

La chaîne respiratoire mitochondriale

I- Origine et transport des cofacteurs réduits

L'objectif de ce processus est de **réoxyder** les molécules de cofacteurs **réduits** : **NADH⁺** et **FADH₂**. Ce processus a lieu au niveau de la **mitochondrie** donc il faut que ces coenzymes réduits soient disponibles au niveau de la mitochondrie.

En fonction de la réaction qui a généré le NADH⁺ et le FADH₂, ces coenzymes peuvent se retrouver :

- Directement dans la **mitochondrie** : ils seront directement réoxydés
- Au niveau du **cytoplasme** : nécessitent un système de navette pour être transportés au niveau de la mitochondrie

Origine des cofacteurs réduits NADH+H⁺ et FADH₂

Molécules énergétiques	GLUCIDES			LIPIDES	PROTEINES
Réaction	Glycolyse Glucose ↓ Pyruvate	Décarboxylation oxydative Pyruvate ↓ Acétyl CoA	Cycle de Krebs A partir de l'Acétyl CoA	β-oxydation des acides gras Acyl CoA ↓ Acétyl CoA	Acides aminés ↓ Intermédiaires du cycle de Krebs → mitochondrie
Localisation	Cytoplasme	Mitochondrie	Mitochondrie	Mitochondrie	
Cofacteurs réduits produits	NADH ⁺ , H ⁺	NADH ⁺ , H ⁺	NADH ⁺ , H ⁺ FADH ₂	NADH ⁺ , H ⁺ FADH ₂	

Nécessite un transfert dans la mitochondrie

Produits *in situ* dans la mitochondrie directement utilisables pour la phosphorylation oxydative

Si on considère le **catabolisme des glucides**. Au niveau de la **GL**, qui permet la transformation du **glucose en pyruvate**, cette réaction qui génère du NADH⁺ a lieu dans le cytoplasme. Ce NADH⁺ aura donc besoin d'être transféré au niveau de la mitochondrie pour être ensuite **réoxydé** au niveau de la CRM.

En revanche, la **décarboxylation oxydative** qui est opérée par la **PDH** à partir du **pyruvate** pour générer de l'**Acétyl-CoA**, elle, a lieu au niveau de la mitochondrie et permet de générer du NADH⁺.

Le **cycle de Krebs** qui permet l'oxydation de l'**Acétyl-CoA** et qui a lieu au niveau de la mitochondrie permet également la génération de **NADH⁺** et **FADH₂** qui sont également produites, *in situ*, au niveau de la mitochondrie.

Le métabolisme **lipidique** et plus particulièrement la **β oxydation des AG** a également lieu dans la mitochondrie et permet la génération également de **FADH₂** et de **NADH⁺**.

→ On va donc discuter des systèmes de transport qui permettent aux coenzymes réduits qui se trouvent dans le cytoplasme, d'être transportés au niveau de la mitochondrie.

La **membrane interne mitochondriale (MIM)** est **imperméable** aux petites molécules. De ce fait, elle présente de nombreuses **protéines de transport** qui permettent le transport de ces molécules. Il y a **2 systèmes de transport** qu'on appelle :

-  Symport : 2 molécules transportées dans la **même** direction
-  Antiport : 2 molécules sont **échangées** en directions **opposées**

Antiports

Nom	Substrats	Sens	But
Antiport GLU / ASP	Glutamate Aspartate	Glu → Mit Asp → Cyt	} Navette malate / Aspartate
Antiport Malate/ α-cétoglutarate	α-cétoglutarate malate	α-CG → Cyt Malate → Mit	
Antiport ADP / ATP	ADP ATP	ADP → Mit ATP → Cyt	antiport ADP / ATP entrée ADP dans Mito

Symports

Phosphates	Pi et H ⁺	Cyt → Mit	translocation de Pi
Pyruvate	Pyruvate + H ⁺	Cyt → Mit	translocation Pyruvate

C'est le potentiel de membrane (gradient de protons) qui est la force motrice

Parmi les systèmes d'**antiport**, il y a la **navette Malate/Aspartate** qui va permettre :

- D'une part : le passage de **glutamate** vers la mitochondrie contre l'**aspartate** qui va dans le cytoplasme.
- D'autre part : l'antiport **malate - α-cétoglutarate** qui permet le passage de l'**α-cétoglutarate** vers le cytosol en échange du **malate** qui rentre dans la mitochondrie.

