

Respiration source d'ATP

Toutes les cellules consomment de l'ATP. Nous avons vu qu'il existait un mécanisme de production d'ATP dans la cellule chlorophyllienne: celui qui a lieu dans le chloroplaste. Est-il le seul utilisé par ces cellules? Comment les cellules hétérotrophes assurent-elles cette production?

1 Mise en évidence de la respiration d'une suspension cellulaire:



Les levures sont des champignons unicellulaires

dépourvus de chlorophylle. Comme les cellules animales, elles sont hétérotrophes et consomment des substances organiques qui peuvent être soit stockées, soient puisées dans le milieu.

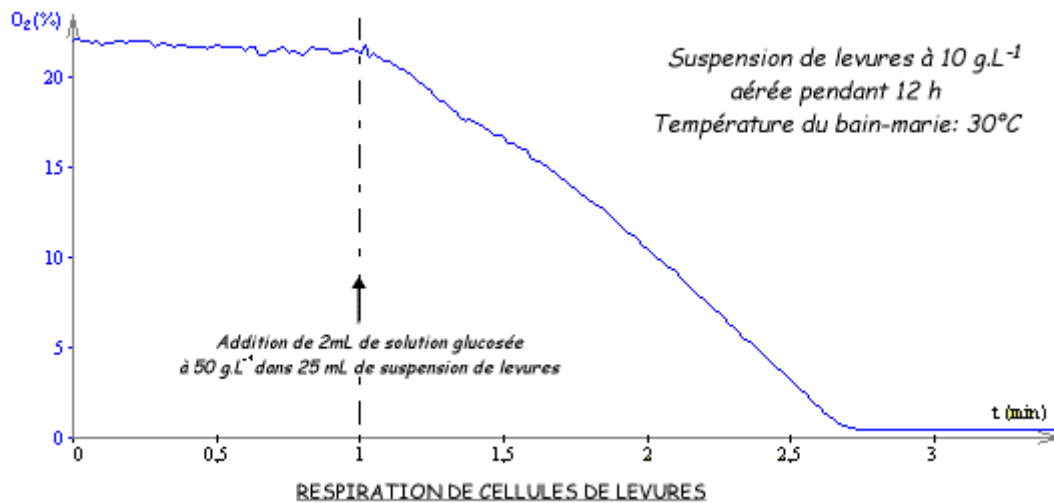
Nous savons que la **respiration** est un phénomène qui **consomme du dioxygène** et **rejette du dioxyde de carbone**. Nous savons aussi que ces échanges de gaz s'accompagnent de l'**oxydation de nutriments organiques**, comme le glucose.

Nous allons essayer de montrer que des cellules en suspension respirent en réalisant le montage expérimental ci-contre:

On prépare une suspension de levures à 10 g.L⁻¹ que l'on aère pendant une douzaine d'heures avec un bulleur d'aquarium: ceci a pour but "d'affamer" les levures qui auront consommé tous les substrats métaboliques. Les levures, à raison de 25 mL de suspension sont placées dans l'enceinte réactive, la sonde oxymétrique plonge dans le liquide et on procède à un réglage de l'agitation de manière à ce que la sonde ne se trouve pas dans le cône de turbulence. Avant de lancer la mesure, on attend la stabilisation de la sonde.

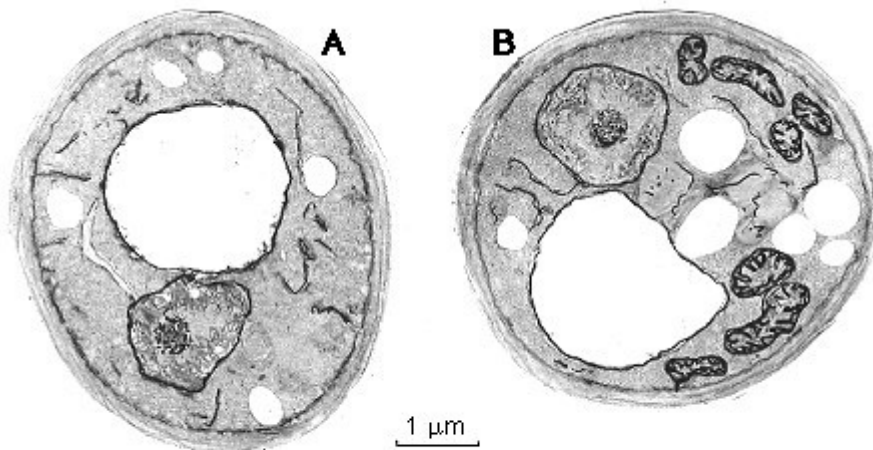
Au bout d'une minute (temps nécessaire pour constater l'évolution du taux de dioxygène en l'absence de substrat, on introduit 2 mL de solution glucosée à 50 g.L⁻¹, assez rapidement pour pouvoir visualiser l'artefact correspondant à cette modification du milieu.

