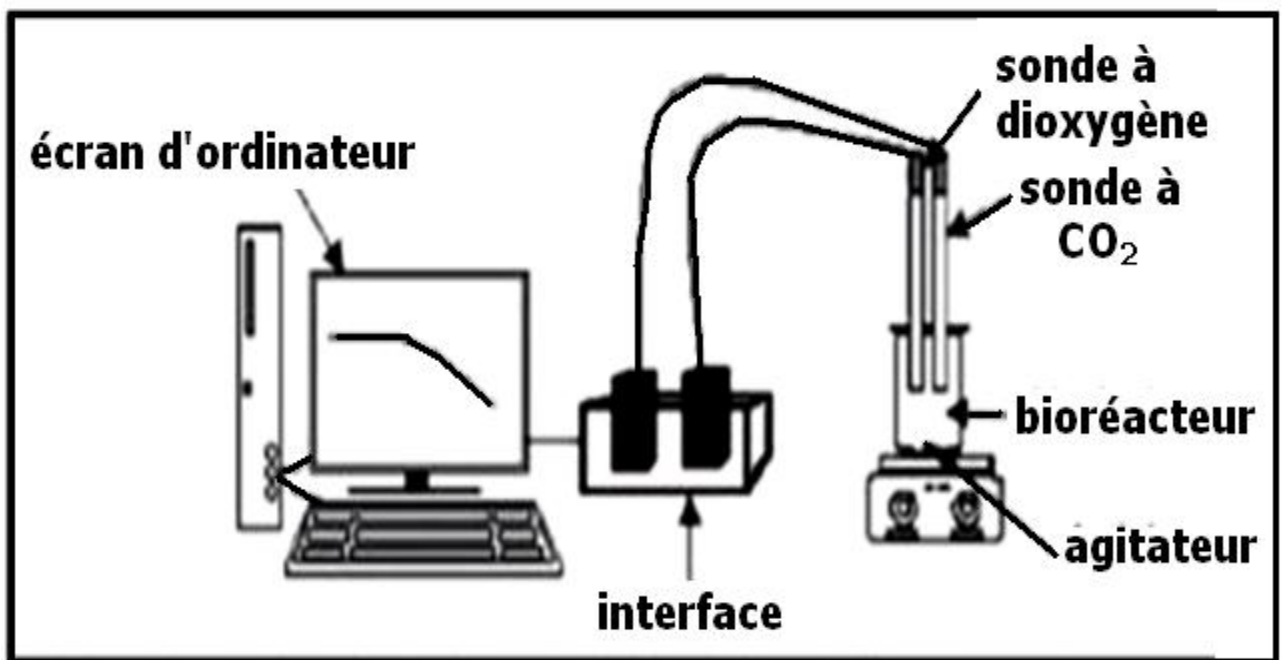


Consommation de la matière organique pour la production d'énergie : La respiration et la fermentation

1- Mise en évidence de la respiration cellulaire :

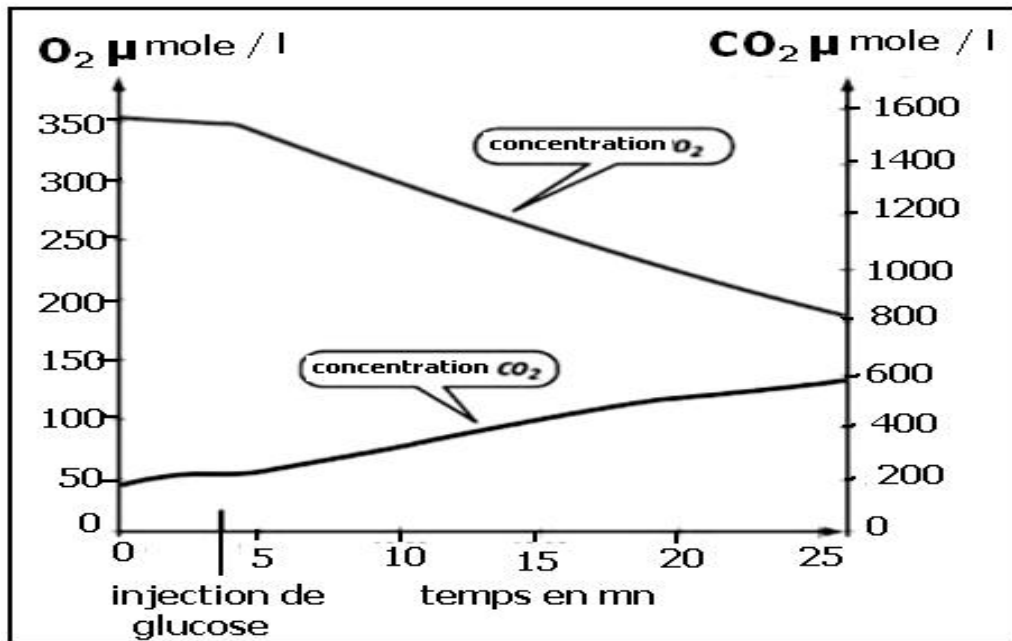
a- Expérience :

On place dans le bioréacteur du dispositif EXAO , une solution de levures bien oxygénée de concentration 10 g/l , une sonde à dioxygène et une sonde à dioxyde de carbone , les deux sondes sont liés par un interface à un ordinateur .
On ferme le bioréacteur, un agitateur permet d'homogénéiser la solution et de l'oxygéner , après 3 mn on injecte dans le bioréacteur 1 ml de solution de glucose à 5 g/l ,le glucose est le métabolite énergétique préféré des cellules et on poursuit l'évolution de quantité de dioxygène et de CO₂ dans le milieu



Montage ExAO pour l'étude des échanges gazeux

b- Résultat :



- avant l'injection de glucose , les concentrations de dioxygène et de CO₂ sont stables .
- après injection d'un millilitre de solution glucosée, la concentration de dioxygène diminue et la concentration de dioxyde de carbone augmente.

c- Conclusion :

En présence de dioxygène et de glucose dans le milieu, les levures absorbent du dioxygène et rejettent du dioxyde de carbone. Ces échanges gazeux caractérisent le métabolisme de la respiration.

Les levures sont des cellules , on parle donc de respiration cellulaire

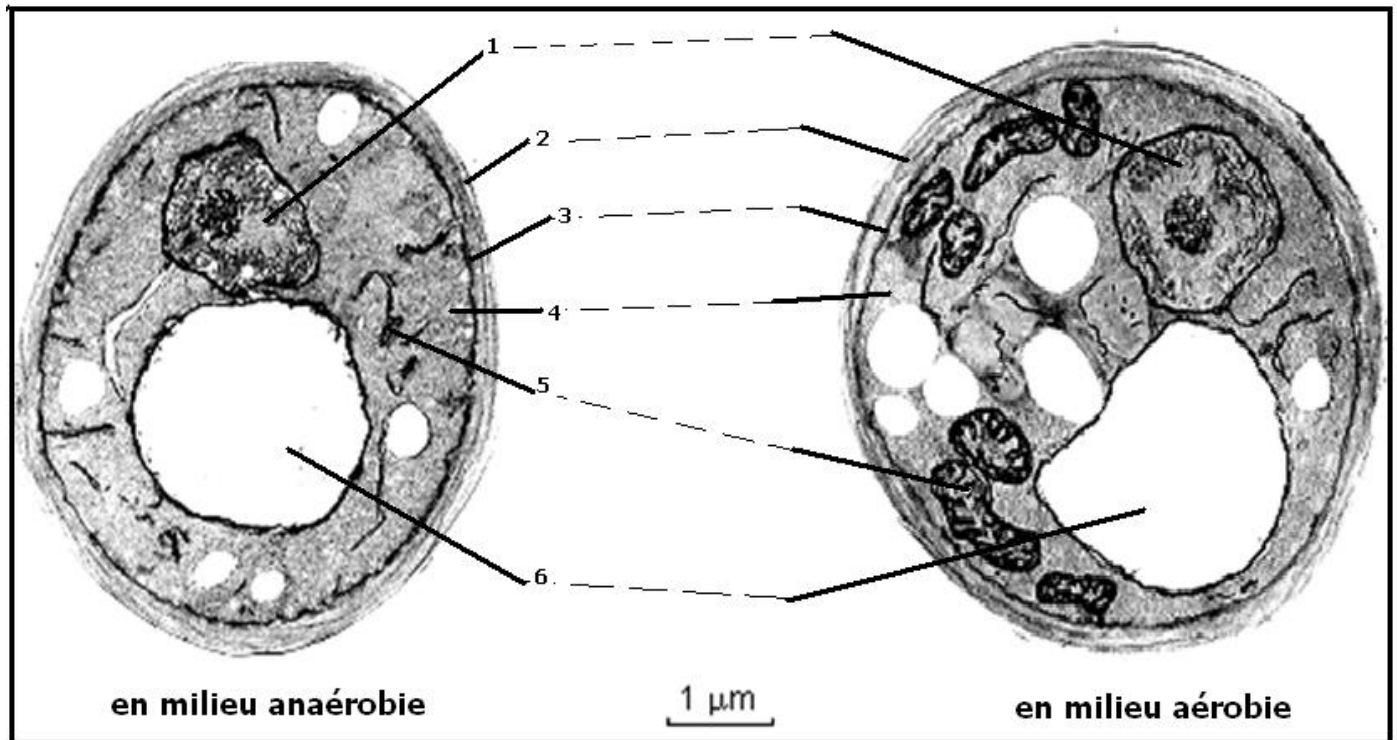
2- Effets des conditions aérobie du milieu sur l'ultra structure de la cellule :

