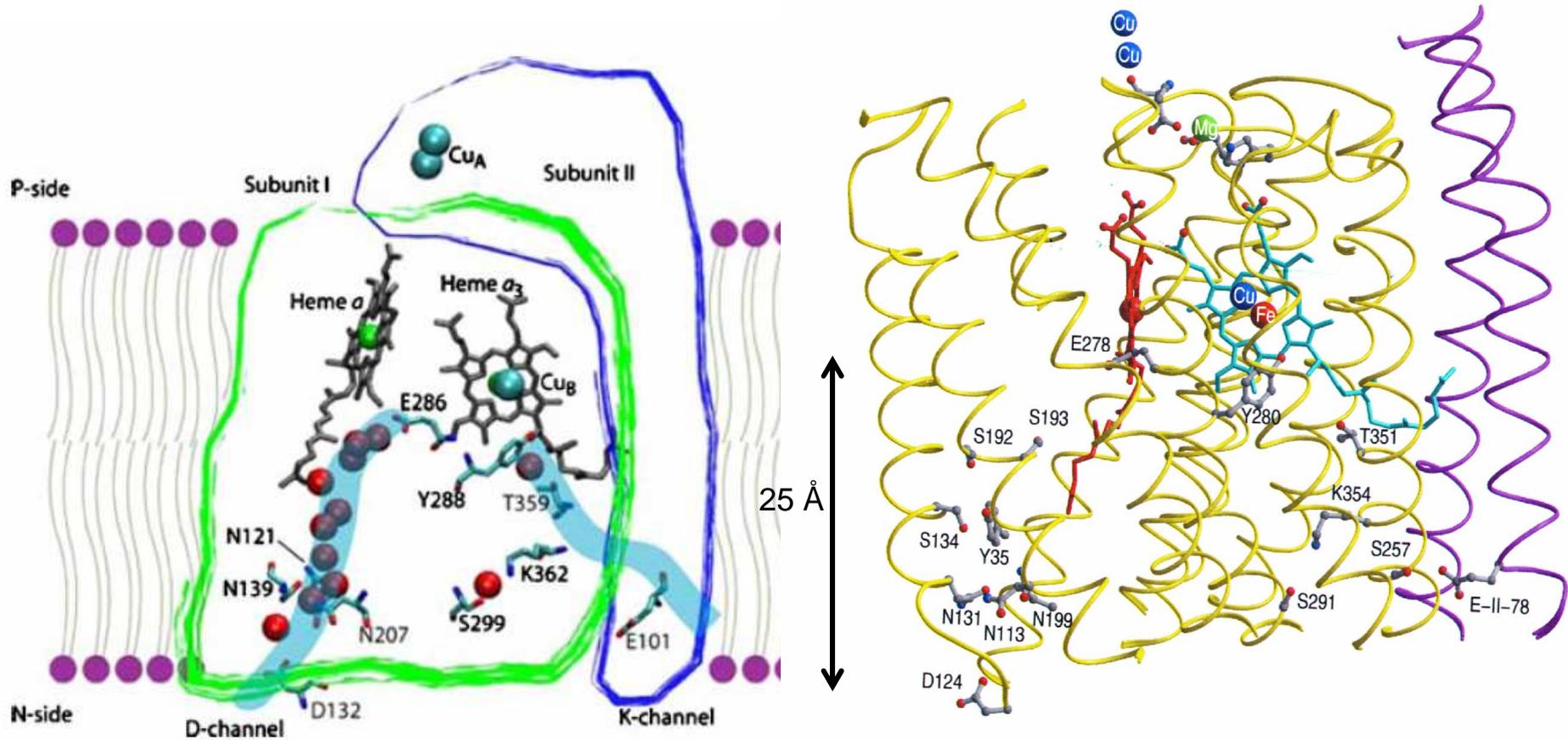
DOI 10.1007/s10863-008-9181-7

Cytochrome *c* oxidase: exciting progress and remaining mysteries

Peter Brzezinski • Robert B. Gennis

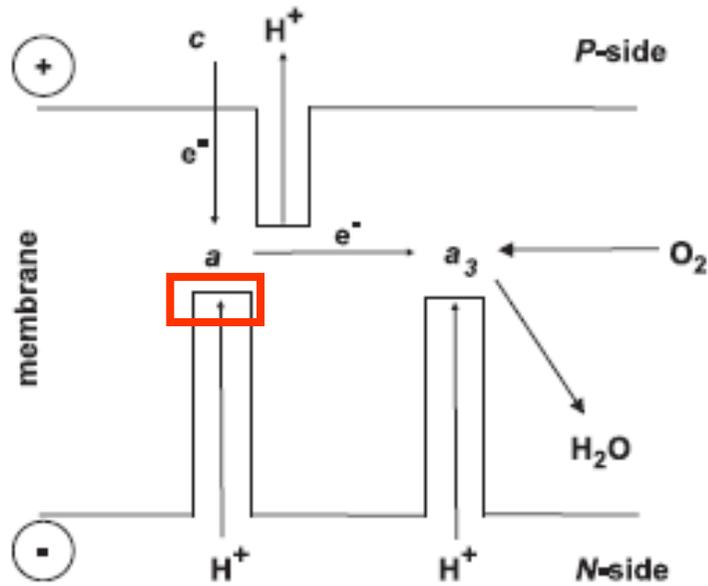
Question 1: Plusieurs canaux potentiels

