

III. Catabolisme des glucides

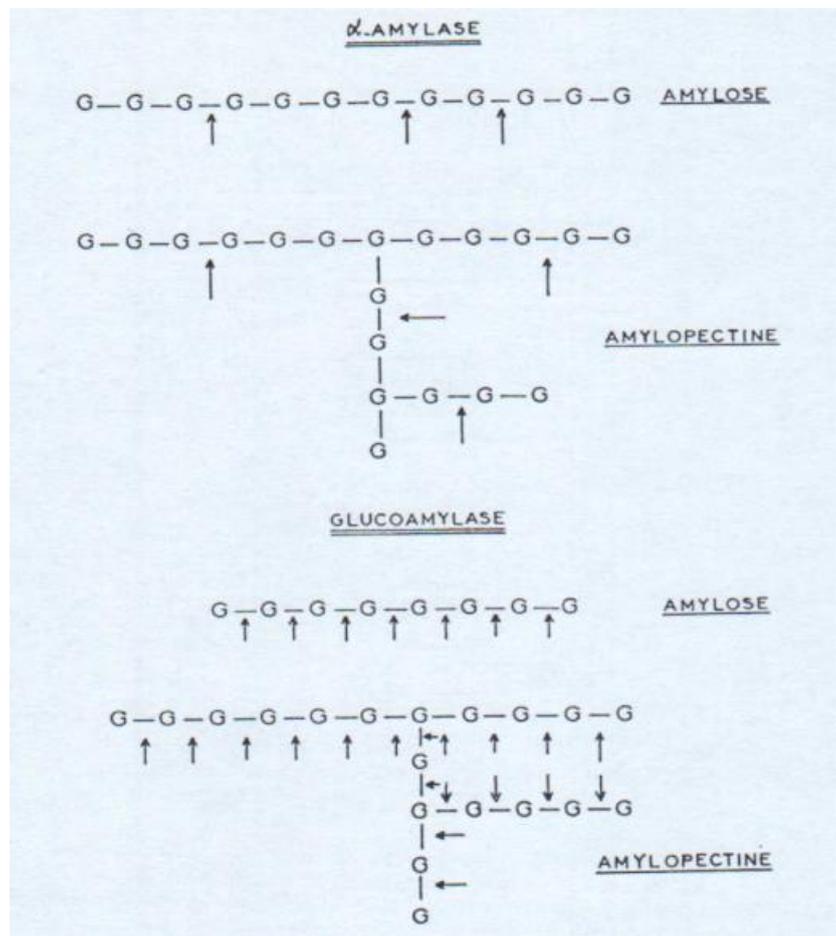
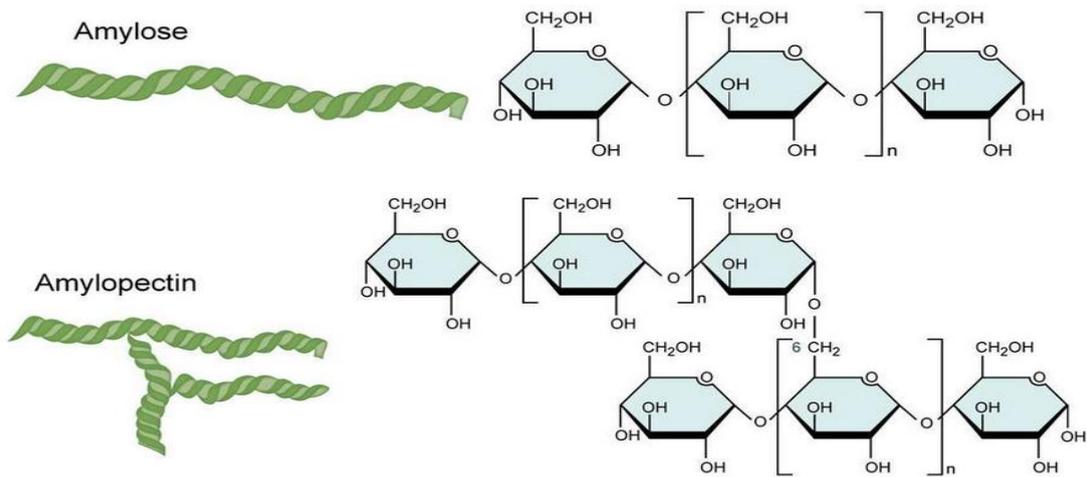
Les glucides susceptibles d'être dégradés par les microorganismes sont nombreux et variés. Les polyholosides comme l'amidon, la cellulose, l'inuline et parfois des plus petites molécules comme le saccharose sont incapables de pénétrer dans la cellule. Ils doivent être au préalable découpés en fragments de faible poids moléculaire par des enzymes hydrolytiques, excrétées par le microorganisme dans le milieu. Les produits formés pénètrent ensuite dans la cellule. Dans la plupart des cas, la transformation des macromolécules glucidiques, ainsi que de diverses autres substances organiques, aboutit à la formation d'hexose (essentiellement glucose) ou de pentoses. Le glucose est le point de départ des principales voies du catabolisme cellulaire.