Les levures sont des champignons unicellulaires qui peuvent vivre en aérobie (milieu avec dioxygène) ou en anaérobie (milieu sans dioxygène)

a- Expérience :

Deux lots de levures sont cultivés en présence de glucose en aérobie (lot n° 1) et en anaérobie (lot n° 2) , après un certain temps on observe au microscope électronique l'ultra structure de ces cellules .

b- Résultats :



En aérobiose le cytoplasme de la cellule présente des mitochondries nombreuses et volumineuses

En anaérobiose le cytoplasme de la cellule présente un petit nombre de mitochondries de taille très réduites .

c- Conclusion :

En aérobiose les mitochondries sont actives ; elles sont donc responsables de la respiration cellulaire

En anaérobiose les mitochondries sont inactives , il n'y a pas de métabolisme respiratoire , les levures consomment le glucose par une autre voie métabolique la fermentation .

3- Mise en évidence des étapes de la dégradation de glucose en aérobiose :

a- Expérience :

On cultive des cellules animales dans un milieu oxygéné contenant du glucose radioactif au C^{14} , au cour du temps on localise la radioactivité dans la cellule par autoradiographie , et par chromatographie on détermine la nature des produits radioactifs qui apparaissent .

b- Résultats :

temps	Milieu extra cellulaire	Milieu intra cellulaire	
		hyaloplasme	mitochondrie
t ₀	G ⁺⁺⁺⁺⁺		
t ₁	G ⁺⁺⁺⁺	G ⁺⁺⁺⁺	
t ₂		P ⁺⁺⁺⁺	P ⁺⁺⁺⁺
t ₃	CO ₂ ⁺⁺⁺⁺		P ⁺⁺⁺⁺ et K ⁺⁺⁺⁺
t ₄	CO ₂ ⁺⁺⁺⁺		K ⁺⁺⁺⁺

+++++ forte radioactivité ++++ moyenne radioactivité ++ faible radioactivité
 G = glucose P = acide pyruvique K = acides organique du cycle de Krebs

c- Conclusion :

Le glucose passe du milieu extra cellulaire au milieu intracellulaire ou il est dégradé. En aérobie pendant la respiration ; la dégradation du glucose se fait en deux étapes et dans deux structures cellulaires :

- Transformation du glucose en acide pyruvique au niveau de l'hyaloplasme : c'est la glycolyse .
- Oxydation de l'acide pyruvique en CO₂ par l'intermédiaire des acides du cycle de Krebs au niveau des mitochondries

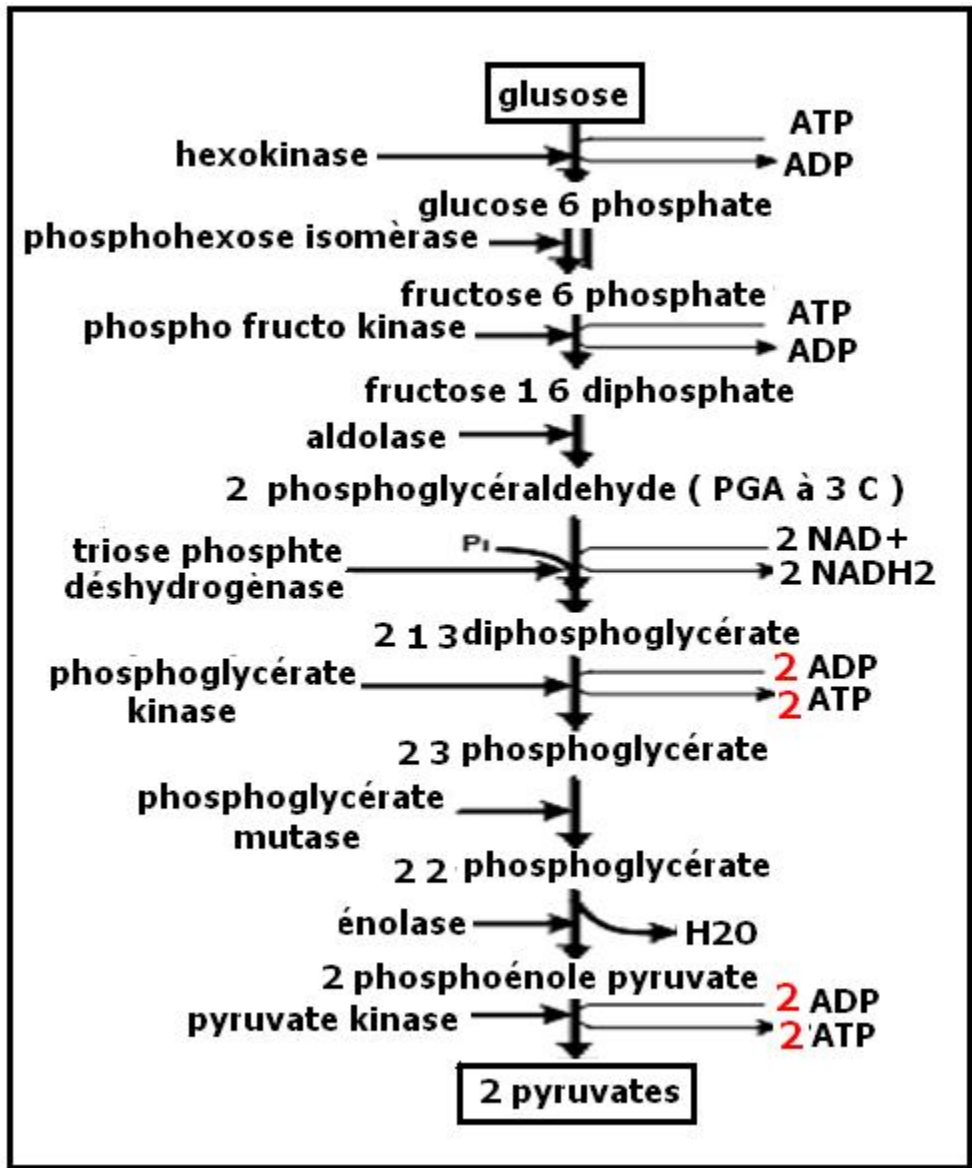
d- Remarque :

En anaérobie , les mitochondries sont inactives , la dégradation du glucose se fait par fermentation seulement au niveau de l'hyaloplasme .