Le **2^{ème} système d'antiport** est celui qui concerne le transport de l'**ADP/ ATP** (*l'ATP translocase revue à la fin*) qui est important pour la disponibilité de l'ADP au niveau de la mitochondrie pour la synthèse d'ATP. Dans ce cas :

- L'**ADP** rentre dans la mitochondrie
- L'**ATP** qui a été généré dans la mitochondrie va la quitter pour aller vers le cytoplasme

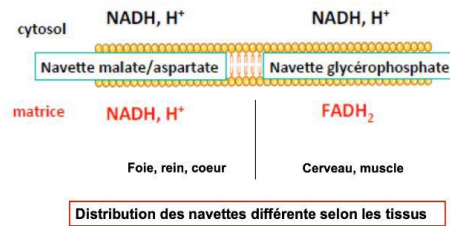
Concernant les systèmes de **symports**, il y a le symport **phosphate et proton**.

- Dans ce cas : les **2** sont transportés du cytoplasme vers la mitochondrie.
- Il y a une translocation des ions **phosphates**, utilisés pour la **synthèse de l'ATP**.

On a déjà vu au paravent, le transport du **pyruvate** par la **Pyruvate translocase** qui se fait par un transport simultané avec des **protons** :

- Le **pyruvate** va passer du cytoplasme vers la mitochondrie.
- C'est le **potentiel de membrane** (gradient de proton généré à la fin de la CRM) qui est la **force motrice** et donc qui fournit l'énergie nécessaire au système de **transport actif**.

Transport du NADH, H^+ produit dans le cytosol vers la membrane interne de la mitochondrie



En ce qui concerne le **transport** des molécules de **coenzymes réduits** du cytoplasme vers la mitochondrie pour être ensuite réoxydés au niveau de la CRM, l'organisme utilise des systèmes de transport différents en fonction des tissus :

- La **navette Malate/ Aspartate** est abondante dans : le foie, le rein et le coeur et permet un passage des éléments **NADH, H^+ réduits** du cytoplasme vers la matrice mitochondriale.
- Le cerveau et le muscle sont équipés d'une **navette glycérophosphate** qui va permettre le transfert d'équivalents **NADH, H^+** du cytosol vers la matrice mitochondriale, sous forme de **FADH_2** .

II- Principe général de la CRM et de la phosphorylation oxydative

Les réactions du catabolisme cellulaire produisent des éléments réducteurs, en particulier NADH, H^+ et FADH_2 .

La CRM et la phosphorylation oxydative ont comme objectif final de permettre la **réoxydation des coenzymes réduits** notamment NADH, H^+ et FADH_2 . Ces coenzymes seront **réoxydés** et le **pouvoir réducteur** de ces coenzymes sera **utilisé pour générer de l'ATP**. (*Revu plus tard*)

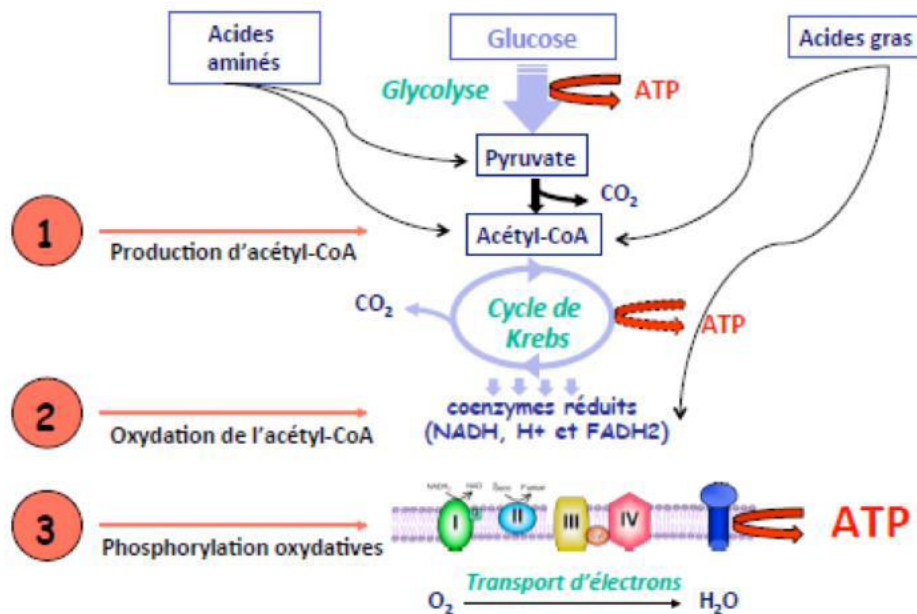
Ces processus ont lieu **tout le temps**, dans les cellules de l'organisme qui contiennent **des mitochondries** (il s'agit de réactions **mitochondriales**). Ça concerne toutes les cellules **SAUF les érythrocytes** (*Globules rouges = GR*) qui n'ont **PAS DE MITOCHONDRIES**. C'est un processus qui se fait par étape, par paliers au sein des différents **complexes de la CRM**. L'étape finale de ce processus est la **synthèse d'ATP par l'ATP synthase**.