Un enregistrement a été obtenu:



Comparez les résultats obtenus avant et après l'addition du glucose. Quelle conclusion pouvez émettre? Mettez en relation ce résultat et les connaissances que vous avez du bilan chimique de la respiration.

2 Mise en évidence de la respiration de mitochondries:



CELLULES DE LEVURE OBSERVEES AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE (A. en milieu anaérobie - B. en milieu aérobie).

2.1 Levure en anaérobiose et en aérobiose

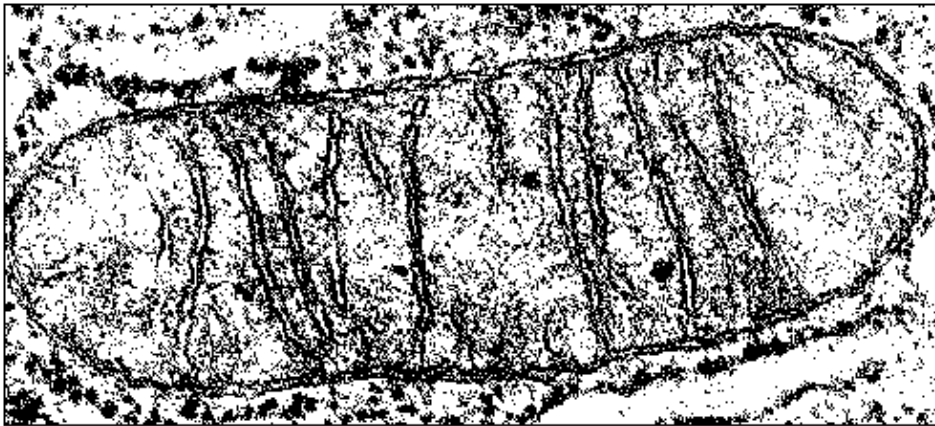
L'observation au microscope électronique de levures ayant séjourné dans des conditions aérobie révéle de nombreuses mitochondries au sein de leur hyaloplasme. Par contre, celle de levures ayant séjourné dans des conditions anaérobies (sans dioxygène) montre des mtochondries peu abondantes et de petite taille.

En généralisant, des observations de tissus variés, dans des conditions physiologiques différentes, montrent que plus une cellule est active, plus elle possède de mitochondries et plus les crêtes de leurs membranes internes sont développées.



A partir de ces informations, proposez une hypothèse sur le rôle des mitochondries dans la cellule.

2.2 Ultrastructure d'une mitochondrie



MITOCHONDRIE OBSERVEE AU MET ($\times 45\ 000$)



Faites un dessin d'observation du document ci-dessus en y plaçant les annotations suivantes: membrane externe, membrane interne, replis de la membrane interne ou crêtes, matrice (intérieur de la mitochondrie), hyaloplasme.

2.3 Influence de divers substrats sur la respiration mitochondriale

L'expérience précédente du §1 (ExAO) est refaite en utilisant une suspension de mitochondries à la place des cellules de Levures. Mais la séparation des mitochondries demande une centrifugeuse très rapide (vitesse 100 000 G); c'est un matériel qui n'existe que dans les laboratoires de recherche, l'absence de ce matériel fait que l'isolement des mitochondries est aléatoire, on obtient en fait un mélange de mitochondries et de cytoplasme qui à toutes les chances de se comporter comme des cellules entières.

On proposera donc des résultats obtenus ainsi:

Une suspension de mitochondries obtenue par centrifugation d'un broyat cellulaire est placée dans une enceinte de réaction, dans un milieu approprié et bien oxygéné,

au temps t1 on ajoute une petite quantité de glucose (molécule en C6),

au temps t2 on ajoute du pyruvate (molécule en C3) ou du succinate (molécule en C4), choisies parce que c'est notamment sous ces formes moléculaires que le glucose est transformé dans le cytoplasme.

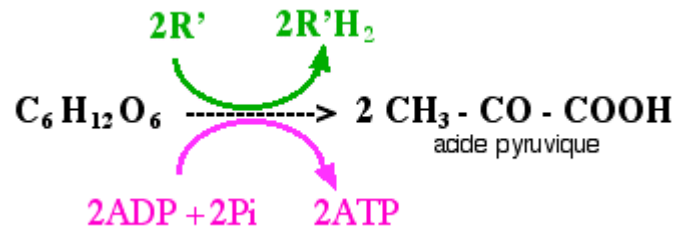
3) Les étapes de la respiration cellulaire



3.1 Première étape: La glycolyse dans le cytoplasme

La dégradation des nutriments débute toujours **dans le hyaloplasme** de la cellule par une glycolyse (=dégradation du glucose).

C'est une suite complexe de réactions qui dégradent une molécule de glucose (à 6 atomes de carbone) en deux molécules d'acide pyruvique (à 3 atomes de carbone):



Retenons-en quelques caractéristiques:

C'est toujours un phénomène anaérobie, c'est-à-dire qui ne consomme pas de dioxygène.