4- La glycolyse dans l'hyaloplasme :

La glycolyse est un ensemble de réactions chimiques catalysées par des enzymes hyaloplasmiques spécifiques :

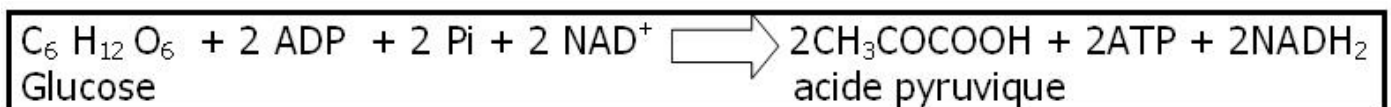
a- Les étapes :



La glycolyse se déroule en deux étapes principales :

- La première étape consomme de l'énergie sous forme d'ATP (- 2 ATP)
 - La deuxième étape produit de l'énergie sous forme d'ATP (+ 4 ATP) et des transporteurs d'électrons et de protons réduits .
- La cellule gagne donc 2 ATP

b- La réaction globale :

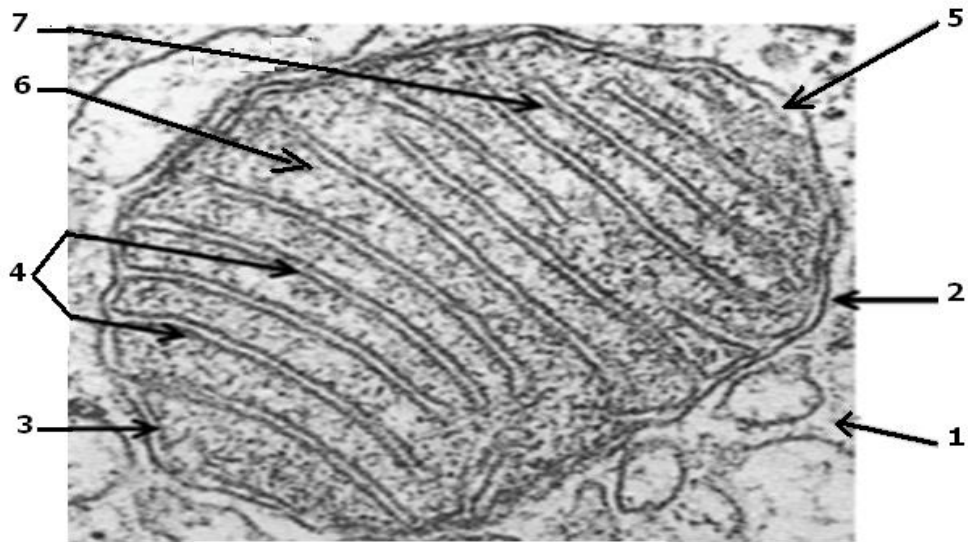


Le pyruvate qui résulte de la glycose passe dans les mitochondries en condition d'aérobie et reste dans l'hyaloplasme en condition d'anaérobie .

5- La mitochondrie et la phosphorylation oxydative :

5-1- la mitochondrie :

a- ultra structure :



ultra structure de la mitochondrie

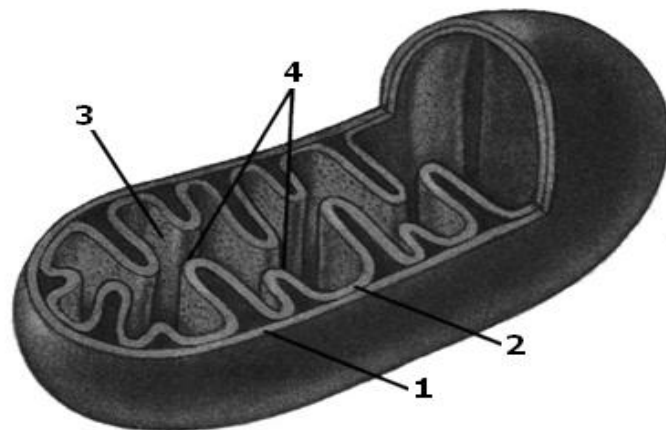
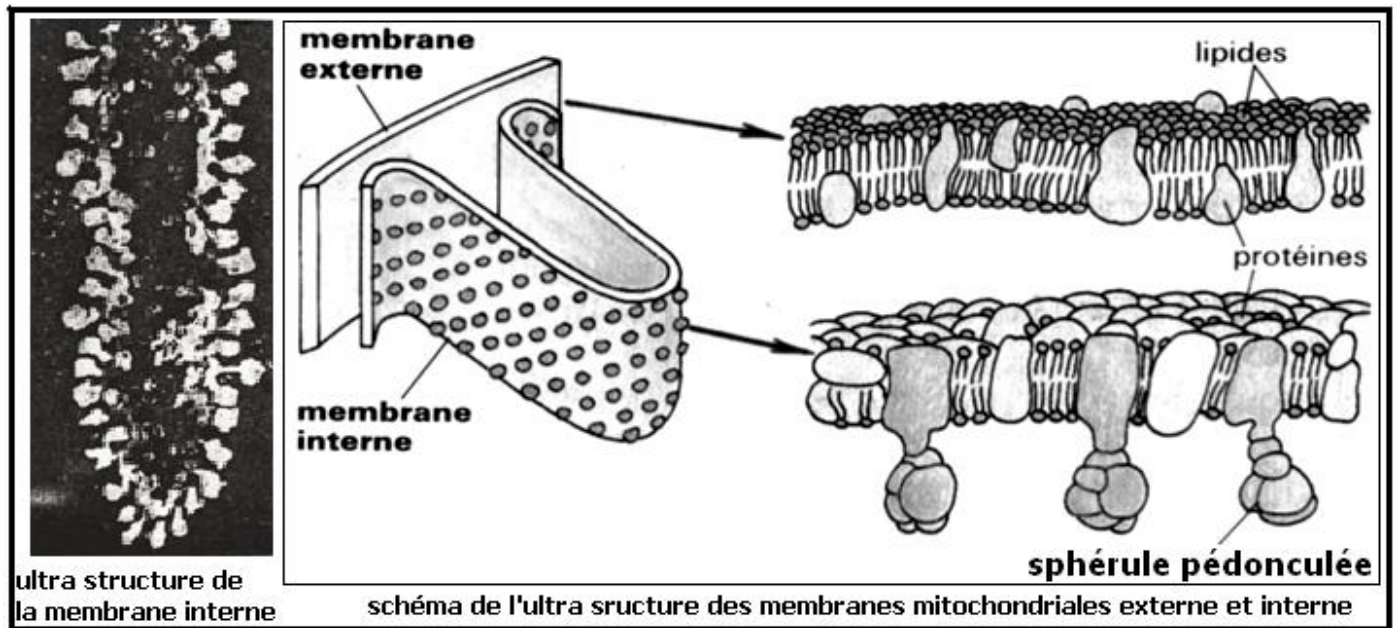


schéma de l'ultra structure mitochondriale

La mitochondrie est limitée par deux membranes , externe simple , et interne qui porte des prolongements vers l'intérieur de la mitochondrie ,les crêtes .

Au plus fort grossissement la membrane interne et les crêtes portent des sphérules pédonculées



Les sphérules pédonculées portent des enzymes se synthèse d'ATP appelées ATP synthases .

b- Composition chimique :

Le tableau suivant représente la composition chimique des différents composants de la mitochondrie :

	composition chimique	équipement enzymatique
membrane externe	40% à 50 % lipides 50 % à 60 % protéines	comparable à celui de la membrane cytoplasmique
membrane interne	20 % lipides 80 % protéines	trés riche en ATP synthétases trés riche en transporteurs des électrons et des protons
matrice	pas de glucose présence de pyruvate et d'ATP	déshydrogénases et décarboxylases NAD ⁺ ; FAD

La membrane externe est comparable à la membrane cytoplasmique , elle assure les échanges entre la mitochondrie et le cytosol .