1. Dégradation de l'amidon

L'amidon constitue la principale réserve glucidique végétale, il renferme deux polysaccharides en proportions variables selon les cas : l'amylose (constituant majeur) et l'amylopectine (constituant mineur). L'amylose est une molécule flexible, de structure linéaire correspondant à plusieurs centaines de résidus α D glucopyranose unis par des liaisons 1-4. L'amylopectine est aussi un polymère du glucose, composé de chaînes linéaires similaires à celle de l'amylose, mais reliées les unes aux autres par des liaisons α (1-6). Les points de branchement sont distants d'environ 20 à 30 unités de glucose. Les amylases microbiennes peuvent être classées essentiellement en deux grands groupes en fonction de leur mode d'attaque :

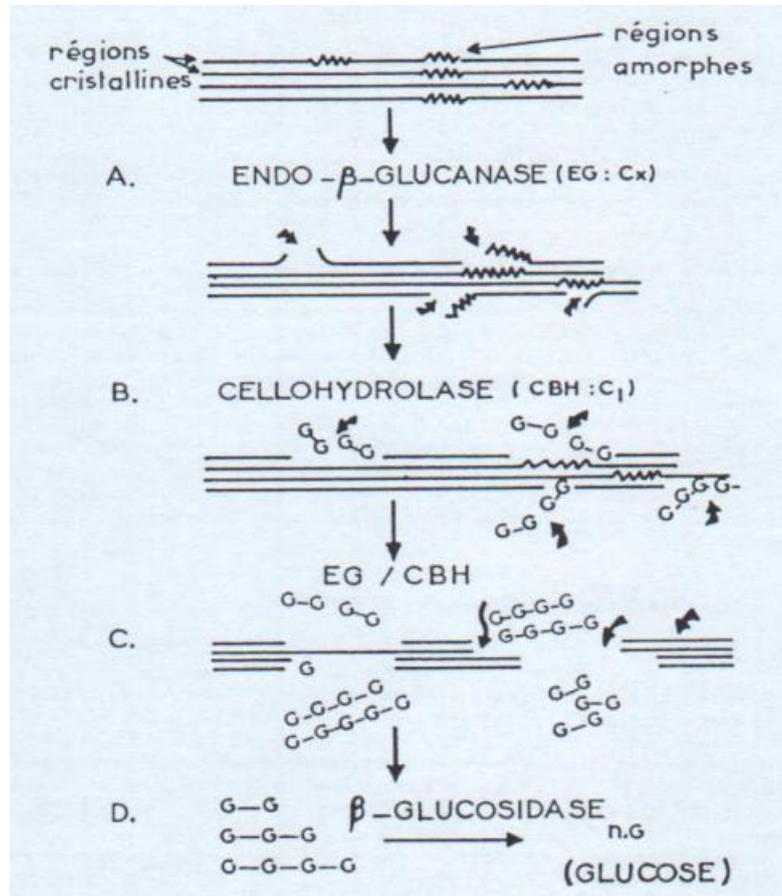
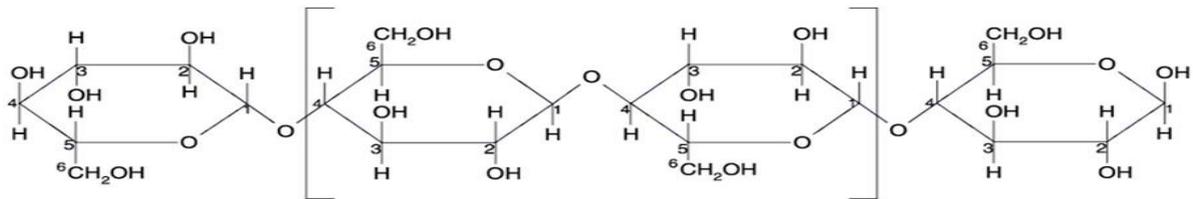
- **α -amylase ou α (1-4)-glucane glucohydrolase (EC 3.2.1.1)**, dont l'action est toujours de type endomoléculaire et conduit à la formation de D-glucose, de maltose et d'une petite quantité de maltodextrines. Les α -amylases se rencontrent chez de nombreuses bactéries (des genres *Bacillus* et *Clostridium*), de nombreuses moisissures (des genres *Aspergillus* et *Rhizopus*), ainsi que chez quelques levures (des genres *Candida*, *Pichia*, *Endomycopsis*, *lipomyces* et *Schwanniomyces*).

- **Glucoamylase ou α (1-4)-glucane glucohydrolase (EC 3.2.1.3)**, elle libère des unités de glucose à partir des extrémités non réductrices des polymères. Elle hydrolyse l'amylopectine et l'amylose complètement en D-glucose et est également capable d'hydrolyser les liaisons α (1-6) ainsi que les liaisons α (1-4) et α (1-3). Elle hydrolyse aussi le maltose. L'amyloglucosidase (glucoamylase ou γ -amylase) est rencontrée chez les moisissures (*Aspergillus*, *Rhizopus*), les levures (*Endomyces*, *Endomycopsis*, *Candida*, *Saccharomyces diastaticus*...) et chez les bactéries. Il existe des β -amylases (*Bacillus subtilis*, quelques moisissures), dont l'action est exomoléculaire. Elle est répandue chez les végétaux et rare chez les microorganismes.



2. Dégradation de la cellulose

La cellulose est un polymère linéaire de D-glucose, les molécules de glucose sont liées entre elles par des liaisons β (1-4). Des microorganismes cellulolytiques sont rencontrés dans une grande variété de genres bactériens (*Acetivibrio*, *Bacillus*, *Cellobivrio*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Cytophaga*, *Erwinia*, *Streptomyces*...) et de moisissures (*Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium*, *Fusarium*...), qui jouent un rôle de premier plan dans le cycle du carbone. Chez les levures ces enzymes sont rares.



