

> Le complexe  $bc_1$  est central dans l'organisation des oxydations phosphorylantes. Il est largement accepté aujourd'hui que le fonctionnement de ce complexe obéit au schéma décrit par P. Mitchell sous le nom de « cycle Q ». Nous avons montré, en nous appuyant sur un modèle stochastique du transfert des électrons, que la structure de ce complexe permet naturellement l'émergence du cycle Q et minimise les courts-circuits non générateurs d'un gradient de protons transmembranaire. Cette approche fournit un cadre conceptuel général bien adapté à la modélisation des réactions d'oxydoréduction de l'ensemble des complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale et de leurs dérèglements pathologiques. <

## Le complexe $bc_1$ de la chaîne respiratoire mitochondriale fonctionne selon l'hypothèse du cycle Q de Mitchell La preuve par une approche stochastique ?

Jean-Pierre Mazat, Stéphane Ransac



Inserm U688,  
 Université de Bordeaux 2,  
 146, rue Léo-Saignat, F 33076,  
 Bordeaux Cedex, France.  
[jpm@u-bordeaux2.fr](mailto:jpm@u-bordeaux2.fr)

Les mitochondries (Figure 1) sont des organites cellulaires entourés de deux membranes qui sont considérées comme la centrale énergétique de la cellule [1-3] (→).

(→) Voir les trois articles de la série *Dynamique mitochondriale* publiés dans le numéro d'octobre 2010 de *Médecine/Sciences*, pages 823-841

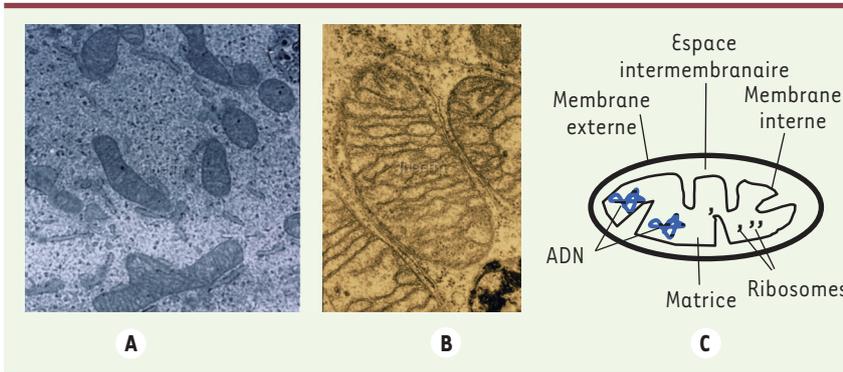
L'énergie produite par les mitochondries sous forme d'ATP provient de la réaction de l'oxygène avec les produits de dégradation de notre alimentation qui sont essentiellement réducteurs (Figure 2). Les produits ultimes de cette dégradation entraînent la conversion des coenzymes oxydés  $NAD^+$  et FAD (flavine adénine dinucléotide) en leurs équivalents réduits  $NADH$  et  $FADH_2$ . La rencontre des coenzymes réduits, véritables monnaies d'échange des réactions d'oxydoréduction, avec l'oxygène ne se fait pas directement mais à travers une série de réactions d'oxydoréduction successives catalysées par des complexes protéiques hautement structurés, numérotés de I à IV (Figure 3). C'est au niveau des complexes I, III et IV que s'opère la récupération de l'énergie sous la forme d'un gradient de protons  $H^+$  extraits de l'intérieur des mitochondries vers l'espace intermembranaire. Ce gradient électrochimique de protons permet ensuite la synthèse d'ATP à travers un autre complexe protéique, l'ATP synthase (appelé aussi quelquefois complexe V), qui est un véritable moteur moléculaire [4]. C'est la théorie chimio-osmotique de Mitchell [5, 6].

La structure de la plupart des complexes de la chaîne respiratoire est maintenant connue (Figure 3). Les structures cristallines permettent de prédire assez clairement un cheminement des électrons et, dans certains cas, des protons associés à la réaction d'oxydoréduction catalysée par ces complexes. Dans le cas du complexe III (ou complexe  $bc_1$ ), deux chemins pour les électrons furent mis en évidence (Figure 4) lors de l'établissement de la structure cristallographique. Cette découverte venait conforter une hypothèse faite également par Mitchell en 1975 [6, 7] sous le nom de « cycle Q » ou « cycle des quinones » dans lequel il était postulé, et c'était l'hypothèse de base, que les deux électrons apportés par la molécule de quinol ( $QH_2$ ) suivaient des chemins différents (Figure 5).

Nous décrivons dans cet article comment une approche stochastique prenant en compte la structure maintenant connue du complexe III et les potentiels redox standard des différents centres redox permet de montrer que le complexe III fonctionne réellement selon l'hypothèse du « cycle Q » de Mitchell.

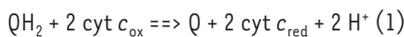
### Le complexe III ou complexe $bc_1$ L'hypothèse du cycle Q de Mitchell

Comme on le voit sur la Figure 3, le complexe III est central dans la chaîne respiratoire. Il est en effet situé entre d'une part, les complexes I, II



**Figure 1. Images de mitochondries en microscopie électronique et schéma classique de l'organisation des mitochondries.** A. Mitochondries de fibroblastes de peau, microscope électronique à transmission (source : Vincent Procaccio, © Inserm, Serimedis). B. Image en microscopie électronique de trois mitochondries à l'intérieur d'une cellule du foie en culture (source : Bruno Clément, © Inserm, Serimedis). C. Schéma d'une mitochondrie.

et diverses déshydrogénases qui réduisent l'ubiquinone (Q) en ubiquinol (QH<sub>2</sub>) et d'autre part, la cytochrome oxydase ou complexe IV qui catalyse l'oxydation par l'oxygène du cytochrome c réduit en cytochrome c oxydé. Globalement la réaction catalysée par le complexe III peut s'écrire :