La membrane interne est très riche en protéine surtout des ATP synthases qui catalyse la réaction de synthèse d'ATP , molécule de stockage d'énergie :



ATP = adénosine triphosphate

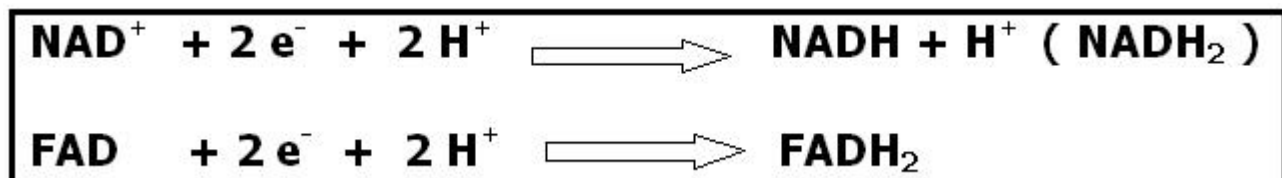
ADP = adénosine di phosphate

Pi = phosphore inorganique

La membrane interne est riche en transporteurs d'électrons et de protons , organisés par groupes de 4 composés CI , CII , CIII et CIV, chaque groupe forme une chaîne respiratoire .

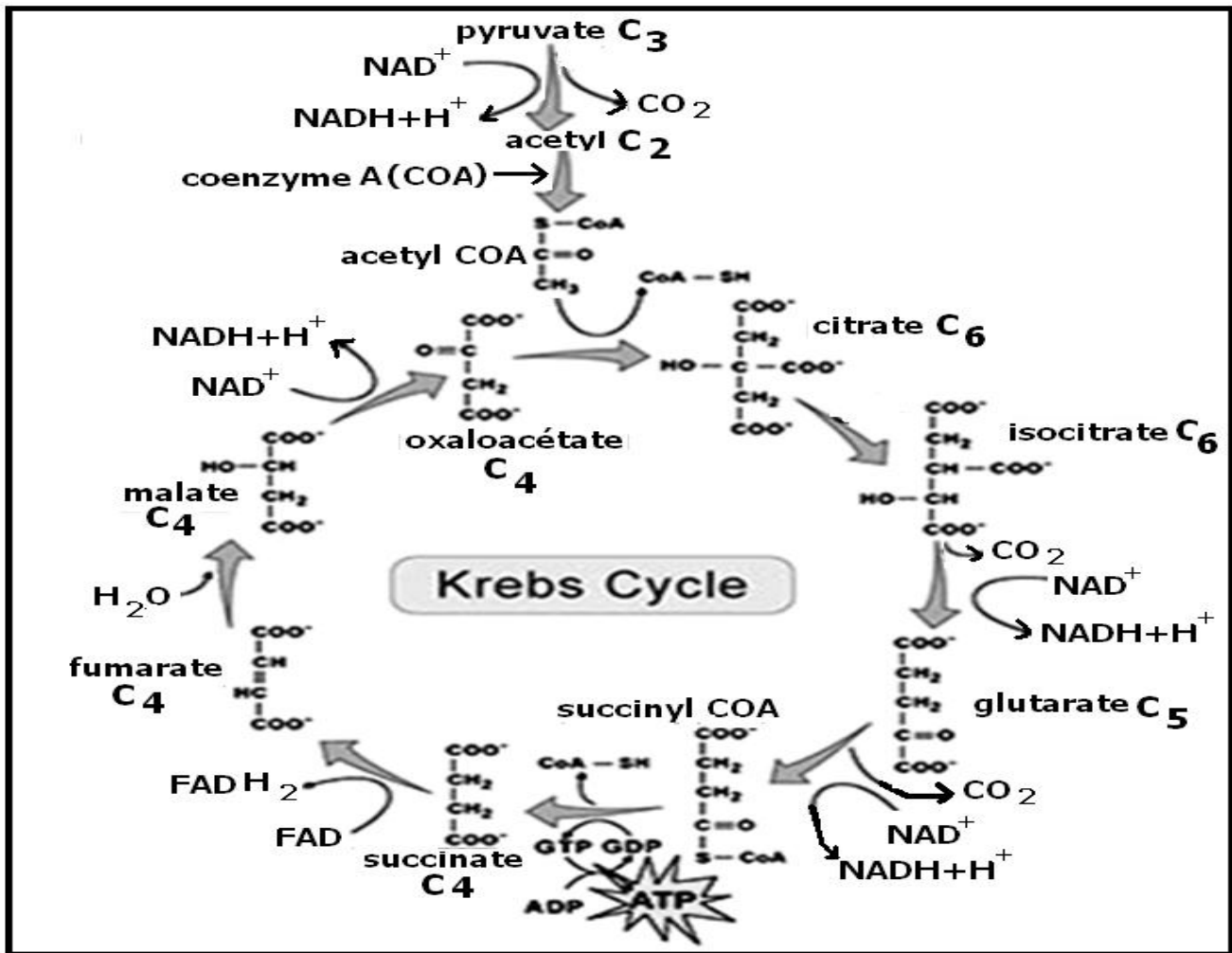
Dans la membrane interne on trouve donc des chaînes respiratoires et de sphérules pédonculées (CV) contenant des ATP synthétases .

La matrice reçoit l'acide pyruvique résultat de la glycolyse , et riche en décarboxylases enzymes qui arrachent le CO₂ des composés organiques et en déshydrogénases enzymes qui arrachent les électrons et les protons des composés organiques et réduisent les transporteurs libres matriciels des électrons et des protons NAD⁺ et FAD :

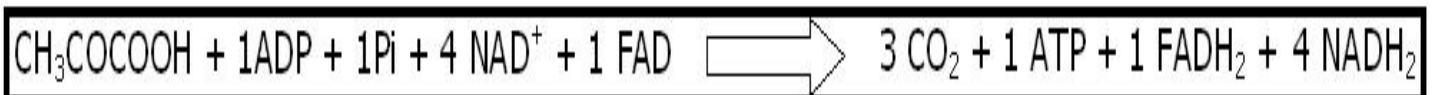


5-2- oxydation du pyruvate dans la matrice :

Dans la matrice mitochondriale le pyruvate est soumis à l'action des enzymes matricielles les décarboxylases et les déshydrogénases selon une chaîne de réaction formant le cycle de Krebs :



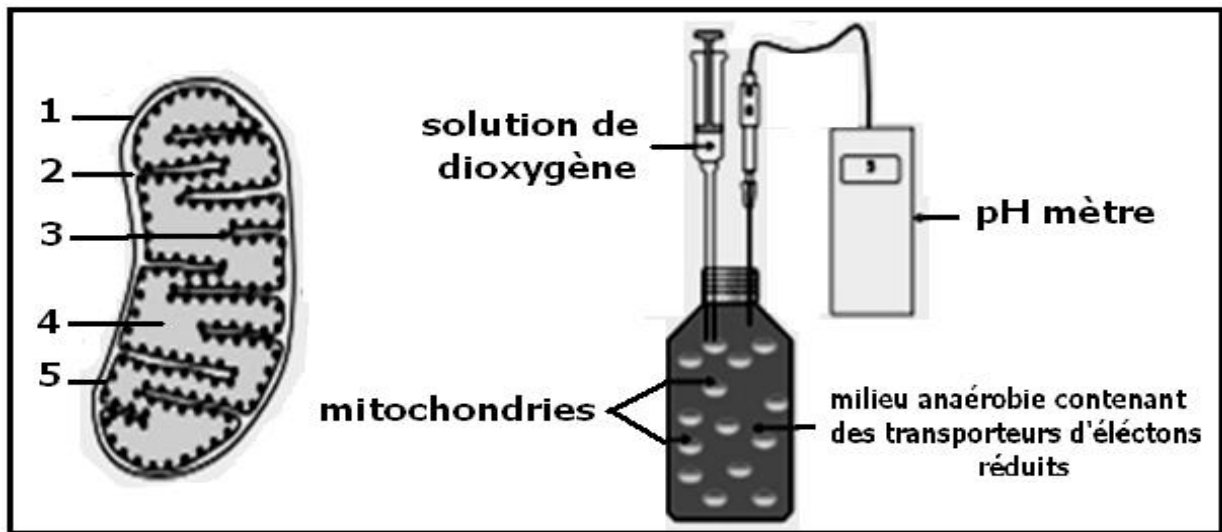
La matrice reçoit l'acide pyruvique à C₃ et produit 3 CO₂ qui sortent de la cellule vers le milieu extra cellulaire, 1 ATP et des transporteurs d'électrons et de protons réduits qui restent dans la matrice ; la réaction globale de l'oxydation d'un acide pyruvique dans la matrice est :