3. Catabolisme du glucose

Le principale voie métabolique utilisée par les microorganismes pour oxyder le glucose : **la glycolyse** (ou **voie d'Emden Meyerhof Parnas**). Les autres voies possibles sont :

- Le cycle des pentoses phosphates (ou voie des hexoses monophosphates).
- La voie d'Enter Doudoroff.

3.1. La glycolyse

La glycolyse est la voie métabolique anaérobie de transformation oxydative du glucose en pyruvate générant deux moles de ATP et deux moles de NADH,H⁺. Leur rôle est d'assuré le besoin énergétique de la cellule vivante.

- La glycolyse est une série de réaction enzymatique en nombre de 10 catalysés par 10 enzymes.
- Cette voie présente chez la plupart des microorganismes : levures, moisissures, bactéries aérobies aéro-anaérobie (entérobactéries).

- Cette voie fonctionne en présence et en absence d'oxygène.
- La glycolyse se déroule dans le cytoplasme chez les eucaryotes et les procaryotes
- L'ATP produite par phosphorylation au niveau du substrat par rupture exergonique d'une molécule du substrat riche en énergie.

Les points importants de la chaîne de la glycolyse sont :

- Activation du glucose sous forme de glucose-6P au moyen d'ATP, isomérisation et seconde phosphorylation pour donner du fructose-1,6-diphosphate et deux ADP.
- Clivage du fructose-1,6 diP en deux molécules de triose-phosphate, sous l'action de l'aldolase (enzyme caractéristique de cette voie métabolique).
- Isomérisation 3-phosphoglyceraldéhyde/dihydroxyacétone-phosphate et déshydrogénation avec réduction de NAD⁺. Cette réaction s'accompagne d'une phosphorylation au niveau du substrat et conduit à la formation de 1,3diphosphoglycérate (possède une liaison riche en énergie).
- Transfert d'une liaison ester phosphorique du 1,3diphosphoglycérate à l'ADP.
- Transfert de la liaison ester phosphorique du phosphoénolpyruvate à l'ADP et formation de pyruvate et ATP.

Le bilan est :