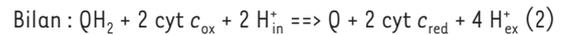
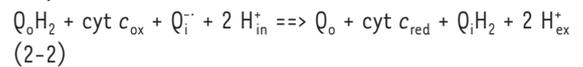
Pour expliquer les propriétés cinétiques et thermodynamiques particulières du complexe III et l'apparente absence de transporteur de protons, Mitchell, en 1975 [6, 7], fait l'hypothèse de l'existence de deux sites de fixation des quinones sur le complexe III, dont l'un, Q<sub>o</sub>, près de la face externe de la membrane mitochondriale interne, fixera préférentiellement QH<sub>2</sub> et libérera 2 H<sup>+</sup> à l'extérieur, et l'autre, Q<sub>i</sub>, près de la face interne de la membrane mitochondriale interne, fixera préférentiellement Q et captera 2 H<sup>+</sup> pour former QH<sub>2</sub>. Tout se passerait comme si les quinones jouaient le rôle de transporteurs de H<sup>+</sup>. Les électrons d'une molécule de QH<sub>2</sub> fixée en Q<sub>o</sub> pourront quant à eux emprunter deux chemins : l'un vers la réduction du cytochrome c, l'autre à l'intérieur du complexe III pour aller réduire la molécule de Q. Comme il faut deux

électrons pour cela, il faudra deux cycles qui peuvent s'écrire de la manière suivante :

1<sup>er</sup> cycle :



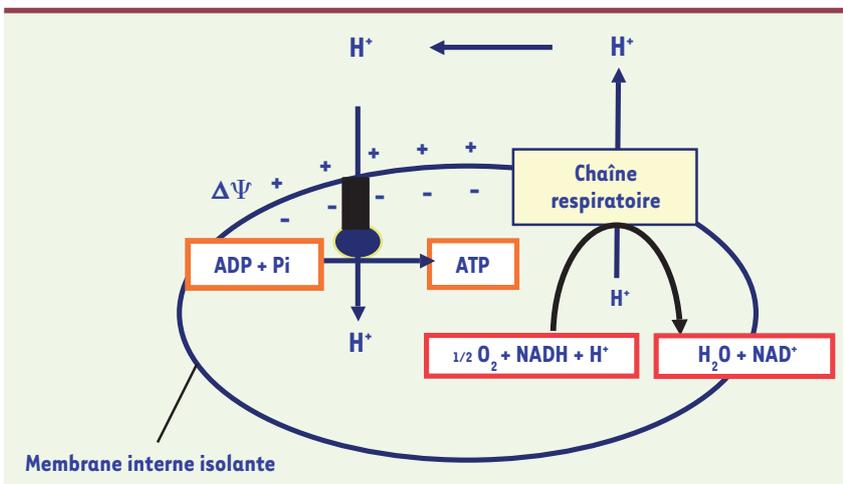
2<sup>e</sup> cycle :



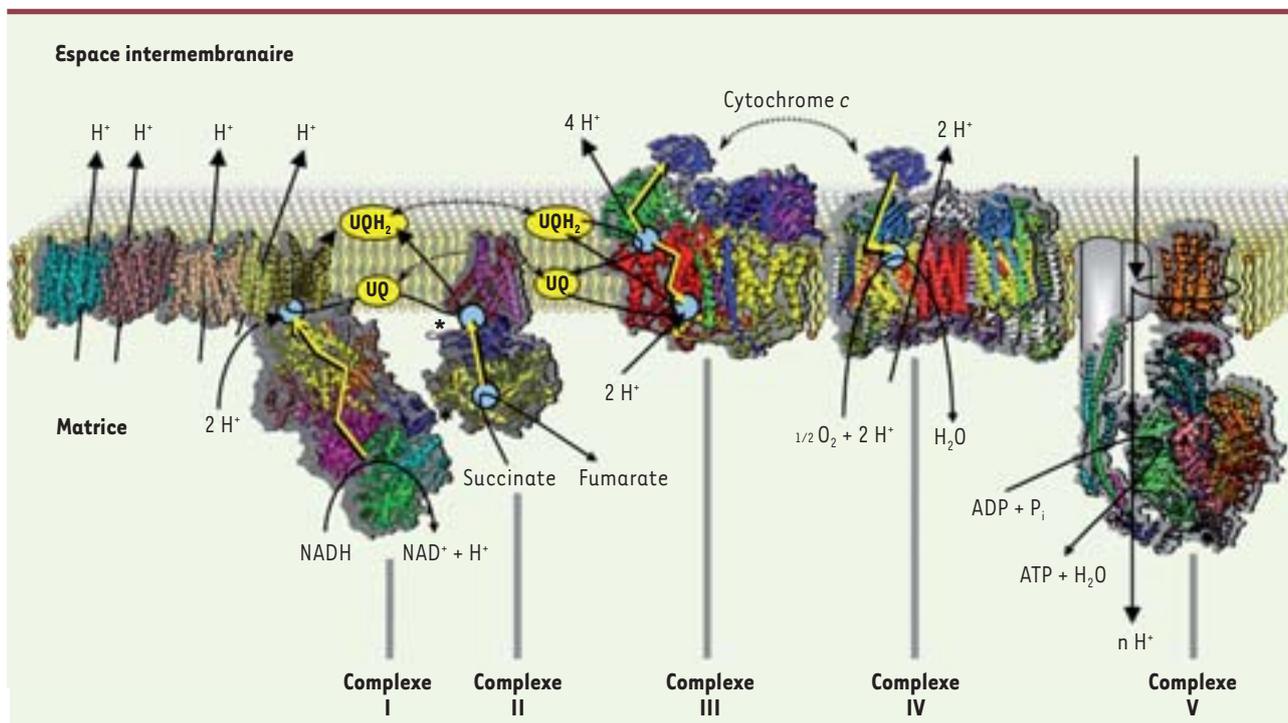
Q<sup>-</sup> désigne la molécule de semiquinone qui sera notée SQ dans la suite. Q<sub>o</sub>H<sub>2</sub> indique une molécule de QH<sub>2</sub> fixée en Q<sub>o</sub>, Q<sub>i</sub>, une molécule de Q fixée en Q<sub>i</sub>, etc.

### Le niveau moléculaire

Ce très subtil schéma de fonctionnement proposé par Mitchell a servi d'hypothèse de travail jusqu'à maintenant.