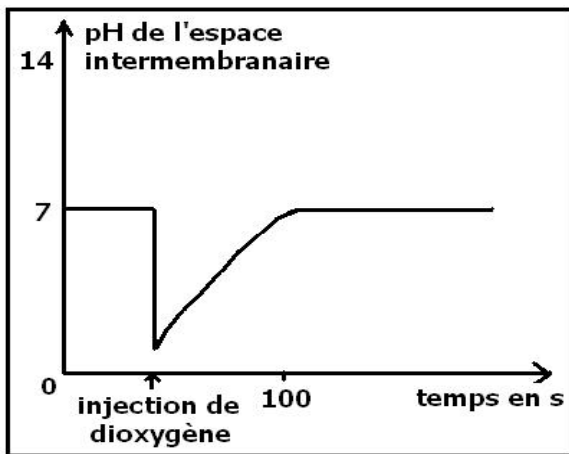
5-3- rôle de la membrane interne :

a- Mise en évidence : exercice

Le document suivant est un schéma de l'ultra structure de la mitochondrie et du montage expérimental permettant d'ajouter du dioxygène à une suspension de mitochondrie contenant NADH₂ et FADH₂, et de mesurer les variations du pH dans la suspension en fonction du temps :

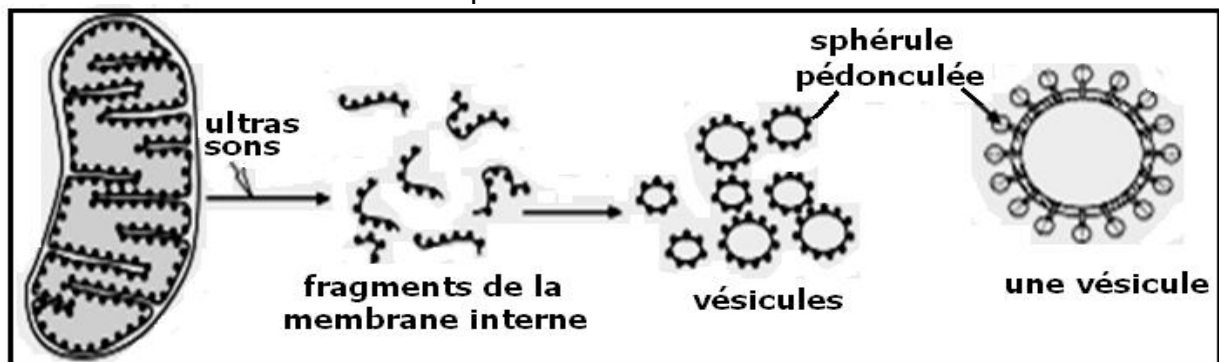


- 1- Nommer les éléments de 1 à 5 ?
- 2- La poursuite de l'évolution du pH de la suspension permet d'obtenir le résultat suivant :

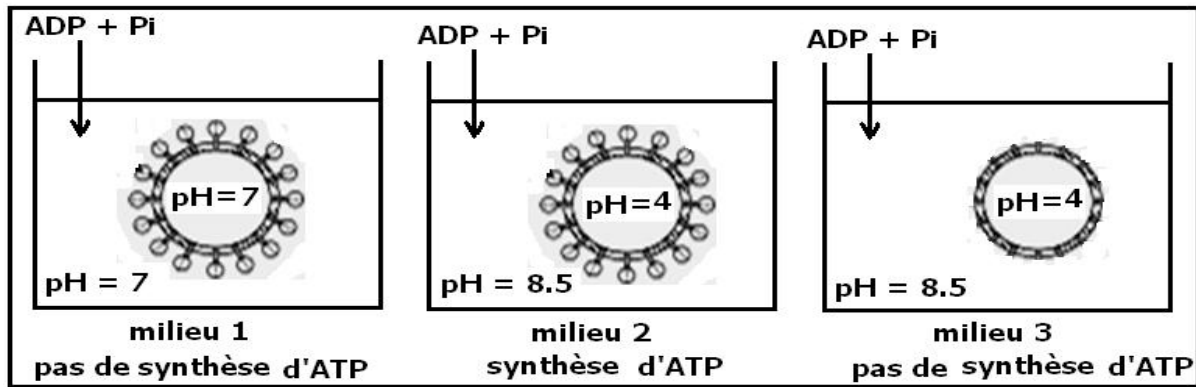


Sachant que la membrane externe de la mitochondrie est perméable aux proton H^+ , expliquer les variations de pH enregistrées ?

Pour déterminer le rôle de cette variation de pH, on soumit des mitochondries à des ultrasons, les mitochondries se fragmentent, et les fragments de la membrane interne se referment spontanément donnant des vésicules



Les vésicules obtenues sont utilisées dans les expériences suivantes :



3- Interpréter les résultats obtenus ?

4- Déduire les rôles de la membrane interne de la mitochondrie ?

b- Conclusion : la phosphorylation oxydative :

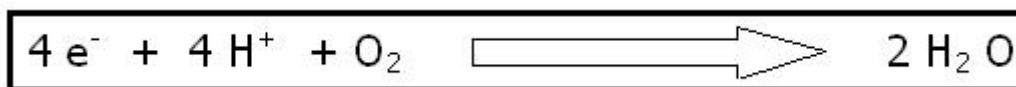
La membrane interne est composé de deux constituants :

- Les complexes transporteurs d'électrons et de protons organisés sous formes de chaines respiratoires , au début des chaines respiratoires les transporteurs d'électrons et de protons libres NADH_2 et FADH_2 produit lors de la glycolyse et de l'oxydation matricielle du pyruvate subissent l'oxydation et transmettent les électrons et les protons à la chaine respiratoire , selon les réactions suivantes



NADH_2 et FADH_2 sont qualifiées de donneurs d'électrons .

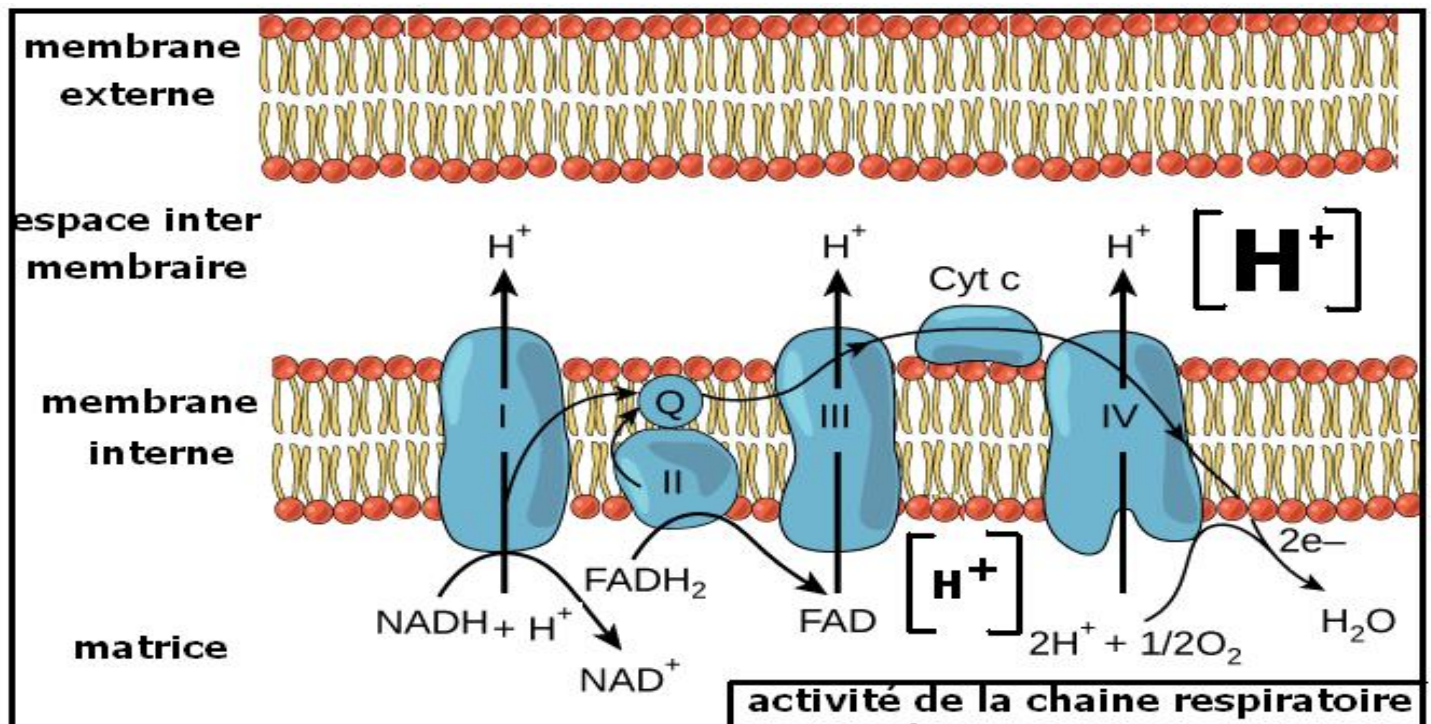
Les électrons se déplacent spontanément en libérant de l'énergie vers le complexe CIV de la chaine respiratoire , à ce niveau on assiste à un réduction du dioxygène en eau , le dioxygène est qualifié de récepteur final des électrons :