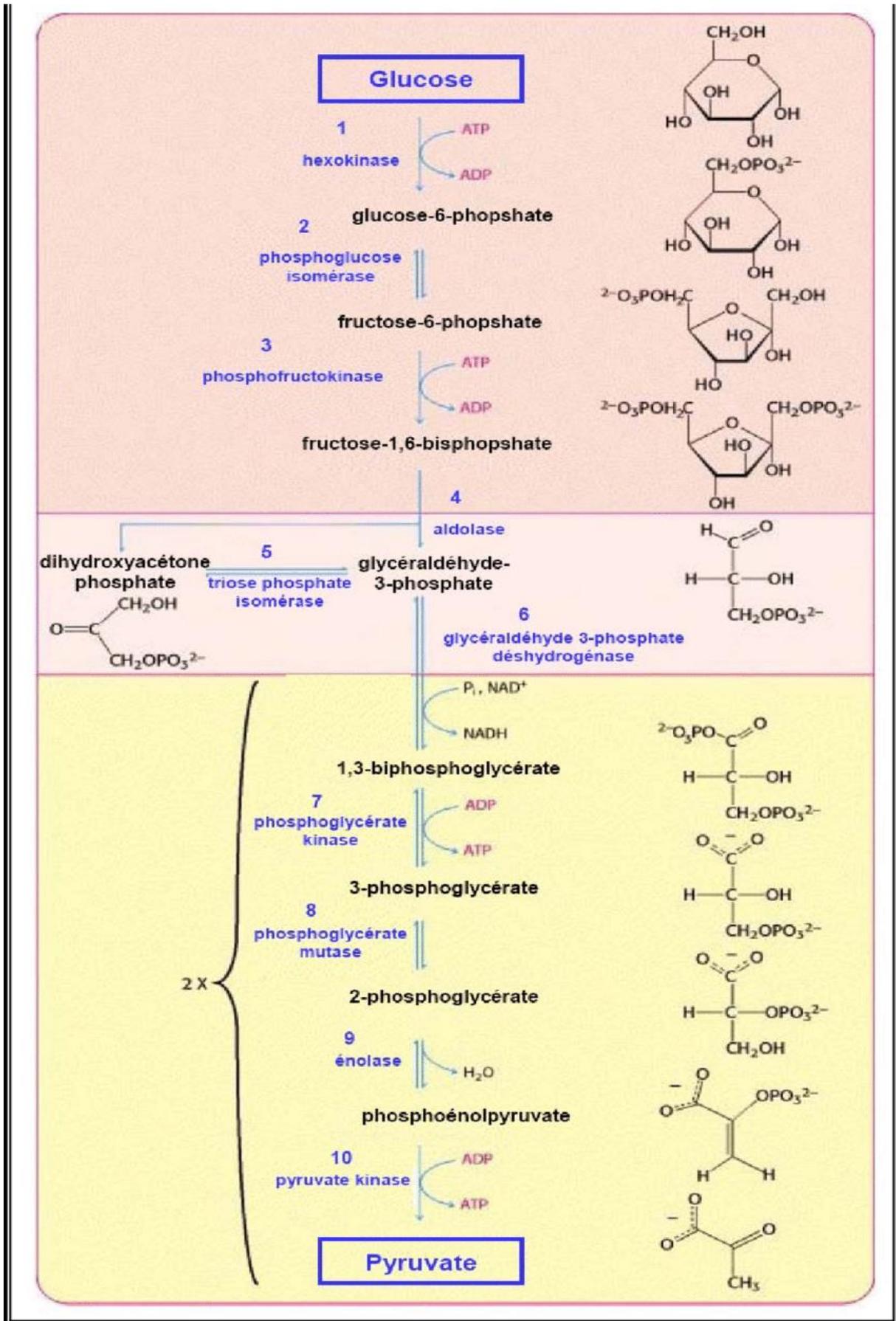


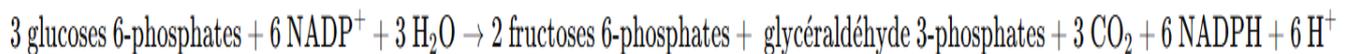
Figure : Voie de la glycolyse

3.2. La voie des pentoses phosphates

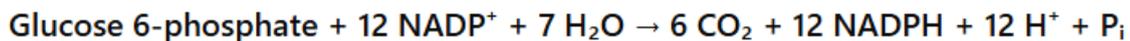
Une seconde voie, la voie des pentoses phosphates ou voie des hexoses monophosphates, peut être utilisée en même temps que la glycolyse. Elle opère soit en aérobie soit en anaérobie et est importante dans la biosynthèse aussi bien que dans le catabolisme. La voie des pentoses phosphates débute par l'oxydation du glucose 6-phosphate en 6-phosphogluconate, elle se poursuit par l'oxydation du 6-phosphogluconate en un pentose, le ribulose 5-phosphate, et en CO₂. Du NADPH est produit durant ces oxydations. Le ribulose 5-phosphate est alors converti en un mélange de sucres phosphates à 3 et 7 carbones. Deux enzymes uniques à cette voie jouent un rôle central dans ces transformations :

La trans-cétolase catalyse le transfert d'unités à deux carbones d'un cétose et la transaldolase transfère un groupe à trois carbones du sédoheptulose 7-phosphate au glycéraldéhyde 3-phosphate.

Le résultat final est la conversion de trois glucoses 6-phosphates en deux fructoses 6-phosphates, un glycéraldéhyde 3-phosphate et trois molécules de CO₂, comme le montre l'équation suivante :



Ces intermédiaires sont utilisés de deux façons. Le fructose 6-phosphate est reconverti en glucose 6-phosphate tandis que le glycéraldéhyde 3-phosphate est converti en pyruvate par les enzymes de la glycolyse. Le glycéraldéhyde 3-phosphate peut aussi retourner dans la voie des pentoses phosphates par la formation de glucose 6-phosphate. Ceci conduit à la dégradation complète du glucose 6-phosphate en CO₂ et la production d'une grande quantité de NADPH.