Elle comprend plusieurs réactions catalysées chacune par une enzyme spécifique et produisant une série de métabolites intermédiaires entre le produit initial, le glucose et le produit final, l'acide pyruvique (succinate par exemple).

La signification biochimique fondamentale est une déshydrogénation, correspondant à une oxydo-réduction qui nécessite un accepteur ou transporteur de protons et d'électrons symbolisé **R'** (état oxydé).

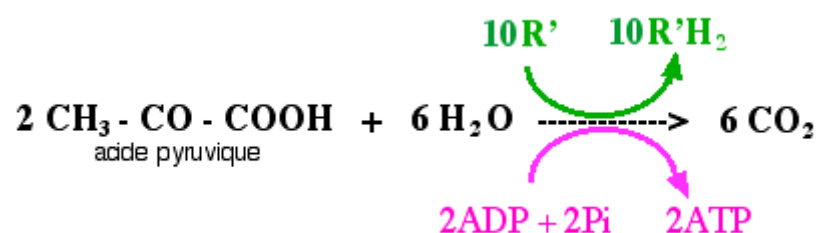
Le bilan de la glycolyse se traduit par la synthèse de 2 molécules d'ATP par mole de glucose oxydé.

Pour que les phénomènes puissent se poursuivre, il est nécessaire que les molécules de transporteurs, maintenant réduits (**R'H₂**) soient régénérées, c'est-à-dire repassent à l'état oxydé (**R'**).

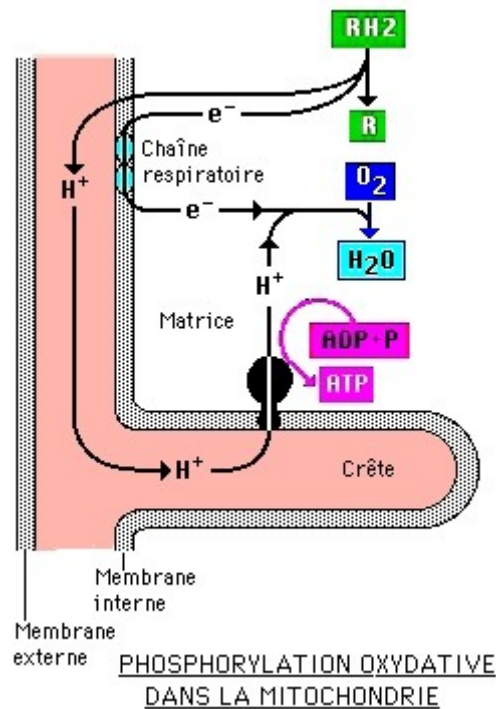
N.B. Ce recyclage des transporteurs est réalisé de manière différente dans le cas des fermentations et dans celui de [la respiration](#) selon l'équipement enzymatique de la cellule, donc le patrimoine génétique.

3.2 Deuxième étape dans la matrice des mitochondries

La dégradation des métabolites amorcée dans le cytoplasme, se poursuit dans les mitochondries: **dans la matrice**, l'acide pyruvique est totalement dégradé sous l'action d'enzymes (**décarboxylases et déshydrogénases**): du dioxyde de carbone est libéré, les transporteurs de protons et d'électrons sont réduits (**R'H₂**) et de l'ATP est produit.



3.3 Troisième étape dans les crêtes mitochondriales

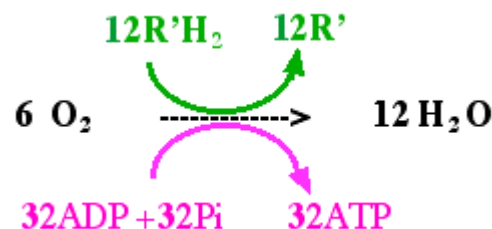


Au niveau de la membrane interne (**crêtes**) les molécules de transporteurs réduits (**R'H₂**) sont régénérées (**R'**) grâce à des molécules spécialisées qui constituent la chaîne respiratoire et assurent une série de réactions d'oxydo-réduction.

Le dioxygène constitue l'accepteur final de protons et d'électrons: lui-même réduit, il permet la formation de molécules d'eau.

Ainsi, les échanges gazeux respiratoires, d'une part en assurant une série de déshydrogénations et de décarboxylations et d'autre part en ne libérant pas d'emblée, d'un seul coup leur énergie, mais par fractions, permettent-ils une suite d'oxydo-réductions cellulaires productrices d'ATP.

En effet le recyclage des transporteurs est couplé à la synthèse de 16 à 18 molécules d'acide adénosine tri-phosphate par mole d'acide pyruvique, grâce à des ATP-synthétases fixées sur la membrane interne des mitochondries.



Si l'on prend en compte la glycolyse, la respiration cellulaire produit ainsi 36 moles d'ATP par mole de glucose oxydé