L'énergie potentielle des nutriments (à savoir : les Aa, le glucose et les AG) est transformée en **énergie chimique** sous forme d'ATP utilisé par la cellule.

Tout d'abord, ces molécules sont **dégradées** en **pyruvate** et en **Acétyl-CoA**. L'Acétyl-CoA est ensuite **oxydé** au niveau du **CK** avec production de **l'équivalent ATP** dans une des réactions mais surtout la production de coenzymes réduits NADH, H^+ et FADH_2 .

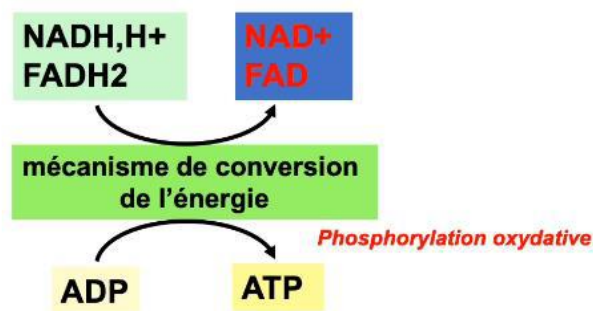
Ces coenzymes vont être **réoxydés** au niveau de la CRM grâce à un **transport d'électrons** et **l'énergie** qui est libérée au cours de la réoxydation de ce coenzyme réduit, va permettre la **synthèse ultime d'ATP**.

L'énergie potentielle des nutriments est transformée en énergie chimique (ATP) utilisée par la cellule



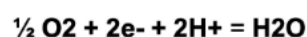
La phosphorylation oxydative est un processus qui couple :

- La **réoxydation** des cofacteurs réduits **NADH⁺** et **FADH₂** qui sont produits lors du catabolisme des molécules énergétiques (tels que les glucides, lipides et protéines) au sein de la CRM
- A la **production d'ATP** dans une réaction de phosphorylation à partir d'**ADP** et phosphate, qui est catalysée par l'**ATP synthase**.



Ce processus permet donc la génération de molécules de coenzymes oxydés **NAD⁺** et **FAD** et la conversion d'énergie, dans le processus de phosphorylation oxydative à **générer de l'ATP**.

C'est un processus qui implique un **transport d'électrons** de haute énergie à partir de **NADH⁺** et **FADH₂** vers l'**oxygène** qui est l'**accepteur final** de ces électrons. A la fin de la réaction, l'**oxygène** sera **réduit** en **H₂O**.



La phosphorylation oxydative est **active seulement en condition AEROBIE** car on a besoin d'**oxygène** comme accepteur d'électrons. On parle aussi, de **respiration cellulaire**.

Le transport d'électrons du **NADHH⁺** et **FADH₂** vers l'**oxygène** est un processus qui se fait :

- Par étape par des échanges **successifs** entre différents **couples redox**
- Au sein des complexes de la **MIM** (Mb Interne Mito)

Ces complexes composent la **CRM**. L'énergie portée par ces électrons serait tellement importante, si elle était dégagée dans un **transfert unique**, la cellule ne serait **pas capable de la gérer**. Ce transfert d'électrons est couplé à un **transfert de protons à travers la MIM**. Les protons vont s'accumuler au niveau de l'**espace intermembranaire** (EIM) et ça va générer un **gradient électrochimique** qui sera exploité par la cellule pour produire de l'ATP.