**Figure 2. La théorie chimio-osmotique de Mitchell.** Le couplage entre les réactions d'oxydoréduction de la chaîne respiratoire et la synthèse d'ATP se fait par l'intermédiaire d'un gradient de protons induisant à la fois une différence de concentration en protons [H<sub>ex</sub><sup>+</sup>] > [H<sub>in</sub><sup>+</sup>] et une différence de potentiel ΔΨ.



**Figure 3. Les oxydations phosphorylantes mitochondriales.** Les transferts d'électrons au sein des complexes sont représentés par des flèches jaunes. Les sites de couplage explicite entre transfert d'électrons et de protons sont indiqués par des cercles bleus clairs. Les sites de couplage au niveau du complexe II sont signalés par des astérisques; le transfert de protons n'a pas été indiqué ici car les deux réactions se neutralisent (l'oxydation du succinate libère deux protons et la réduction de l'ubiquinone [UQ] les reprend). Les protons transportés par un mécanisme de pompe (complexes I et IV) sont indiqués par des flèches noires traversant les complexes. Les stœchiométries indiquées sont pour deux électrons (donc une molécule de NADH ou une demi-molécule d'oxygène) (© figure et légende réalisées par Francis Haraux).

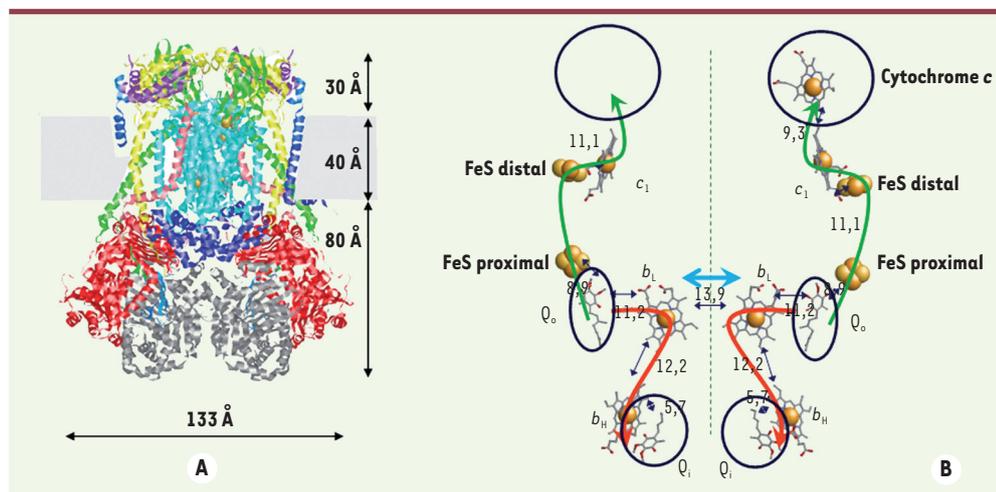
Il a permis d'interpréter l'ensemble des données expérimentales et il existe un consensus très général pour accepter ce mécanisme. Toutefois depuis 1998, la structure cristallographique du cytochrome  $bc_1$  est connue avec une bonne précision [8, 9] (Figure 4A). Cette structure a effectivement révélé deux sites de fixation pour les quinones/quinols ainsi que deux chemins possibles pour les électrons à partir du site  $Q_0$  (Figure 4B). Par ailleurs, les travaux de Leslie Dutton et Chris Moser [10] ont permis de déterminer de manière générale les constantes de vitesse théoriques des réactions d'oxydoréduction par effet tunnel, en fonction principalement de la distance entre les centres réactionnels et de la différence de potentiel d'oxydoréduction standard entre les centres réactionnels (Figure 6). Les distances entre les centres réactionnels sont maintenant connues grâce à la cristallographie et les potentiels d'oxydoréduction standard ont été mesurés depuis longtemps. Nous avons donc en principe tous les éléments pour calculer les constantes de vitesse de réaction entre les centres d'oxydoréduction et ainsi simuler son fonctionnement.

### L'approche stochastique

Les réactions d'oxydoréduction à l'intérieur d'une molécule de cytochrome  $bc_1$  sont des événements isolés. Une modélisation classique par

équations différentielles est donc mal adaptée dans ce cas, car ces dernières, par principe, traitent de réactions entre des populations de molécules. Nous devons plutôt considérer ici une seule macromolécule de complexe  $bc_1$  avec des passages aléatoires d'un électron entre les centres redox. Cette approche stochastique des réactions chimiques ou enzymatiques a été abordée par Gillespie [11]. La méthode est relativement simple. La probabilité d'occurrence d'une réaction  $i$  est proportionnelle à la valeur de  $a_i = k_i \times |A_i|$  (on considère ici seulement des réactions simples du type  $A \Rightarrow B$  ou transfert d'un électron;  $|A_i|$  désigne le nombre de molécules de l'espèce  $A_i$ ; et  $k_i$  la constante de vitesse de la réaction  $i$ ). Autrement dit, une réaction a d'autant plus de chance de survenir qu'elle est rapide.

Il suffit donc d'effectuer un tirage au sort pour choisir la première réaction  $i$  qui aura lieu à un instant donné. Pour ce faire, on construit un intervalle (ou segment) de longueur  $a_0 = \sum a_i$  en mettant bout à bout dans un ordre quelconque les différents intervalles  $a_i$ . Puis on tire au sort un nombre  $r_i$  compris entre 0 et  $a_0$ . Le segment  $i$  à l'intérieur duquel tombe ce nombre donne la réaction



**Figure 4. Structure du complexe  $bc_1$  dimérique.** **A.** Structure du cristal de complexe  $bc_1$  de bœuf (PDB [protein data bank] Id: 2A06). La position de la membrane est figurée en gris. **B.** Vue des différents groupes prosthétiques et des sites de fixation des quinones (entourés) dans le cytochrome  $bc_1$  (dimère). Le site de fixation du cytochrome  $c$  est aussi entouré. Les distances bord à bord entre les différents centres

sont données en Å. On notera les deux positions possibles, proximale et distale, du centre FeS associées au mouvement de la tête de la protéine nommée protéine de Rieske. On notera aussi la distance de 13,9 Å entre les hèmes  $b_L$  permettant un échange d'électrons entre les deux monomères du dimère. Les sites  $Q_0$  et  $Q_i$  sont occupés par une molécule de quinone. Les deux chemins possibles des électrons sont figurés en orange et vert.