Question 2: des canaux différents pour « H⁺ chimiques » et les « H⁺ pompés » ?

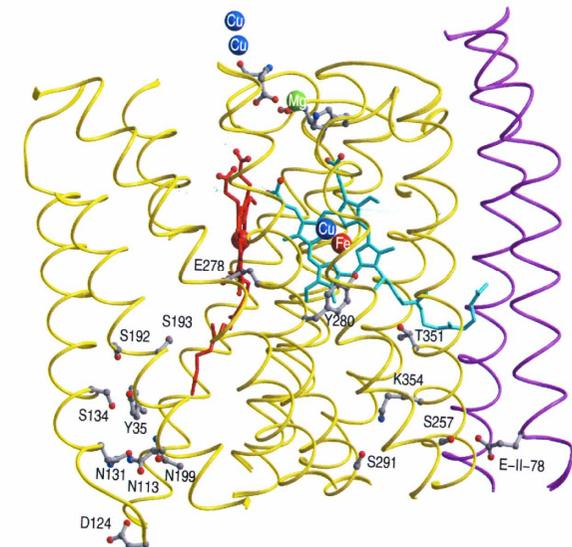
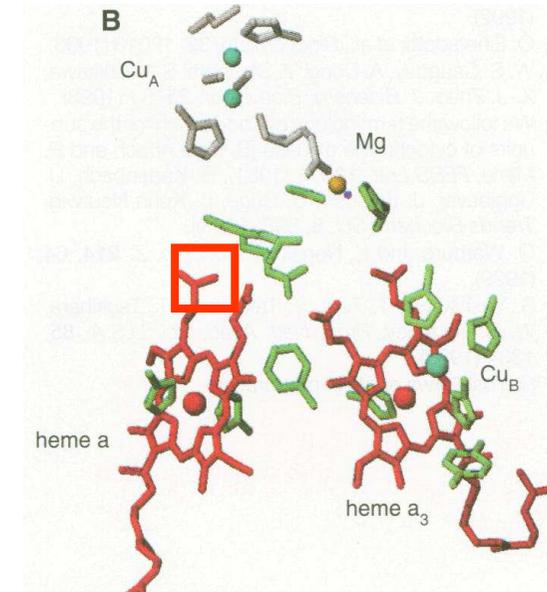


Question 2: des canaux différents pour « H⁺ chimiques » et les « H⁺ pompés » ?