→ Génération d'un gradient électrochimique exploité pour la production d'ATP

La chaîne de transport d'électrons qui caractérise la CRM est une **succession de couples redox** qui s'échangent les **électrons** par des réactions d'**oxydoréduction**.

Au cours de ces réactions, les électrons vont passer d'un composé **A (réduit)** qui va perdre ses électrons, en faveur d'un **composé B**.

Lors de ce passage d'électrons, la molécule **A** qui a **perdu ses électrons** va se retrouver dans un état **oxydé** en revanche la molécule **B** qui a **gagné** ces électrons va passer dans un état **réduit**.

Les électrons vont circuler de la molécule qui a le potentiel rédox le plus faible vers la molécule acceptrice qui a le potentiel redox le plus élevé.

Dans le cas de la CRM :

- Le transport d'électrons se fait des molécules **NADHH⁺** et **FADH₂** vers l'**oxygène** qui est l'accepteur final.
- **NADHH⁺** et **FADH₂** sont des donneurs d'électrons de **haut niveau d'énergie**

Elles ont un **potentiel redox négatif**, ce sont donc des **donneurs** d'électrons car ils ont une **faible affinité** pour les électrons. Le potentiel redox de l'**oxygène** étant **très positif**. Il est un bon **accepteur d'électrons** et il a une **forte affinité** pour les électrons.

La différence de potentiel entre **FADH₂**, **NADHH⁺** et l'**oxygène** est très importante.

- La réaction **directe** est très **favorable**
- L'énergie fournie est **énorme**

Pour cela, le passage d'électrons de **NADHH⁺** et **FADH₂** vers l'**oxygène** ne se fait pas en une seule étape mais par une **séquence d'intermédiaires**.

Lors d'une réaction redox, le transfert d'**électrons** est associé à un **transfert d'énergie** selon l'équation suivante et va dépendre :

- Du **nombre** d'électrons transférés
- D'une constante de **Faraday**
- De la **différence** entre le potentiel redox des 2 systèmes cad entre les donneurs et les accepteurs d'électrons (dans le cas de la CRM : les donneurs = **NADH⁺**, **FADH₂** et l'accepteur= l'**oxygène**).

$\Delta G = \text{variation d'énergie libre}$

- Energie disponible pour un travail
- Tend vers l'équilibre
- Permet de prédire si la réaction est possible
- Exprimée en KJ/mole

F : Représente le Faraday soit 96 500 Coulomb/mole (KJ/volt/mole)

ΔE : Différence entre les potentiels redox des 2 systèmes

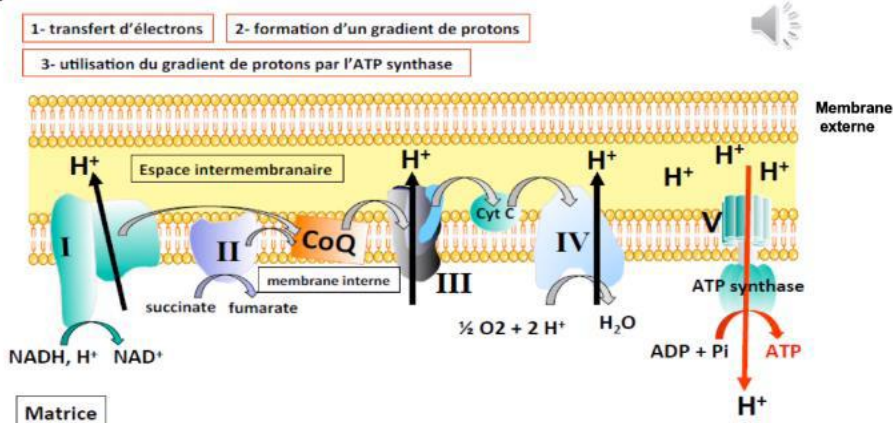
n : nombre d'électrons transférés

$$\Delta G = - n F \Delta E$$

La CRM a lieu dans la MIM. Elle se compose de **4 complexes membranaires** de transporteurs d'électrons ordonnés séquentiellement et reliés par **2 transporteurs mobiles** d'électrons : le CoenzymeQ et le CytC.