qui aura lieu. Il faut ensuite déterminer le temps auquel elle aura lieu. Pour cela, on se base sur le fait que cette réaction  $i$  se produira avec une probabilité donnée par une loi exponentielle dont la constante est  $a_0$  (et non  $a_i$ ), ce qui amène à tirer un deuxième nombre au hasard  $u_1$  entre 0 et 1. Le temps  $\tau_1 = -1/a_0 \cdot \ln(u_1)$  auquel cette réaction aura lieu est ajouté au temps initial ( $t = 0$  en général), les nouveaux états oxydés/réduits, c'est-à-dire 0 ou 1 électron, sont recalculés et le processus est recommencé avec le choix de la nouvelle réaction qui prendra place (tirage de  $r_2$ ) et la détermination du temps  $\tau_2$  (tirage de  $u_2$ ) au bout duquel elle aura lieu après la première réaction ( $t = \tau_1 + \tau_2$ , etc.) (voir deux exemples simples en matériels supplémentaires<sup>1</sup>).

### Simulation du fonctionnement du complexe $bc_1$

On a appliqué l'approche de Gillespie à la simulation du fonctionnement d'une molécule unique de complexe  $bc_1$ . Rappelons que les électrons, une fois engagés à l'intérieur d'une molécule de complexe  $bc_1$ , ne passent pas sur une autre molécule de complexe  $bc_1$ . Le modèle comporte 20 réactions par monomère, ce qui fait 78 réactions par dimère en tenant compte de la réversibilité et du fait qu'une des réactions traduit le passage des électrons entre les monomères à travers les hèmes  $b_L$  (elle ne doit pas être comptée deux fois). La Figure 7 montre le résultat de 30 simulations stochastiques comportant plus de 12 000 000 réactions chacune. On a suivi la réduction des molécules de cytochrome  $c$ , produit final de la réaction, dans un état stationnaire comprenant la réoxydation continue de cytochrome  $c$  et la réduction continue de  $Q$  en  $QH_2$ , ces deux étapes n'étant pas considérées comme limitantes. On obtient une vitesse de réaction d'environ  $100 \text{ s}^{-1}$  qui est de l'ordre de ce qui est observé expérimentalement [12-14].

Ce résultat, toutefois, ne nous renseigne pas sur la manière dont s'effectue le passage des électrons dans le complexe  $bc_1$ . En particulier, on

ne sait pas si l'on a affaire à un mécanisme obéissant au schéma du cycle  $Q$  de Mitchell ou non. Le principe du cycle  $Q$  de Mitchell est la séparation des deux électrons issus de  $QH_2$  en  $Q_0$ , l'un partant vers  $FeS^2$ ,  $c_1$  et  $c$ , l'autre vers  $b_L$ ,  $b_H$  et  $Q_i$  (Figure 4). De nombreux résultats expérimentaux indiquent que les deux électrons bifurquent pratiquement en même temps de manière dite concertée et de nombreux mécanismes ont été imaginés pour

<sup>2</sup> Voir glossaire.

### GLOSSAIRE

**Coenzyme Q ou ubiquinone :** c'est un dérivé quinone avec une longue queue isoprénique. Il sert de transporteur d'électrons (et de protons) dans la chaîne respiratoire mitochondriale.

**FeS ou centre fer-soufre :** édifice covalent d'atomes de fer et de soufre pouvant accepter ou donner un électron. Ces édifices, comme les hèmes, sont liés à des protéines effectuant des réactions d'oxydoréduction (complexe I, complexe III).

**Haplogroupe :** groupe d'allèles (variants d'un même gène) permettant de définir des populations. On s'intéresse ici aux haplogroupes de l'ADN mitochondrial.

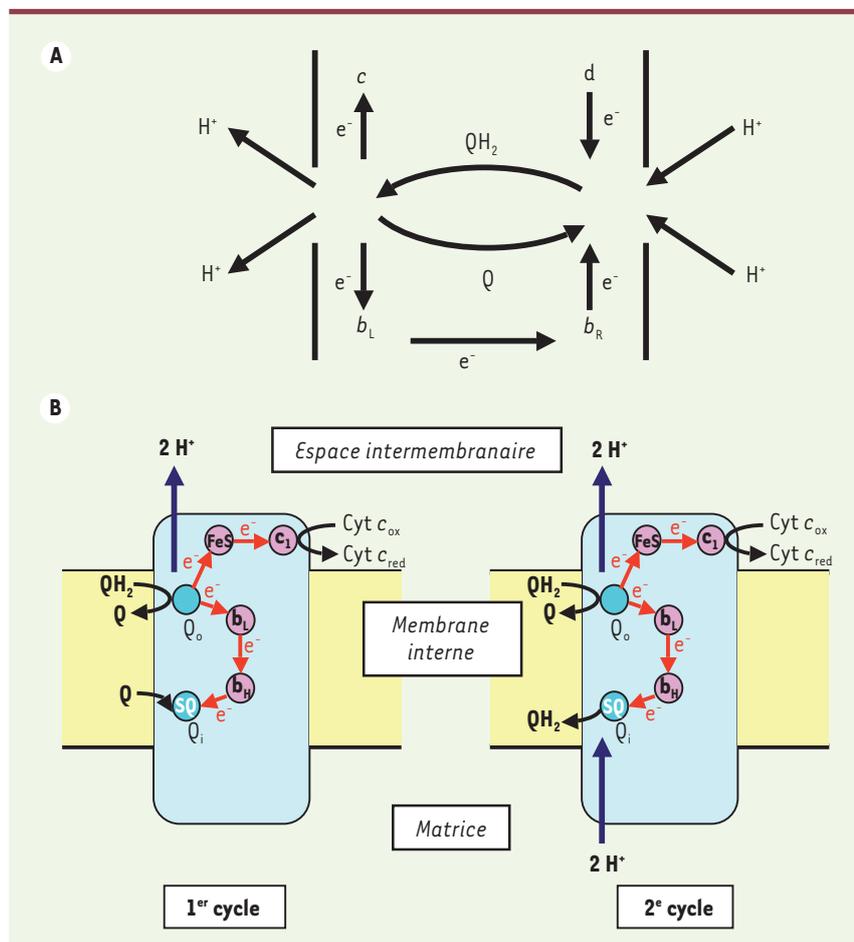
**Semiquinone :** résulte de la réduction de la quinone par capture d'un seul électron. C'est une forme intermédiaire entre la quinone et le quinol, génératrice de radicaux libres.