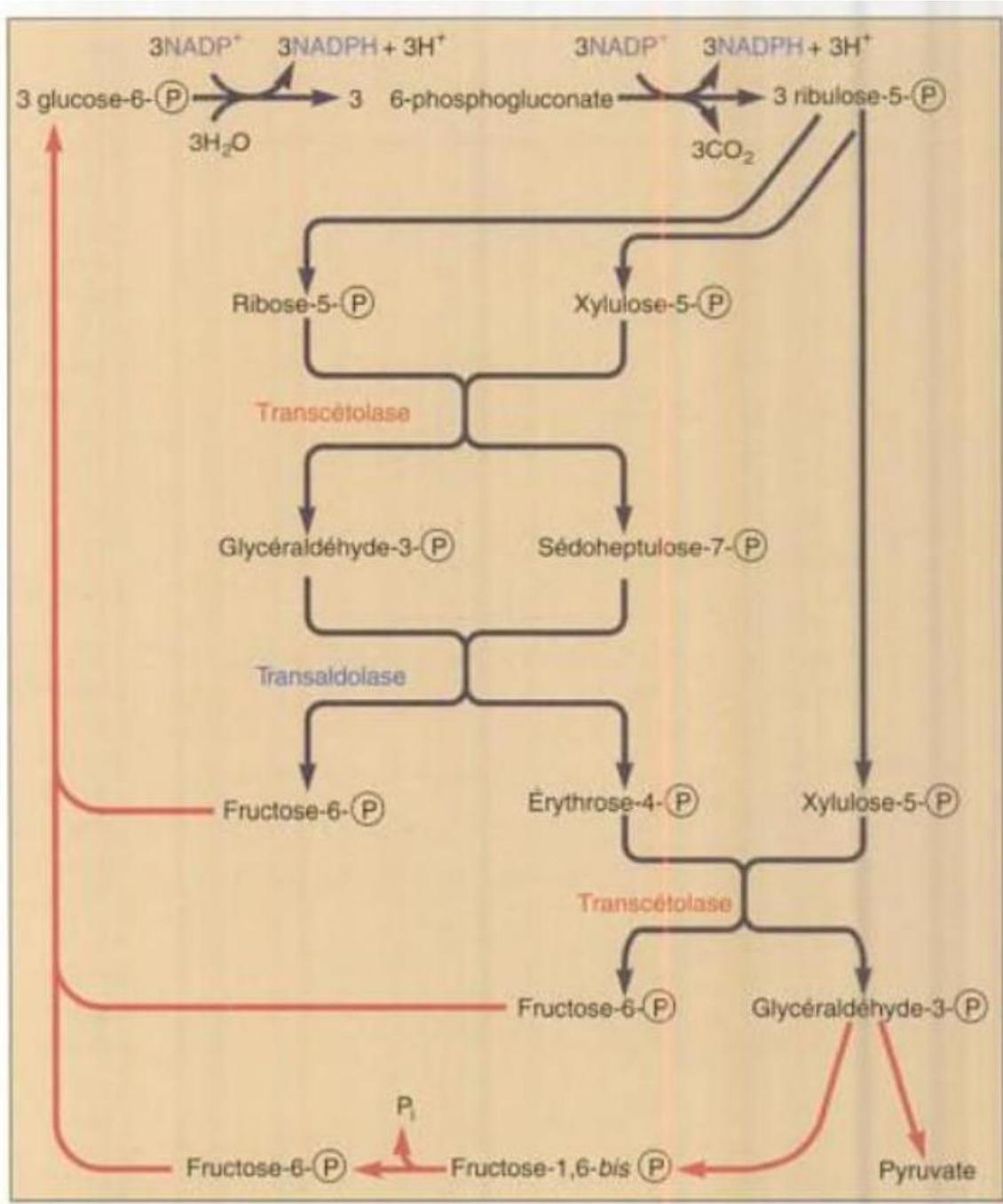


Figure : La voie des pentoses phosphates : La conversion de trois molécules de glucose 6-phosphate en deux molécules de fructose 6-phosphate et une de glycéraldéhyde 3-phosphate est indiquée. Le fructose 6-phosphate peut être transformé en glucose 6-phosphate. Le glycéraldéhyde 3-phosphate peut être converti en pyruvate ou combiné à une molécule de dihydroxyacétone phosphate (à partir du glycéraldéhyde 3-phosphate formé au cours d'un second tour de la voie) pour donner le fructose 6-phosphate.

La voie des pentoses phosphate a plusieurs fonctions cataboliques et anaboliques. Elles se résument comme suit :

1. Le NADPH provenant de la voie des pentoses phosphates sert de source d'électrons pour la réduction de molécules au cours de la biosynthèse.
2. La voie synthétise des sucres à quatre et cinq carbones dans des buts variés. L'érythrose 4-phosphate, sucre à quatre carbones, est utilisé pour la synthèse des acides aminés aromatiques et de la vitamine B6 (pyridoxal). Un pentose, le ribose 5-phosphate, est un composant majeur des acides nucléiques, et le ribulose 1,5-bisphosphate est l'accepteur primaire CO₂ dans la photosynthèse. Il faut noter que quand un micro-organisme consomme un pentose comme source carbonée, la voie peut aussi fournir des carbones pour la production d'hexose (par exemple, le glucose est nécessaire à la synthèse du peptidoglycane).
3. Les intermédiaires de la voie des pentoses phosphates peut être utilisée pour produire de l'ATP. Le glycéraldéhyde 3-phosphate entre dans l'étape à trois carbones de la glycolyse et est converti en ATP et pyruvate. Ce dernier peut être oxydé dans le cycle des acides tricarboxyliques et générer plus d'énergie. De plus, NADPH est converti en partie en NADH qui lors de son oxydation dans la chaîne de transfert des électrons, fournit de l'ATP. Comme des sucres à cinq carbones sont des intermédiaires de cette voie, la voie des pentoses phosphates est utilisée pour dégrader les pentoses aussi bien que les hexoses.

Bien que la voie des pentoses phosphates soit la source d'énergie de nombreux micro-organismes, elle est souvent plus importante dans les voies biosynthétiques.

3.3. La voie d'Entner-Doudoroff

Bien que la glycolyse soit la voie la plus commune pour la conversion des hexoses en pyruvate, une autre voie jouant un rôle similaire a été découverte. La voie d'Entner-Doudoroff commence par les mêmes réactions que la voie des pentoses phosphates, la formation de glucose 6-phosphate et de 6-phosphogluconate. Au lieu d'être oxydé, le 6-phosphogluconate est déshydraté pour former le 2 céto-3-désoxy-6-phosphogluconate ou CDPG, l'intermédiaire clé de cette voie. Le CDPG est alors clivé par la CDPG aldolase en pyruvate et glycéraldéhyde 3-phosphate. Le glycéraldéhyde 3-phosphate est converti en pyruvate. La voie d'Entner-Doudoroff dégrade donc le glucose en pyruvate et produit un ATP, un NADPH et un NADH par glucose.