Cette chaîne permet le transfert d'électrons par des **échanges successifs** entre différents **couples redox** qui sont réalisés au sein des complexes de cette CRM, à partir d'un **donneur vers un accepteur**.

Formée de 4 complexe membranaires de transporteurs d'électrons ordonnés séquentiellement et reliés par 2 transporteurs mobiles d'électrons (le Coenzyme Q et le Cytochrome c)
+ ATP synthase



Ce transfert d'électrons à travers les éléments de la CRM, va entraîner la **formation d'un gradient de protons** à travers la MIM de la matrice vers l'espace intermembranaire.

C'est ce gradient de proton qui s'accumule dans l'espace intermembranaire, qui est utilisé en dernier pour la **synthèse de l'ATP** par l'ATP synthase.

La synthèse d'ATP est un système qui fonctionne à flux tendu, l'ATP est très peu stocké dans la cellule mais est synthétisé continuellement en fonction des besoins cellulaires.

Ceci explique la nécessité d'un système continu et d'une régulation fine de la phosphorylation oxydative, adaptée à chaque type cellulaire.

III- Protéines Fer-Souffre

Ce sont des groupements **prosthétiques** contenant des atomes de **Fe³⁺** qui vont acquérir 1 électron et passer sous forme d'atome de fer **ferreux** : **Fe²⁺**.

Ces atomes de Fer sont liés à :

- Des atomes de **souffre** élémentaires **inorganiques**
- Des atomes de **souffre** des résidus de **cystéine** des **protéines** auxquelles ils appartiennent.
- Il s'agit de protéines **non hémiques** car le fer n'est **PAS** inclus dans une **structure de type hème**.

PROTEINES FER - SOUFRE

Protéines associées aux flavoprotéines et qui possèdent du **Fer et du Soufre**
Protéines non hémiques → Fe non inclus dans une structure de type hème

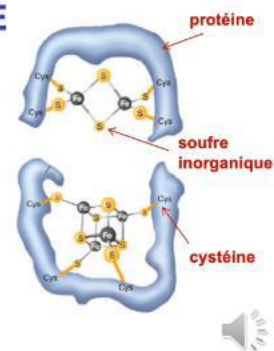
Petites protéines non identiques les unes des autres

Elles constituent des intermédiaires **permettant le transfert des électrons** depuis **les complexes 1 et 2 vers le coenzyme-Q**

Le soufre provient soit de résidus cystéines, soit de soufre inorganique.

Il y a autant de soufre inorganique qu'il y a de fer

Les atomes de soufre servent à stabiliser le Fer par des liaisons de coordination



Atomes de fer sont responsables du transfert des électrons →

On passe d'une structure de fer ferrique à une structure de fer ferreux

Ces protéines sont des **intermédiaires** et permettent le transfert **d'électrons** depuis les **complexes 1 et 2** de la CRM vers le coenzyme Q. Il y a autant d'atomes de Fer que d'atomes de Soufre. Le soufre a pour fonction **de stabiliser le Fer** par des liaisons de **coordination**. Le transfert d'électrons se fait grâce aux atomes **de Fer** qui passent d'un état **ferrique (Fe³⁺)** à un état **Ferreux (Fe²⁺)**.

IV- Les complexes de la CRM

A) Complexe I

Le premier complexe de la CRM permet la **réoxydation** d'une molécule de **NADHH⁺** en **NAD⁺**. Les électrons sont transférés de la molécule **NADHH⁺** vers l'accepteur final qui est l'**ubiquinone** ou **coenzyme Q** qui se retrouvera sous sa forme réduite : **ubiquinol**.

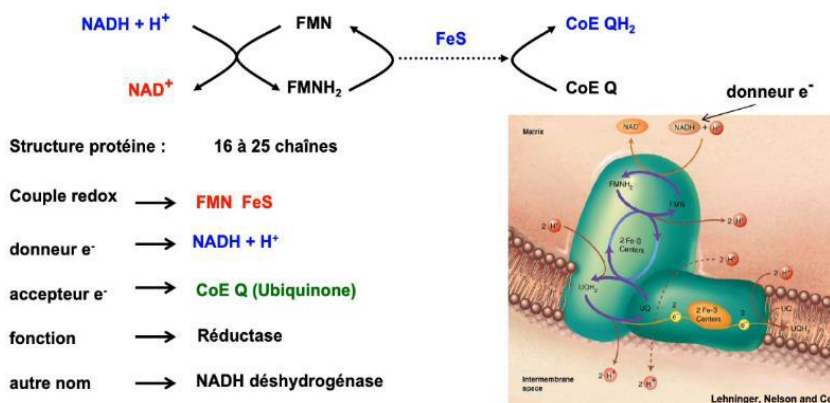
Ce passage n'est **pas direct**, mais :