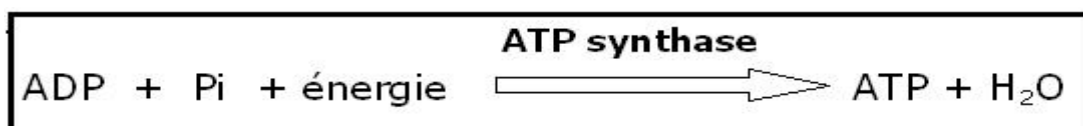
Le transport des électrons des donneurs vers le récepteur final , s'accompagne d'un transport de protons de la matrice vers l'espace inter membranaire , où s'accumulent les protons H^+ et abaissent le pH , car la membrane interne mitochondriale est imperméable aux protons

L'activité de la chaine respiratoire et provoque une différence de concentration de H^+ entre la matrice qui se trouve à faible concentration en H^+ , et l'espace inter membranaire qui se trouve à grande concentration en H^+ . cette différence de concentration de H^+ à travers la membrane interne imperméable à H^+ est appelée

gradient de H^+ , ce gradient stocke une partie de l'énergie libérée par le transport des électrons .sous formes d'énergie chimique .



- Les sphérules pédonculées contenant les enzymes ATP synthases exploitent l'énergie chimique emmagasinée dans le gradient de H^+ , elles transportent H^+ de l'espace inter membranaire vers la matrice et stockent l'énergie chimique du gradient dans la phosphorylation de l'ADP en ATP selon la réaction suivante :

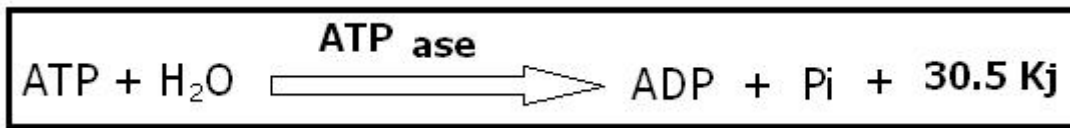


L'ATP syn(thé)tase

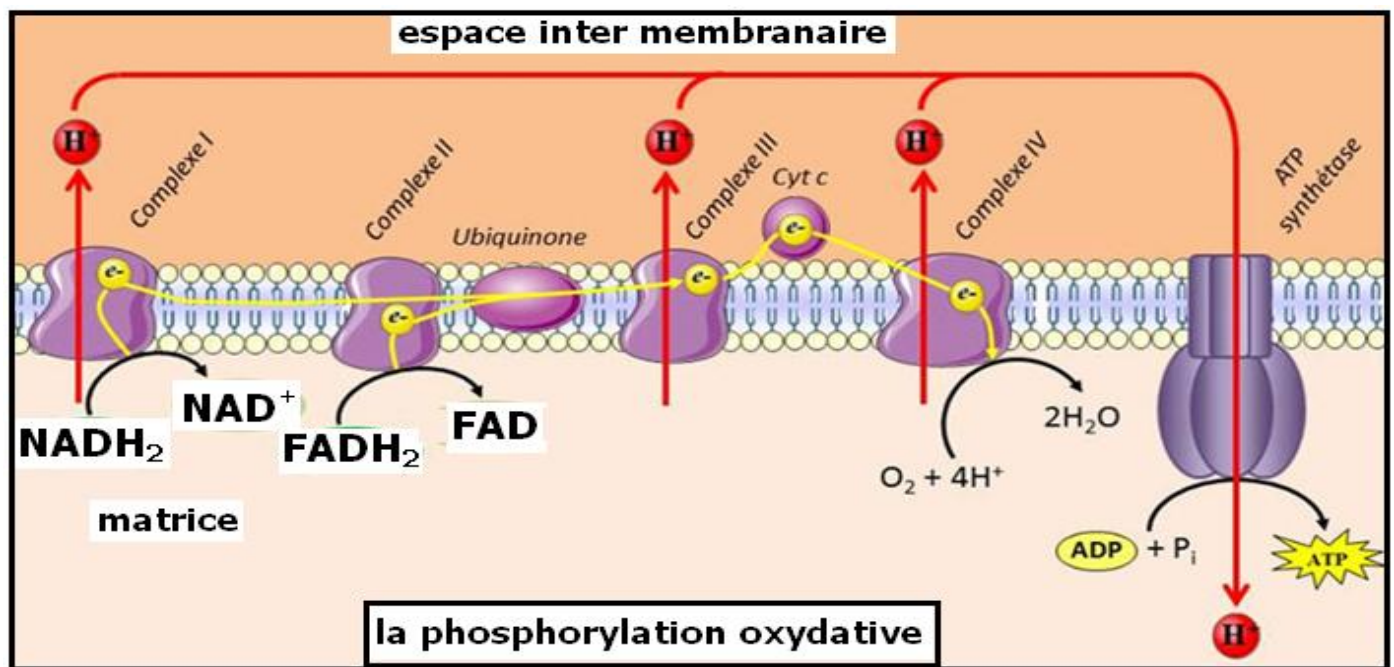
- Convertit $ADP + P_i \rightarrow ATP$
- 90% de la production totale d'ATP par la \dot{c}
- Alimentée par la **force protonmotrice** des H^+ , qui diffusent selon leur gradient de concentration
- **Chimiosmose*** : du gradient de H^+ à un travail cellulaire (ici, la production d'ATP)

(* Peter Mitchell, 1961 ; Nobel de chimie 1978)

L'ATP est la source de l'énergie utilisée dans toutes les activités cellulaires , pour l'utiliser la cellule hydrolyse l'ATP par une enzyme l'ATP ase :



La membrane interne est le lieu de production d'énergie par phosphorylation de l'ADP et le lieu de l'oxydation de NADH_2 et de FADH_2 en parallèle avec la réduction du dioxygène en eau , l'ensemble de ces activités constitue la phosphorylation oxydative .



L'oxydation d'une NADH_2 permet la synthèse de 3 ATP , alors que l'oxydation d'une FADH_2 permet la synthèse de 2 ATP seulement .

6- bilan énergétique de l'oxydation d'une mole de glucose :

Etapes de l'oxydation respiratoire du glucose	consommation	production
Glycolyse	- 2 ATP	+ 4 ATP + 2 NADH_2
Oxydation de 2 pyruvates		+ 2 ATP + 8 NADH_2 + 2 FADH_2
Bilan	4 ATP	+ 10 NADH_2 + 2 FADH_2
Phosphorylation oxydative		30 ATP + 4 ATP
Bilan énergétique :		38 ATP

L'oxydation respiratoire d'une mole de glucose fournit à la cellule 38 ATP .