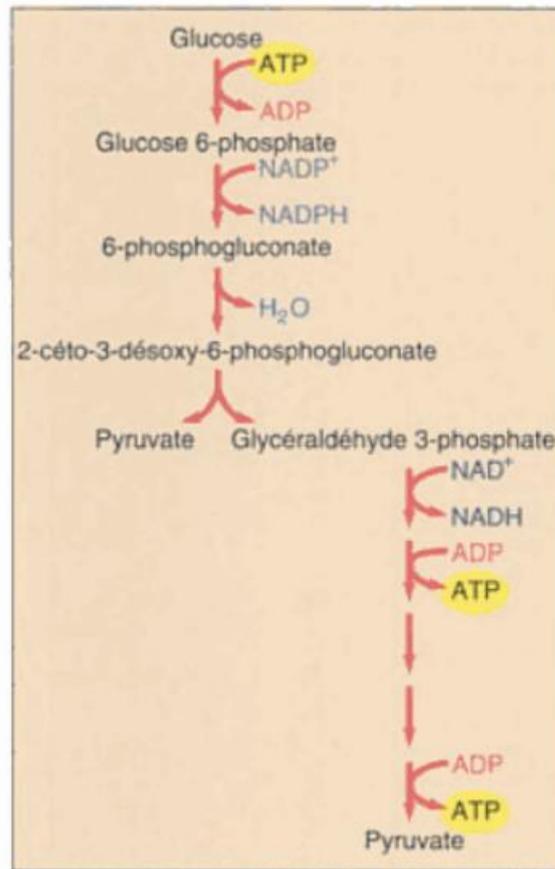


Figure 9.8 La voie d'Entner-Doudoroff. La séquence des réactions allant du glycéraldéhyde 3-phosphate au pyruvate est catalysée par des enzymes communes à la glycolyse.

3.2. Métabolisme aérobie du pyruvate

3.2.1. Cycle tricarboxylique de Krebs (cycle citrique)

En présence d'air, les micro-organismes aérobies stricts ou facultatifs assurent l'oxydation complète du glucose. Le pyruvate formé est oxydé par le cycle de Krebs et le shunt du glyoxylate (Figure).

Le cycle tricarboxylique est la voie d'oxydation aérobie de l'acétate provenant non seulement de la glycolyse ou du shunt de l'hexose monophosphate mais encore de la β -oxydation des acides gras. Ses composantes enzymatiques participent directement ou indirectement à la dégradation du squelette carboné de la plupart des amino-acides. Le cycle fournit les composés de départ des réactions de synthèse. La figure 2.19. donne les étapes du cycle ainsi que les composés servant de produits de départ à des biosynthèses. Le shunt glyoxylique qui sera envisagé ultérieurement est également indiqué. Il faut noter qu'il existe des différences sensibles entre organismes dans le cycle "classique", le malate est oxydé en oxaloacétate par la malate déshydrogénase NAD-dépendante (*Escherichia coli*); chez *Serratia* ou *Pseudomonas*, il existe une déshydrogénase directement liée aux cytochromes.

Chaque tour du cycle produit à partir de l'acétate deux molécules de CO₂ et 8 (H⁺, e), sous forme de deux NADH₂, d'un NADPH₂ et d'un FADH₂. Ces électrons et ces protons sont transportés vers l'oxygène par la chaîne respiratoire. Sur la base des expériences effectuées sur les mitochondries d'eucaryotes, il y a formation au maximum de 3 molécules d'ATP par paire d'électrons transportée entre les NAD et l'oxygène (P/O= 3). Le rendement global par mole de glucose oxydé par l'intermédiaire de la glycolyse et du cycle de Krebs est donc au maximum de 38 ATP. Chez les bactéries, il est difficile de connaître le nombre réel d'ATP libérés, la présence d'ATPase gênant la mise en évidence de l'ATP formé. Des mesures indirectes suggèrent que le bilan est identique à celui des organismes supérieurs alors que les mesures directes ne permettent de mettre en évidence que 16 ATP par mole de glucose.