- Les électrons sont d'abord **transférés** sur une molécule de **FMN** qui se retrouve sous sa forme **réduite FMNH₂**.
- Ensuite ils seront **transférés** grâce à une protéine **Fer/Souffre** sur le **CoEQ**.

C'est une structure **protéique** qui comprend entre **16 et 25 chaines** ayant une forme de **L**. Une partie est localisée dans la **MIM** et une partie donne dans la **matrice mitochondriale**.

COMPLEXE I : NADH UBIQUINONE RÉDUCTASE

Catalyse le transfert des électrons du $\text{NADH} + \text{H}^+$ à l'ubiquinone



L'énergie qui est dégagée lors du transfert d'électrons au niveau de ce complexe 1 de la CRM permet à 4 H^+ de s'accumuler dans l'espace intermembranaire.

B) Complexe II

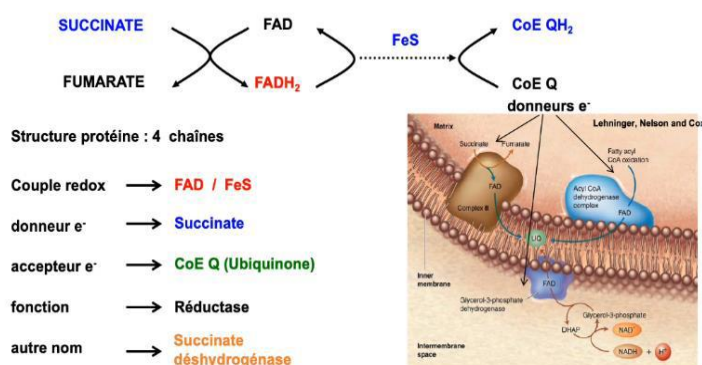
Le complexe II de la CRM catalyse l'oxydation de succinate en Fumarate. Il s'agit de la réaction qui appartient au Cycle de Krebs et qui est catalysée par une SuccinateDH ou Succinate Ubiquinone Reductase.

C'est un complexe protéique formé de 4 chaînes. Il fait intervenir le FAD comme coenzyme :

- FAD est réduit dans un 1^{er} temps en FADH_2
- Il va ensuite transférer les électrons sur les protéines Fer/souffre
- Les e^- vont passer des protéines FeS vers une molécule de CoEQ qui va se retrouver dans son état réduit : ubiquinol (*c'est le même accepteur d'électrons que pour le complexe I*).

COMPLEXE II : SUCCINATE UBIQUINONE RÉDUCTASE

Catalyse l'oxydation du succinate en fumarate



Au niveau de ce complexe II, l'énergie qui est dégagée lors de ce transfert, qui est catalysé par la Succinate Ubiquinone Reductase, ne permet PAS l'accumulation de protons au niveau de EIM.

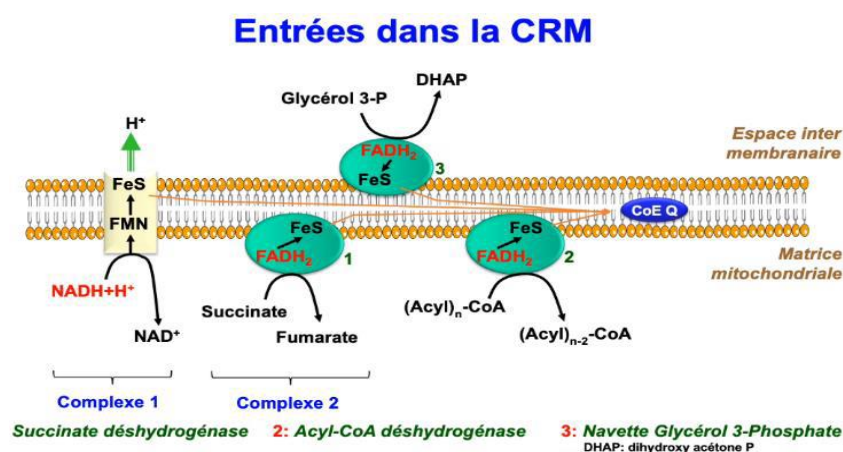
→ Le CoEQ réduit, qui a **récupéré les électrons** en provenance du **complexe I** et du **complexe II** de la CRM, peut **diffuser à travers la membrane** et amener ces électrons vers le **complexe III**.