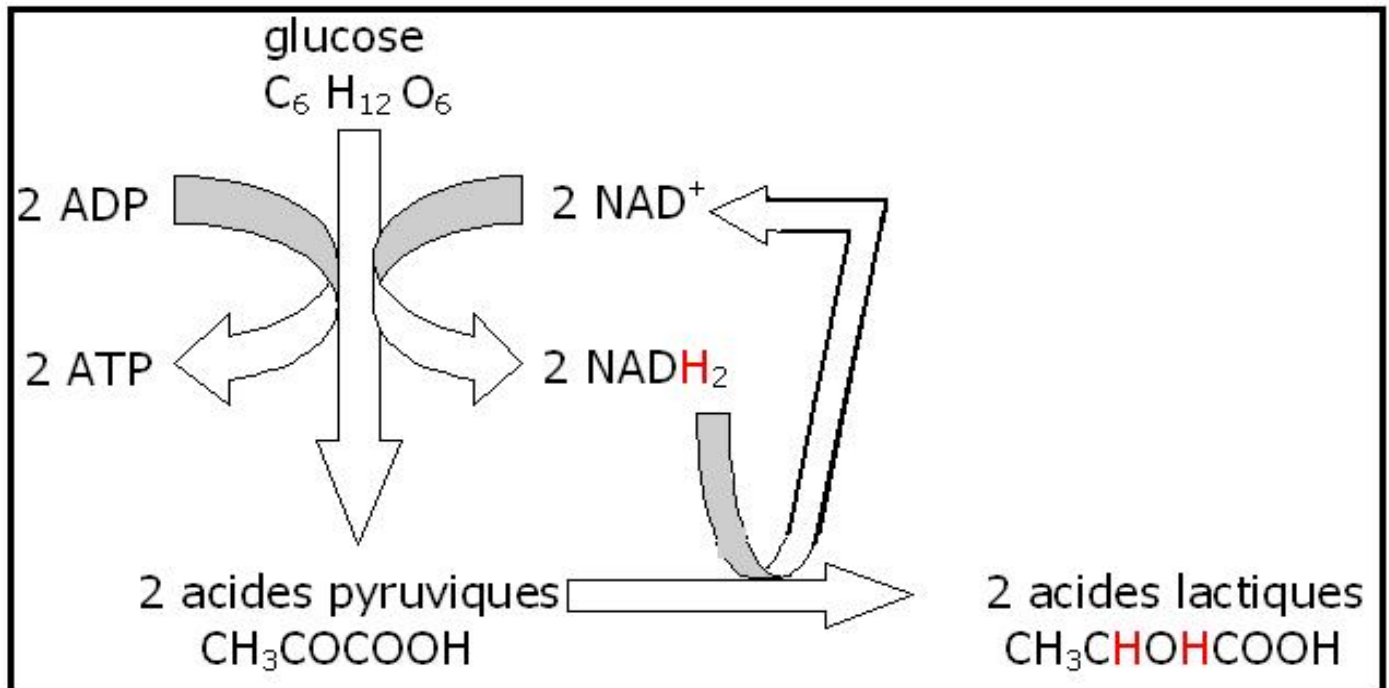
7- production d'énergie en anaérobie : la fermentation :

7-1- la fermentation lactique :

C'est le métabolisme énergétique principale des bactéries lactiques , et l'un des métabolismes énergétiques de la cellule musculaire.

La fermentation lactique a lieu dans le cytosol en deux étapes :

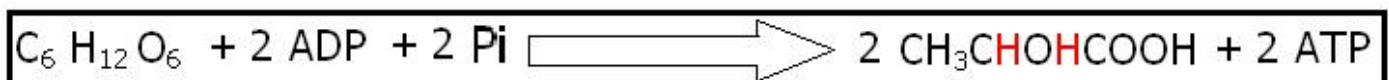
- La glycolyse qui produit le pyruvate
- La réduction du pyruvate en lactate



Le pyruvate joue le rôle de récepteur finale des électrons et des protons et se réduit en lactate .

Le lactate est un résidu organique inutilisable par la bactérie lactique et par la cellule musculaire , il est rejeté dans le milieu extra cellulaire .et les cellules ne dispose de cette fermentation que de 2 ATP .

La réaction globale de la fermentation lactique est :



7-2- la fermentation alcoolique :

C'est le métabolisme énergétique des levures en anaérobie

a- Mise en évidence :

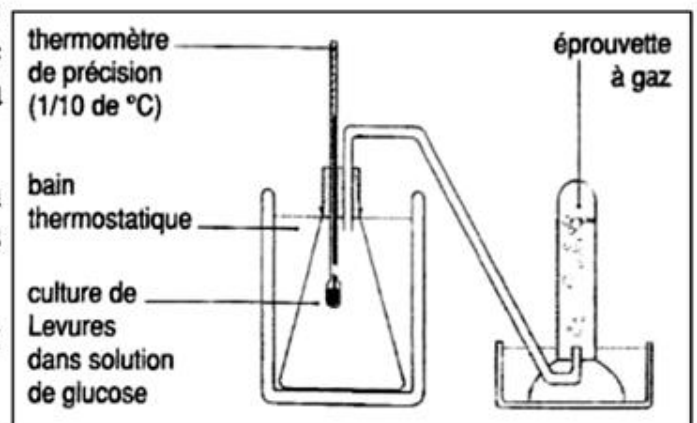
Des levures mises en culture dans un milieu glucosé. Le flacon, complètement rempli, est bouché et le tube à dégagement ne permet pas un renouvellement en dioxygène à partir de l'air ambiant (montage ci-dessous). Très rapidement, le dioxygène présent initialement est épuisé et on constate les modifications suivantes par comparaison avec un montage témoin (solution de glucose stérile):

↳ L'analyse de milieu de culture à l'aide de bandelettes utilisées pour mesurer la glycémie montre une disparition progressive du glucose.

↳ L'alcootest du milieu de culture montre un résultat positif (présence d'éthanol), alors qu'il est négatif au début de l'expérience.

↳ Le gaz recueilli dans le tube à dégagement trouble l'eau de chaux

↳ Légère élévation de la température dans le flacon



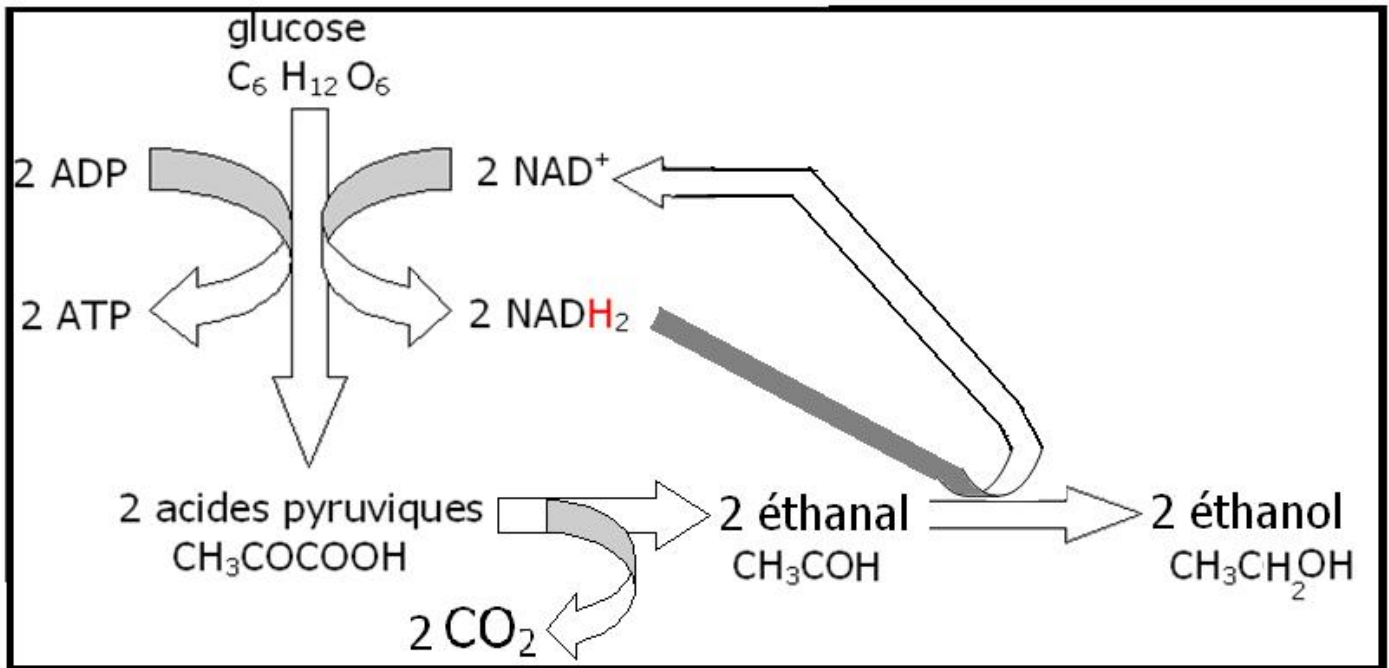
que peut on déduire de ces résultats ?