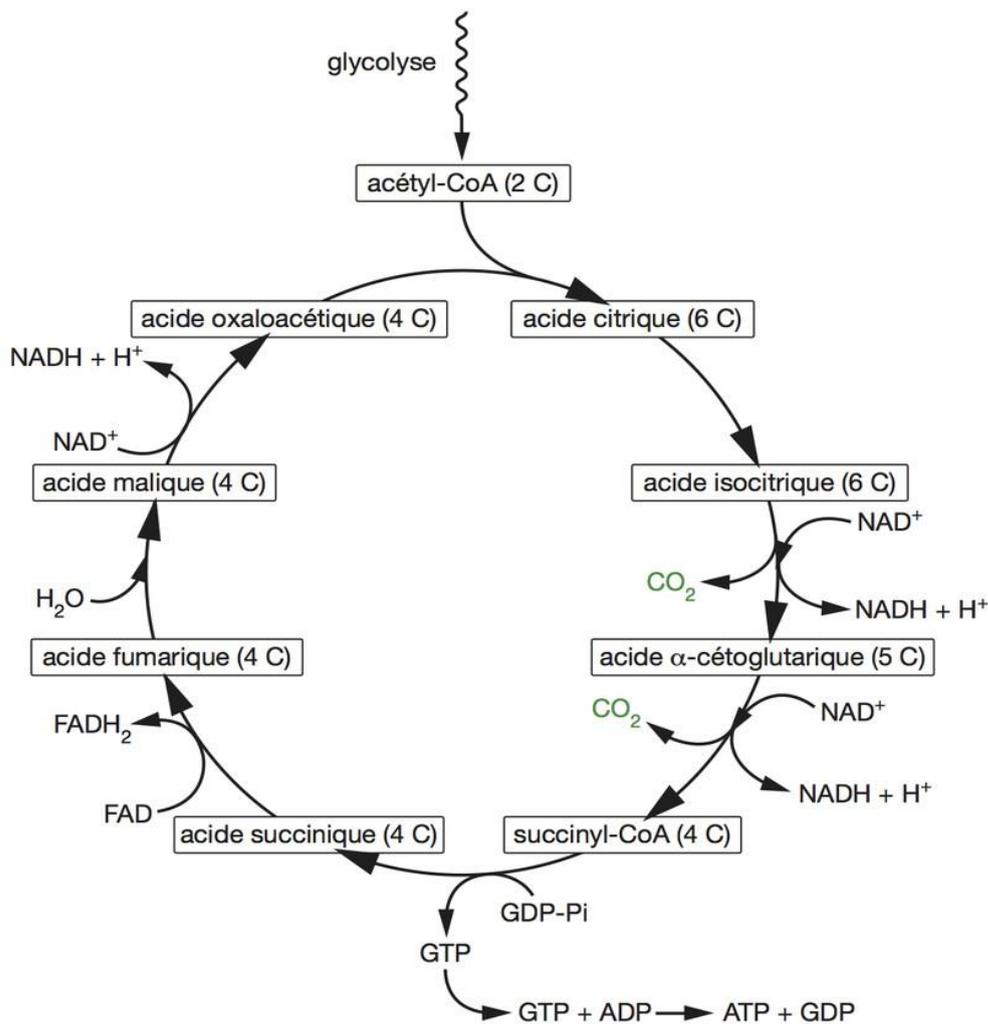


Figure : Vue globale du cycle de Krebs

3.2.2. Shunt glyoxylique

Un certain nombre de micro-organismes (*E. coli* et de nombreuses espèces de moisissures et de *Pseudomonas*) sont capables de se développer à partir de l'acétate comme seule source de carbone et d'énergie. Ces organismes ont toutes les enzymes du cycle de Krebs mais ont en plus :

- L'isocitritase lyase qui coupe l'isocitrate en succinate et glyoxylate.
- La malate synthétase qui condense le glyoxylate avec l'acétyl-CoA pour former le malate.

Le shunt glyoxylique ne fournit aucune énergie biologiquement utilisable. Il ne fonctionne que lorsque le micro-organisme est cultivé sur acétate car le glucose réprime les deux enzymes précédemment citées. Lors de la croissance sur acétate, les cellules décarboxylent l'oxaloacétate pour fournir du phosphoénolpyruvate, point de départ de la biosynthèse des hexoses et des pentoses.

3.2.3. Fermentations dérivées du cycle de Krebs ou du shunt glyoxylique

Il s'agit de fermentations aérobies essentiellement réalisées par des moisissures. Elles aboutissent à la formation de divers acides organiques : ces acides sont des métabolites directement issus du cycle de Krebs ou du shunt glyoxylique ou des produits de leur transformation. Ces produits s'accumulent lorsque le fonctionnement du cycle est interrompu. Cette interruption peut être obtenue par variation des conditions du milieu : pH, présence d'inhibiteurs des enzymes transformant normalement le produit formé. Elle peut être également obtenue par une mutation portant sur les gènes contrôlant ces enzymes. Le point de départ de la synthèse des acides organiques du cycle de Krebs est l'oxaloacétate qui est normalement réobtenu dans la phase finale du cycle. Une abondante formation d'acides nécessite la présence d'un apport différent d'oxaloacétate qui est formé à partir des cycles "anaplérotiques". L'oxaloacétate peut être formé par l'intermédiaire du succinate issu du shunt glyoxylique avec: $2 \text{ acétate} \rightarrow 1 \text{ succinate}$. Il peut aussi être formé par carboxylation du pyruvate. L'enzyme malique catalyse la réaction de carboxylation qui aboutit au malate, lequel est transformé en oxaloacétate par la malate déshydrogénase.

3.2.4. Rôle du cycle de Krebs

Le cycle de Krebs participe au métabolisme des glucides, des lipides et des protéines, mais il est surtout connu pour permettre la production d'énergie cellulaire sous forme de molécule de GTP. Il en produit une par cycle, à partir d'une molécule de GDP.

Autres fonctions

En plus de la dégradation totale de l'acétyl-CoA, le cycle a d'autres fonctions :

- Formation de cofacteurs réduits riches en énergie, NADH, H⁺ et FADH₂ pour la synthèse de l'ATP.
- Génération de précurseurs biosynthétiques. Les produits formés au cours de ce cycle peuvent aussi servir d'intermédiaires pour la synthèse de molécules essentielles. Les acides α-cétoniques peuvent être transaminés pour former des acides aminés en vue de la synthèse des protéines ; le citrate est un précurseur de la synthèse des acides gras, le malate est un précurseur de la synthèse de glucose par la voie de la néoglucogenèse.
- Autres fonctions cataboliques : certaines réactions cellulaires produisent des intermédiaires du cycle. Leur entrée et leur dégradation par cette voie contribuent au processus de renouvellement des structures.