**Stochastique :** qui s'effectue au hasard selon une loi de probabilité.

**Ubiquinol (quinol en abrégé) :** forme complètement réduite du coenzyme Q (voir ci-dessus).

**Ubiquinone (quinone en abrégé) :** forme oxydée du coenzyme Q.

<sup>1</sup> Ces exemples sont accessibles sur le site : <http://www.edk.fr>



**Figure 5. Le cycle Q de Mitchell.** **A.** Le schéma original de Mitchell [7]. **B.** Schéma actuel prenant en compte la structure connue d'un monomère de cytochrome  $bc_1$ . On notera les deux sites  $Q_o$  et  $Q_i$  de fixation des quinones et les deux chemins d'électrons : l'un par FeS vers le haut de la figure, l'autre par  $b_L$ ,  $b_H$  et  $Q_i$  vers le bas. En comparant avec le schéma de Mitchell,  $c$  correspond à FeS et les deux centres  $d$  et  $b_R$  correspondent maintenant au seul centre  $b_H$  intervenant deux fois successivement.

de  $QH_2$ , en passant sur FeS, dévoile un deuxième électron associé à un potentiel standard beaucoup plus bas (couple  $SQ/Q$ ) qui lui permet d'aller sur  $b_L$  (pas sur FeS occupé) alors que le premier ne le pouvait pas d'un point de vue thermodynamique (potentiel standard du couple  $QH_2/SQ$  plus élevé). Rappelons que les électrons étant chargés négativement, leur mouvement naturel, favorable, est du potentiel le plus bas au potentiel le plus haut.

### Les dysfonctionnements du cycle Q de Mitchell : pathologies mitochondriales, haplogroupes

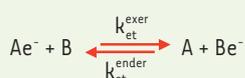
assurer cette concertation (plutôt qu'un passage des deux électrons à la suite vers le cytochrome  $c$ ). Qu'en est-il dans nos simulations, en absence de toute hypothèse additionnelle ? Le résultat est donné dans la *Figure 8* où l'on a représenté pour chaque nouvelle molécule  $QH_2$  fixée le devenir des électrons libérés en  $Q_o$ , soit vers FeS (puis réduction du cytochrome  $c_1$  puis  $c$ ) soit vers l'hème  $b_L$  puis  $b_H$  et  $Q_i$ . Cette figure, qui illustre le passage cumulé des électrons correspondant à la fixation successive de 1 000 molécules de quinol ( $QH_2$ ), montre que pratiquement autant d'électrons passent normalement vers FeS,  $c_1$  et  $c$  que vers  $b_L$  puis  $b_H$  et  $Q_i$ . Au début même les deux courbes sont confondues, indiquant une bifurcation parfaite, puis on voit apparaître un très petit nombre d'électrons qui passent vers FeS (pour réduire  $c_1$ ) plutôt que d'aller vers  $b_L$ . C'est ce qui est désigné sous le terme de « court-circuit », c'est-à-dire un circuit d'électrons ne prenant pas de protons à l'intérieur de la mitochondrie.

On peut donc dire que la structure des centres redox au sein du complexe  $bc_1$  (en particulier les distances entre les centres) et les potentiels de demi-réduction de ces centres redox sont tels qu'ils conduisent automatiquement, dans pratiquement tous les cas, au mécanisme du cycle Q imaginé par Mitchell. Il n'est pas nécessaire d'invoquer une hypothèse supplémentaire. On peut montrer [15] que le « premier électron » d'une molécule de  $QH_2$  passe par la voie FeS- $c_1$ - $c$  alors que le « deuxième » emprunte la voie  $b_L$ - $b_H$ - $Q_i$ . Cela est dû au fait que le premier électron

Nous avons montré que le cycle Q de Mitchell est basé sur une forte séparation des potentiels redox standard associés au départ des deux électrons du quinol  $QH_2$  [15]. Si la séparation est moins forte, on montre qu'il est alors possible que les deux électrons passent directement sur FeS vers le cytochrome  $c_1$ . Cela assure le passage des électrons et donc la réduction du cytochrome  $c$ , ce qui est une des fonctions du complexe  $bc_1$ , mais cela diminue la différence de potentiel créée par le prélèvement des deux protons internes, ce qui est l'autre fonction assurée par le complexe  $bc_1$  (contribution à la force protomotrice pour la synthèse d'ATP).

Les distances entre les centres ont aussi leur importance, en particulier, comme nous l'avons montré dans [16], entre  $Q_o$  et FeS, ce qui semble normal. Un peu pour les mêmes raisons, la distance entre  $Q_o$  et  $b_L$  est importante : si elle augmente trop, le passage du deuxième électron sur  $b_L$  ne sera plus aussi rapide et la semiquinone va résider plus longtemps sur  $Q_o$  augmentant la probabilité que le deuxième électron passe sur FeS plutôt que sur  $b_L$ . Pour les mêmes raisons, on montre que si la distance  $b_L$ - $b_H$  augmente, le deuxième électron peut résider suffisamment longtemps sur  $b_L$  pour pouvoir réduire la