La levure consomme le glucose et un alcool l'éthanol et du CO₂ et de l'énergie : c'est la fermentation alcoolique

b- Conclusion :

La fermentation alcoolique a lieu dans le cytosol en trois étapes :

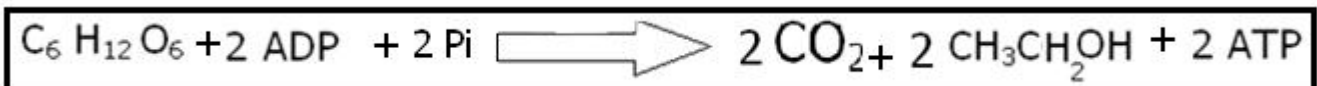
- La glycolyse qui produit le pyruvate
- Décarboxylation du pyruvate en éthanal et production de CO₂
- Réduction de l'éthanal en éthanol



Le pyruvate donne le récepteur finale des électrons et des protons qui se réduit en éthanol .

L' éthanol est un résidu organique inutilisable par la levure il est rejeté dans le milieu extra cellulaire .et les cellules ne dispose de cette fermentation que de 2 ATP

La réaction globale de la fermentation alcoolique est :



8- comparaison de l'oxydation respiratoire et de la fermentation :

a- Au niveau des étapes :

l'oxydation respiratoire nécessite l'aérobie et se passe en 3 étapes principales et dans 3 niveaux différents :

- La glycolyse au niveau du cytosol
- L'oxydation du pyruvate dans la matrice mitochondriale
- Phosphorylation oxydative au niveau de la membrane interne mitochondriale

Alors que la fermentation se passe avec toutes ses étapes dans le cytosol sans nécessité de dioxygène .

b- Au niveau du bilan énergétique :

l'oxydation respiratoire consomme le glucose et le dioxygène et produit du dioxyde de carbone, de l'eau et 38 ATP ; le dioxyde de carbone et l'eau sont des composés minéraux qui ne contiennent pas de l'énergie, l'oxydation respiratoire est donc une oxydation complète du glucose d'où grande production d'ATP

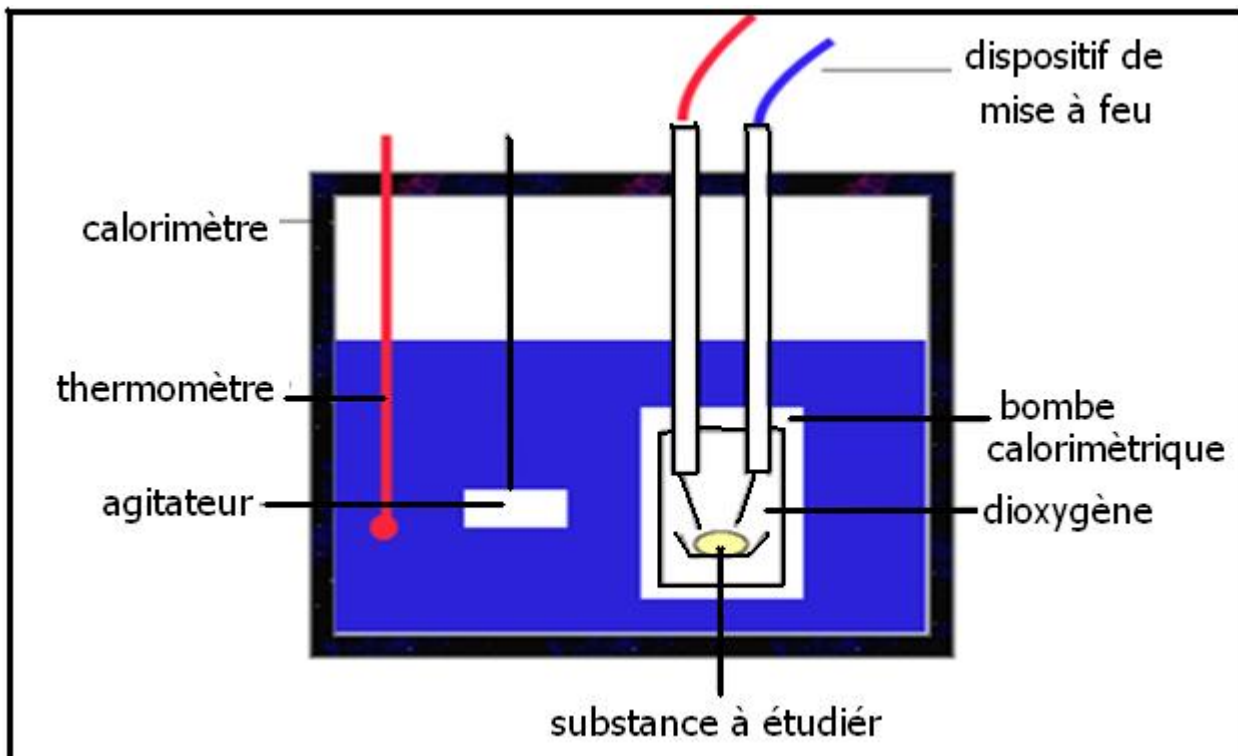
la réaction globale de l'oxydation respiratoire est :



Alors que la fermentation consomme le glucose en anaérobie et produit un résidu organique riche en énergie et 2 ATP seulement ; la fermentation est une oxydation incomplète du glucose d'où bilan énergétique très faible

c- Au niveau du rendement énergétique :

Le glucose est métabolite énergétique, pour extraire et mesurer toute son énergie, on le soumet à une oxydation chimique dans une bombe calorimétrique :



L'oxydation chimique complète d'une molécule de glucose libère 2860 KJ

L'ATP est la source d'énergie utilisée par la cellule dans toutes ses activités ; pour en extraire la cellule hydrolyse l'ATP par une enzyme appelée ATPase, selon la réaction suivante :



Ainsi, chaque molécule d'ATP stocke 30.5 KJ

L'oxydation respiratoire produit à partir d'un glucose 38 ATP :

$$\text{Rendement énergétique de la respiration} = \frac{38 \times 30.5}{2860} \times 100 = 40\%$$

40% seulement de l'énergie du glucose est utilisée par les activités cellulaires, 60% est dissipée dans le milieu sous forme d'énergie calorifique qui réchauffe le corps et le milieu.

La fermentation d'un glucose produit 2 ATP :

$$\text{Rendement énergétique de la fermentation} = \frac{2 \times 30.5}{2860} \times 100 = 2\%$$

2% seulement de l'énergie du glucose est utilisée par les activités cellulaires, la plus grande partie de l'énergie du glucose reste dans le résidu organique de la fermentation, une seconde partie est dissipée dans le milieu comme énergie calorifique.