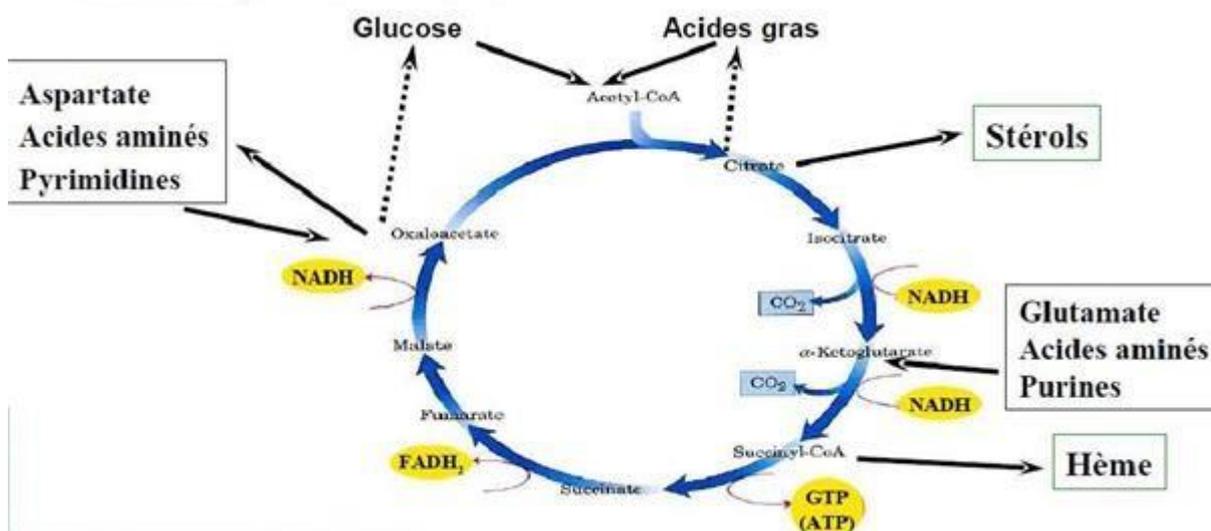


Figure : Rôle de cycle tri-carboxylique de Krebs.

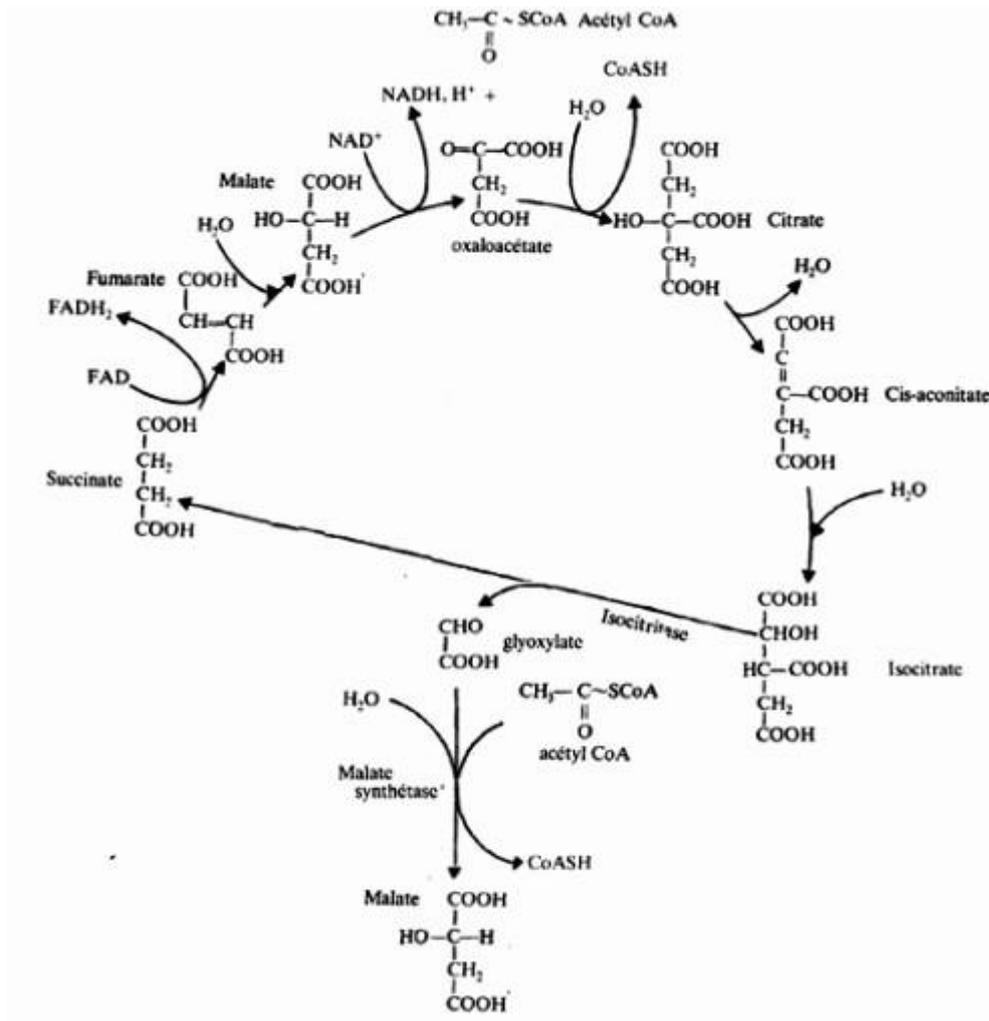


Figure : Cycle du glyoxylate : dérivé du cycle tricarboxylique. Il ne fonctionne que chez les végétaux, les graines oléagineuses en germination, quelques levures et les moisissures. Le glyoxylate, une fois formé, peut se condenser avec un autre acétyl-CoA pour donner du malate en présence de la malate synthase.