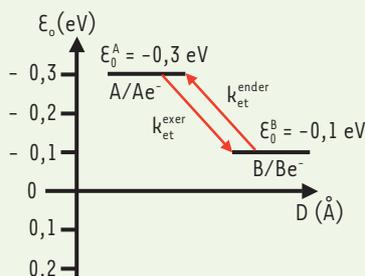
### Transfert d'électrons entre A et B



$$\log k_{\text{et}}^{\text{exer}} = 15 - 0,6 D - 3,1 \frac{(\Delta G_0 + 0,7)^2}{0,7}$$

$$\log k_{\text{et}}^{\text{ender}} = 15 - 0,6 D - 3,1 \frac{(\Delta G_0 + 0,7)^2}{0,7} + \frac{\Delta G_0}{0,06}$$

$$\Delta G_0 = \varepsilon_0^{\text{A}} - \varepsilon_0^{\text{B}} = -0,2 \text{ eV}$$



**Figure 6. Formules de Moser et Dutton.** Les formules [10] donnent les constantes de vitesse  $k_{\text{et}}^{\text{exer}}$  et  $k_{\text{et}}^{\text{ender}}$  pour le transfert d'un électron entre deux couples redox A/Ae<sup>-</sup> et B/Be<sup>-</sup>.  $k_{\text{et}}^{\text{exer}}$  désigne la constante de vitesse de la réaction dans le sens le plus favorable (exergonique, de A vers B dans notre exemple) et  $k_{\text{et}}^{\text{ender}}$  dans le sens inverse (endergonique, l'électron doit « monter » de B vers A). D est la distance, bord à bord, entre les centres redox A et B (hèmes, FeS, sites de fixation).

semiquinone résultant de la fixation en Q<sub>o</sub> d'une deuxième molécule de QH<sub>2</sub>, établissant ainsi un court-circuit. Cela conduit à un déficit de potentiel membranaire et l'énergie qui n'a pas été utilisée pour prendre deux protons dans la matrice mitochondriale est nécessairement dissipée en chaleur (ou partiellement en production de radicaux libres). C'est ce qui peut arriver dans des mutants du complexe bc<sub>1</sub> en pathologie humaine. Mais une telle production de chaleur peut présenter un avantage pour des populations dans des environnements nordiques. C'est ainsi que l'on explique l'adaptation au froid de certains individus ou de certaines populations. Nous avons montré par exemple que la diminution de l'affinité de Q en Q<sub>i</sub> comme cela est suspecté dans certaines sous-classes de l'haplogroupe mitochondrial J ne change pas l'activité du complexe ( $k_{\text{cat}}$  inchangé) mais conduit à une légère augmentation de court-circuit, et donc théoriquement à une production de chaleur modérée. On voit donc tout l'intérêt d'un tel modèle pour comprendre le fonctionnement fin de ce complexe, les raisons des déficits mitochondriaux ou bien les avantages adaptatifs de certains haplogroupes (voir

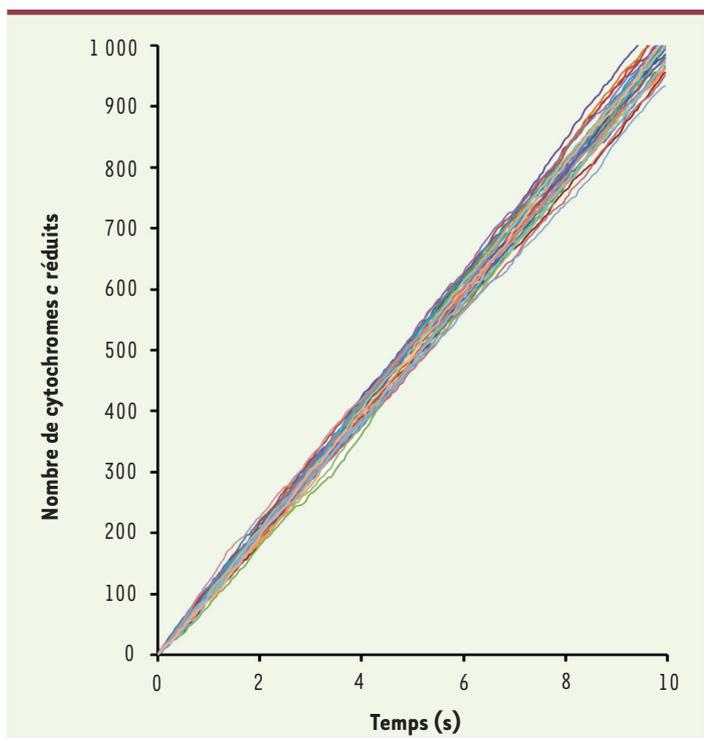
une discussion de ce problème des haplogroupes dans [17]). Jusqu'à maintenant, les mutations du complexe III humain intervenant dans des pathologies n'ont été trouvées que dans trois de ses sous-unités dont la sous-unité mitochondriale (cytochrome *b*), les deux autres étant nucléaires [18]. Les mutations équivalentes aux mutations humaines ont été introduites et étudiées dans la levure [19]. Ces mutants dans la levure (et leurs suppresseurs) pourraient s'avérer être des outils précieux pour éclairer le mécanisme fin de bifurcation des électrons et de mouvement des protons.

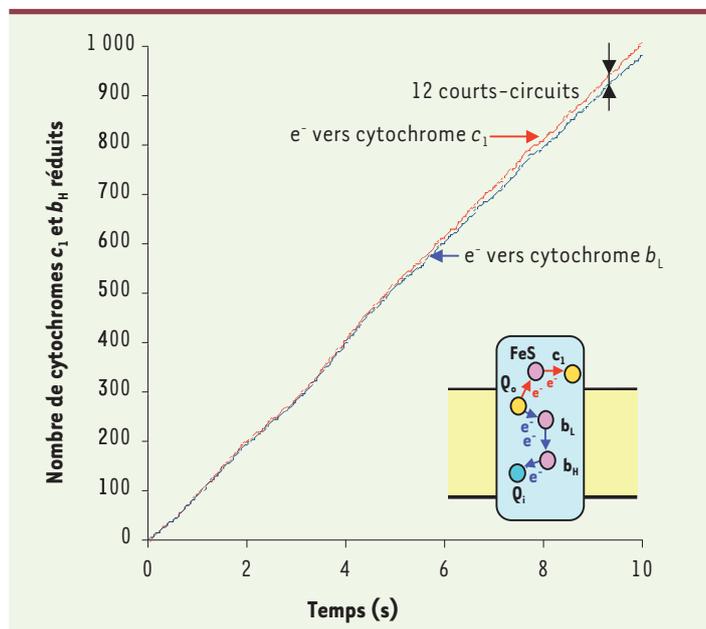
Les haplogroupes de l'ADNmt, la plupart du temps considérés comme neutres, peuvent cependant avoir une influence [20, 21], montrant par là que le polymorphisme des haplogroupes n'est pas complètement neutre mais peut avoir un retentissement (faible) sur le fonctionnement des complexes respiratoires en association ou non avec des mutations pathologiques. L'étude des changements d'acides aminés intervenant dans les cytochromes *b* de divers haplogroupes peut s'avérer utile pour comprendre des mécanismes de fonctionnement de ce complexe.