Le CoEQ (ubiquinone) du complexe II est également un **point d'entrée** des éléments **réduits** tel que le **FADH₂** et donc des **électrons** au niveau de la CRM mais **sans passer par le complexe II** : - La 1^{ère} étape de la **βoxydation des AG** est catalysée par l'Acétyl-CoA DH qui va générer du **FADH₂** avec transfert d'électrons vers le centre **Fer-Souffre**.

Il y a aussi le **Glycérol 3 Phosphate** formé dans la GL ou par l'hydrolyse des **TG**, qui va céder ses électrons après transformation en **DHAP** par la Glycérol Phosphate DH. Il fonctionne aussi comme **transporteur de NADHH⁺**.

→ Tout cela, ainsi que les **électrons** qui proviennent du **complexe I**, vont arriver sur le **CoEQ** qui va se retrouver dans sa forme **réduite** et va flotter dans la couche lipidique de la **MIM**.

→ Le CoEQ va donc permettre le **passage d'électrons** au niveau du **complexe III**, au niveau de ce complexe, il sera **réoxydé**.



C) Complexe III

Au niveau du complexe III de la CRM, il y a le transfert d'électrons à partir de l'**ubiquinol** (*cad ubiquinone réduite*) (qui a récupéré les électrons à partir du **complexe I** et du **complexe II**) vers le **CytC**. Ce complexe est une ubiquinone CytC Reductase. Il est composé de :

- 8 chaînes protéiques
- Un Cytochrome C1
- Un Cytochrome B.

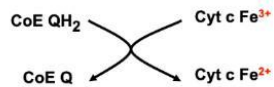
Au niveau de ce complexe, les électrons sont transférés de l'**ubiquinol** vers le **CytC**.

- L'**ubiquinol** va ensuite retrouver sa forme **oxydée ubiquinone**.
- Le **CytC** va **récupérer ses électrons**
- L'**ubiquinol** va pouvoir transférer **2 électrons**

Le CytC peut accueillir **UN seul électron à la fois**. Dans ce cas, il y a un **1^{er} électron** qui est transféré sur le **CytC1** du complexe et ensuite sur le CytC. En attente, le **2^{ème} électron** est transféré dans un **1^{er} temps** sur le **CytB**. Ensuite, lorsque le **1^{er} électron** aura rejoint le CytC, ce **2^{ème} électron** sera transféré du **Cytb** vers le **CytC1** et ensuite vers le **CytC**.

COMPLEXE III : UBIQUINONE CYTOCHROME C RÉDUCTASE

Catalyse le transfert des électrons au cytochrome C



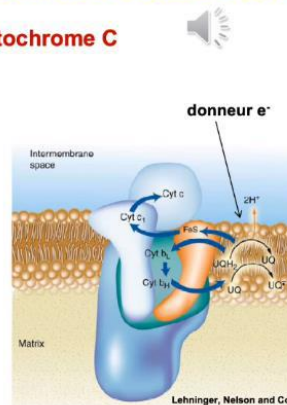
Structure protéine : 8 chaînes

Couple redox → **Cytochromes b et C1**

donneur e^- → **CoE QH₂ (Ubiquinol)**

accepteur e^- → **Cytochrome C**

fonction → **Réductase**



Le CytC étant **mobile**, il pourra transférer ses électrons vers le **complexe IV** de la CRM.

→ Au niveau de ce complexe, le **gradient énergétique** qui se dégage par le transfert d'électrons permet le transfert de **DEUX** protons au niveau de l'EIM.

D) Complexe IV

Dans le dernier complexe de la CRM (*après la prof parlait de complexe V mais le IV est quand même le « vrai » dernier de la CRM*), on a le transfert des électrons qui proviennent du CytC sur l'oxygène.