Modèle 1 (Wikström 1978)

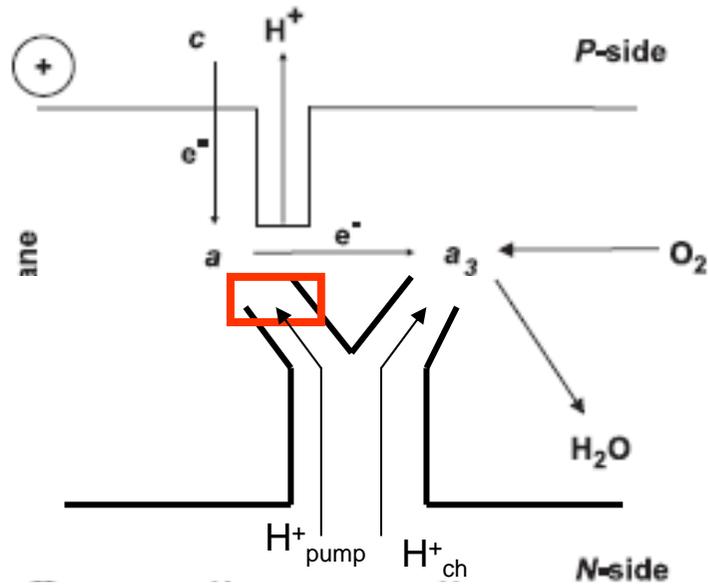


 Site de protonation de la pompe ? (propionate ? AA ? ?)

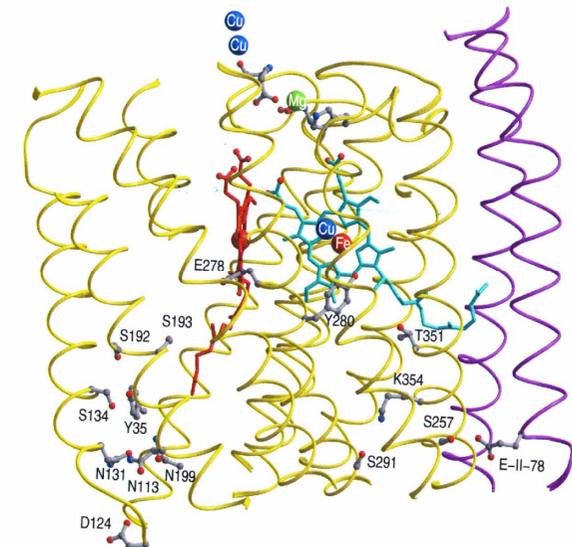
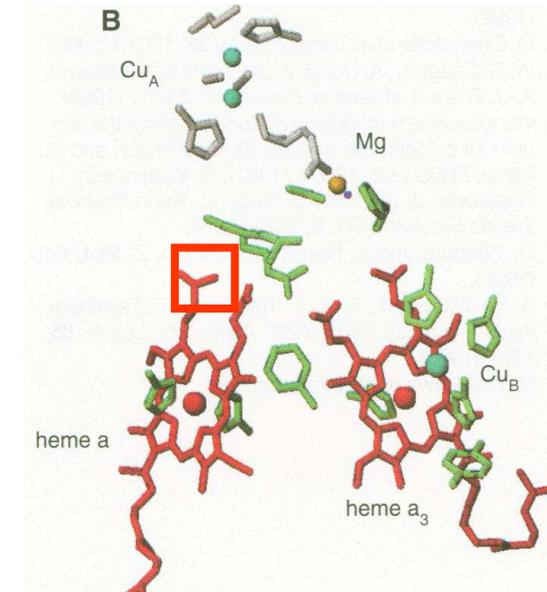


Question 2: des canaux différents pour « H⁺ chimiques » et les « H⁺ pompés » ?