### Conclusion : les avantages et les inconvénients d'une approche stochastique

Le principal avantage de cette méthode est de ne pas limiter *a priori* le nombre des états oxydés/réduits du complexe bc<sub>1</sub>. Toutes les possibilités sont envisagées. On

**Figure 7. Cinétique globale de réduction du cytochrome c en fonction du temps par une molécule de cytochrome bc<sub>1</sub>.** La figure représente le résultat de 30 simulations faisant intervenir plus de 12 000 000 pas de programme (deux tirages au hasard chaque fois : choix de la réaction et temps au bout duquel se fait la réaction choisie). Les molécules de Q produites sont rapidement réduites et le cytochrome c réduit rapidement oxydé pour assurer, de manière non limitante, un état stationnaire. La vitesse dans ces conditions est de l'ordre de 100 s<sup>-1</sup>.





**Figure 8. La bifurcation des électrons en  $Q_0$ .** Le nombre d'électrons passant vers le cytochrome  $c_1$  et de ceux passant vers le cytochrome  $b_L$  ont été représentés. La figure montre clairement que ce nombre est pratiquement identique, indiquant une séparation quasi systématique des deux électrons du  $QH_2$  dans chacune des deux voies.

regarde simplement ce qui se passe, quelles réactions ont lieu, quelles espèces réagissent entre elles et pourquoi. Le résultat important de ce travail est de montrer que le passage des électrons dans le complexe  $bc_1$  s'opère bien dans plus de 98 % des cas selon le schéma du cycle Q proposé par Mitchell, et cela sans hypothèse supplémentaire (de *gating*, de concertation, etc.). En particulier, la concertation apparente du passage des deux électrons dans chacune des voies est une conséquence de la répartition des différentes probabilités (c'est-à-dire des constantes de vitesse) de passage de ces électrons et non le résultat d'un quelconque mécanisme assurant cette concertation.

Cette approche stochastique décrit ce qui se passe exactement (en vrai) au niveau des molécules de complexe  $bc_1$  et des électrons. Il apparaît sur nos simulations que la plus grande partie des réactions est constituée d'allers-retours (entre  $Q_0H_2$  et FeS,  $b_L - b_H$  et  $b_H - Q_i$  principalement). C'est l'une des difficultés de cette approche théorique (que l'on ne rencontre pas en utilisant des équations différentielles) : dans la mesure où toutes les réactions sont comptabilisées, cela augmente considérablement les temps de calcul.

On rencontre une deuxième difficulté, déjà évoquée : la détermination des quantités exactes des molécules de substrats et produits effectives dans les réactions stochastiques de fixation ou de libération aux sites  $Q_0$  et  $Q_i$  et au site de fixation du cytochrome  $c$ . On connaît assez bien le nombre relatif de quinones, de cytochrome  $c$  et de complexe  $bc_1$  mais le volume utile, en partie membranaire, dans lequel ils opèrent est plus difficile à évaluer.

Malgré ces réserves, on peut dire que l'approche stochastique est particulièrement utile pour décrire le fonctionnement intime des complexes de la chaîne respiratoire. Actuellement, nous appliquons cette approche aux autres complexes de la chaîne respiratoire dans le but de mieux comprendre le rôle central joué par le complexe III et le pool des quinones [22, 23]. Un certain nombre de questions restent en effet posées : y a-t-il compétition entre les déshydrogénases pour le même pool de quinones/quinols ou existe-t-il des pools différents de quinones/quinols ? Le trans-

fert des électrons entre les différents complexes par le coenzyme Q et le cytochrome  $c$  s'effectue-t-il par une diffusion au hasard entre les complexes ou bien au sein d'une organisation des complexes de la chaîne respiratoire en supercomplexes ? Quelle est dans ce modèle l'influence du gradient électrochimique en proton qui existe lors du fonctionnement normal de la chaîne respiratoire mitochondriale ? Comment décrire stochastiquement les dysfonctionnements de la chaîne respiratoire et la génération des radicaux libres ? Ce sont des questions auxquelles nous essayons de répondre à l'aide de cette approche stochastique. ♦

## SUMMARY

### The cytochrome $bc_1$ complex in the mitochondrial respiratory chain functions according to the Q cycle hypothesis of Mitchell: the proof using a stochastic approach?

The  $bc_1$  complex is a central complex in the mitochondrial respiratory chain. It links the electrons transfer from ubiquinol (or coenzyme Q) to cytochrome  $c$  and proton translocation across the inner mitochondrial membrane. It is widely agreed that the "Q-cycle mechanism" proposed by Mitchell correctly describes the  $bc_1$  complex working. It is based on an unexpected separation of the two electrons coming from the coenzyme Q bound at the  $Q_0$  site of the  $bc_1$  complex. Using the stochastic approach of Gillespie and the known spatial structure of  $bc_1$  complexes with the kinetic parameters described by Moser and Dutton we demonstrated the natural emergence of the Q-cycle mechanism and the quasi absence of short-circuits in the functional dimer of  $bc_1$  complex without the necessity to invoke any additional mechanism. This approach gives a framework which is well adapted to the modelling of all oxido-reduction reactions of the respiratory chain complexes, normal or mutant. ♦

## CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a reçu le soutien financier de l'ACI IMPBio de l'ANR SysBio/BBSRC 2007 et des ateliers épigénomique, génopole et Université d'Évry. Les auteurs tiennent à remercier Gaël Brasseur, Alain Dautant, Francis Haraux, Anne Lombès et Brigitte Meunier pour leurs critiques constructives. Francis Haraux a réalisé la figure 3 et sa légende.