Il s'agit d'une **CytochromeOxydase**, dans laquelle une molécule d'**oxygène** est réduite avec **4 électrons** pour former une **molécule d'eau**. Ce complexe contient le **Cytochrome a, a3 et 2Cu²⁺**. Les électrons passent des atomes de **cuivre** au **Cyt a** puis au **Cyta3** et enfin sur l'oxygène.

Lors de ce transfert d'électrons, il y a également **4 H⁺** qui vont être transférés de la matrice vers l'EIM.

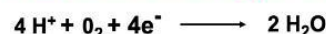
Les électrons se déplacent du système ayant le potentiel **le plus négatif**, cad le système le plus **réducteur**, vers le système ayant le potentiel le plus **positif** donc le système le plus **oxydant**.

Les protons, eux traversent la MI et donc s'accumulent dans l'EIM dans le **complexe I, III, IV** et vont donc entraîner une **différence chimique et électrique** entre ses compartiments.

C'est cette **différence** qui sera par la suite utilisée pour la synthèse d'ATP.

COMPLEXE IV : CYTOCHROME C OXYDASE

Catalyse la réduction de O₂ par 4 électrons



Structure protéine : 7 chaînes

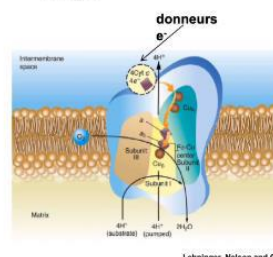
Couple redox → **Cytochromes a, a3 et 2 Cu²⁺**

donneur e^- → **Cytochrome C**

accepteur e^- → **Oxygène moléculaire**

fonction → **Oxydase**

autre nom → **Cytochrome oxydase**



V- Régulation de la CRM

Il existe des **inhibiteurs** qui bloquent la CRM à différents niveaux et qui **empêchent donc le passage d'électrons** vers les **accepteurs** successifs. Ces inhibiteurs sont utilisés dans des **expériences** pour comprendre quel complexe est **impliqué** dans une observation expérimentale donnée.

Au niveau des différents complexes :

- ✚ Le **complexe I** (*une NADH DH qui contient une protéine FeS et qui dégage suffisamment d'énergie pour entrainer le transfert de 4 protons dans l'EIM*) est bloqué par le **roténone**.)
- ✚ Le **complexe II** n'a **PAS** d'inhibiteur spécifique
- ✚ Le **complexe III** (*qui contient une ubiquinone CytC réductase, également des protéines FeS et des cytochromes b et C1, dans lequel il y a également un transfert de H⁺ dans l'EIM*) est bloqué par l'**antimycine A**.
- ✚ Le **complexe IV** (*qui contient la CytC Oxydase dans laquelle il y a le transfert des électrons sur la molécule d'oxygène, ce complexe ne comprend pas de protéine FeS mais contient des Cyt a et a₃*) peut être inhibé par le **cyanure** et le **monoxyde de carbone**.

Inhibiteurs

Complexes	Composants			Énergie	Inhibiteurs
	Complexes	Fe-S	Cytochromes		
C I	NADH déshydrogénase	oui	--	oui	roténone
C II	Succinate déshydrogénase	oui	--	non	--
C III	Ubiquinone cytochrome C réductase	oui	b ; c ₁	oui	Antimycine A
C IV	Cytochrome C oxydase	non	a ; a ₃	oui	CN ; CO

CN: cyanure
CO: monoxyde de carbone

Conclusion :

Les réactions du catabolisme cellulaire et le CK produisent des éléments réducteurs en particulier NADH⁺ et FADH₂

- Le but de la CRM est la réoxydation de ces 2 coenzymes réduits
- Le transport des électrons du NADH⁺ et FADH₂ vers l'oxygène (accepteur final) se fait par des échanges successifs entre différents couples redox réalisés au sein de 4 complexes de la MIM de la CRM.
- La CRM est couplée à un transfert de protons H⁺ à travers la MIM (de la matrice vers l'EIM) qui va générer un gradient de charges et une différence de Ph qui sera exploité pour la synthèse d'ATP par l'ATP synthase.

Voilà c'est fini pour cette première fiche sur le métabolisme mitochondriale. J'ai tout divisé par partie pour que vous ayez des fiches un peu moins denses. Des bisous et bon courage ! <3