Modèle 2

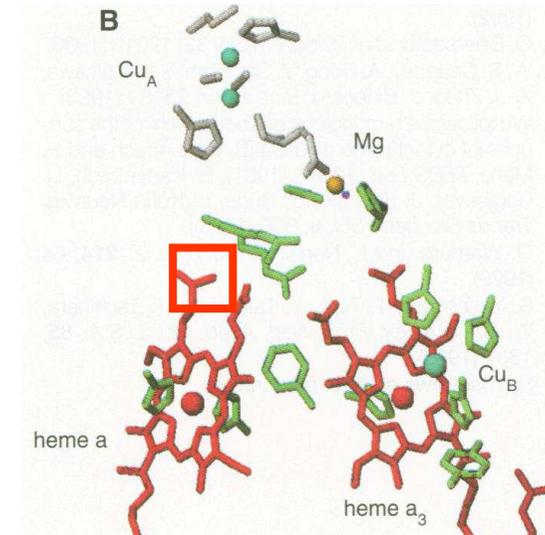
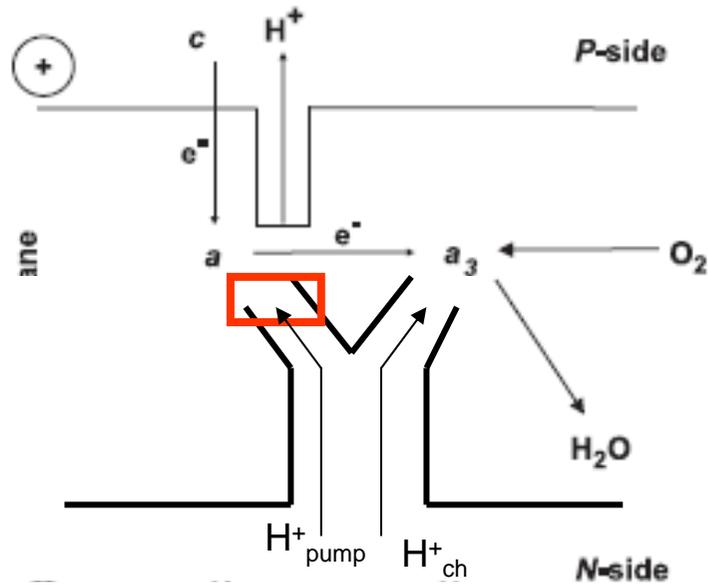


Site de protonation de la pompe ?
(propionate ? AA ? ?)

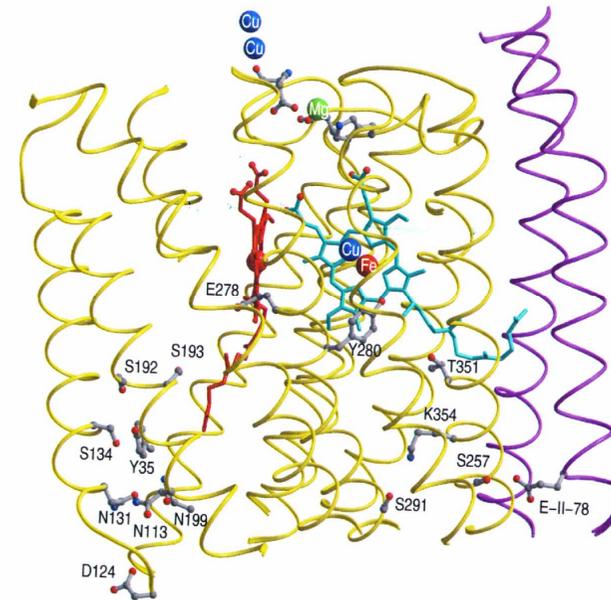


Question 3: comment se fait le couplage transfert d'électrons/transfert de protons ?

Modèle 2



 Site de protonation de la pompe ?
(propionate ? AA ? ?)



Conclusion:

Avec un électron, transporter deux protons à travers la membrane ???

- 1 Un e^- passe de cytc à Cu_A puis à hème a
- 2 Un H^+ traverse (canal D) pour neutraliser la charge et finit au niveau de l'hème a ??
- 3 Cette protonation change le potentiel rédox de l'hème a et déclenche la réduction de a_3/Cu_B
- 4 L'apport d'une charge négative produit un intermédiaire ayant une forte affinité pour H^+
- 5 L'arrivée du second proton 4 et le départ de l'électron 3 au niveau de l'hème a déclenche L'expulsion du proton du site « hème a » 2