## RÉFÉRENCES

- Sauvanet C, Arnauné-Pelloquin L, David C, et al. Dynamique et morphologie mitochondriales : acteurs, mécanismes et pertinence fonctionnelle. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 823-9.
- Castanier C, Arnoult A. La dynamique mitochondriale au cours de l'apoptose. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 830-5.
- Lenaers G, Amati-Bonneau A, Delettre C, et al. De la levure aux maladies neurodégénératives : dix ans d'exploration des pathologies de la dynamique mitochondriale. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 836-41.
- Guérin B. *Bioénergétique*. Collection *Grenoble Science*. Les Ulis : EDP Sciences, 2004.
- Weil JH. *Biochimie générale*, 9<sup>e</sup> ed. Paris : Dunod, 2001.
- Mitchell P. Protonmotive redox mechanism of the cytochrome *b-c<sub>1</sub>* complex in the respiratory chain: protonmotive ubiquinone cycle. *FEBS Lett* 1975 ; 56 : 1-6.
- Mitchell P. The protonmotive Q cycle: a general formulation. *FEBS Lett* 1975 ; 59 : 137-9.
- Iwata S, Lee JW, Okada K, et al. Complete structure of the 11-subunit bovine mitochondrial cytochrome *bc<sub>1</sub>* complex. *Science* 1998 ; 281 : 64-71.
- Zhang Z, Huang L, Shulmeister VM, et al. Electron transfer by domain movement in cytochrome *bc<sub>1</sub>*. *Nature* 1998 ; 392 : 677-84.
- Moser CC, Keste JM, Warnke K, et al. Nature of biological electron transfer. *Nature* 1992 ; 355 : 796-802.
- Gillespie DT. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *J Phys Chem* 1977 ; 8 : 2340-61.
- Kramer DM, Roberts AG, Florian M, et al. Q-cycle bypass reactions at the Q<sub>o</sub> site of the cytochrome *bc<sub>1</sub>* (and related) complexes. *Meth Enzymol* 2004 ; 382 : 21-45.
- Osyczka A, Moser CC, Dutton PL. Fixing the Q cycle. *Trends Biochem Sci* 2005 ; 30 : 176-82.
- Rich PR. The quinone chemistry of bc complexes. *Biochim Biophys Acta* 2004 ; 1658 : 165-71.
- Ransac S, Parisey N, Mazat JP. The loneliness of the electrons in the *bc<sub>1</sub>* complex. *Biochim Biophys Acta* 2008 ; 1777 : 1053-9.
- Ransac S, Mazat JP. Importance des distances entre les centres redox et les sites de fixations des quinones dans le complexe *bc<sub>1</sub>* mitochondrial. *Proceedings of the Lille Spring School on Modelling complex biological systems in the context of genomics*. Lille, 2008 : 105-14.
- Elson JL, Turnbull CM, Taylor RW. Testing the adaptative selection of human mtDNA haplogroups; an experimental bioenergetics approach. *Biochem J* 2007 ; 404 : 389-402.
- Bénil P, Lebon S, Rustin P. Respiratory-chain diseases related to complex III deficiency. *Biochim Biophys Acta* 2009 ; 1793 : 181-5.
- Fisher N, Meunier B. Effect of mutations in mitochondrial cytochrome b in yeast and man. Deficiency, compensation and disease. *Eur J Biochem* 2001 ; 268 : 1155-62.
- Guelli A, Porcelli AM, Zanna C, et al. The background of mitochondrial DNA haplogroup J increases the sensitivity of Leber's hereditary optic neuropathy cells to 2,5-hexanedione toxicity. *PlosOne* 2009 ; 4 : e7922.
- Pierron D, Rocher C, Amati-Bonneau P, et al. New evidence of a mitochondrial genetic background paradox: impact of the J haplogroup on the A3243G mutation. *BMC Med Genet* 2008 ; 9 : 41.
- Ransac S, Arnarez C, Mazat JP. The fitting of electrons in complex I: a stochastic approach. *Biochim Biophys Acta* 2010 ; 1797 : 641-8.
- Ransac S, Mazat JP. How antimycin inhibits the *bc<sub>1</sub>* complex? A part-time twin. *Biochim Biophys Acta* 2010 ; 1797 : 1849-57.

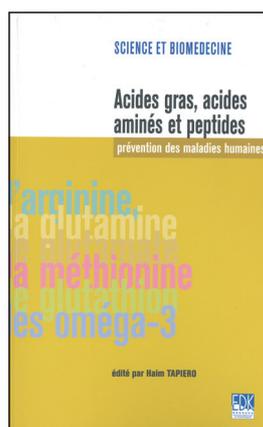
## TIRÉS À PART

J.P. Mazat

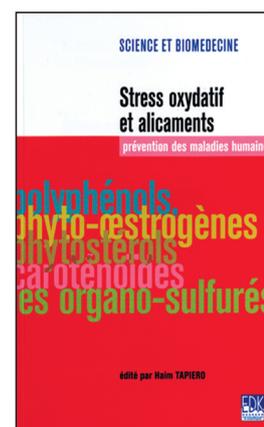
## Collection SCIENCE ET BIOMÉDECINE



ISBN : 2-84254-107-3 64 pages



ISBN : 2-84254-108-1 80 pages



ISBN : 2-84254-111-1 86 pages

### Bon de commande

À retourner à EDK, 2, rue Troyon - 92316 Sèvres Cedex  
Tél. : 01 55 64 13 93 - Fax : 01 55 64 13 94 - E-mail : edk@edk.fr

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Les oligo-éléments** : 10 € + 3 € de port = **13 € TTC**

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Acides gras, acides aminés et peptides** : 12 € + 3 € de port = **15 € TTC**

Je souhaite recevoir l'ouvrage **Stress oxydatif et alicaments** : 14 € + 3 € de port = **17 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de EDK

Par carte bancaire :  Visa  Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Signature :

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | | |