

TP n° 18 : La respiration cellulaire

La respiration est une fonction complexe qui procure aux cellules l'énergie dont elles ont besoin par oxydation d'un métabolite organique tel le glucose.

- Objectif de connaissance :
 - On cherche à savoir quelles sont les modalités de la respiration cellulaire et quelles sont les structures cellulaires impliquées.
- Objectifs méthodologiques :
 - Réaliser une manipulation d'après un protocole
 - Appliquer une démarche explicative
- Travail à réaliser :

Partie 1 : Mise en évidence de la respiration cellulaire

- Utilisez les résultats de l'expérience pour mettre en évidence les échanges gazeux caractéristiques de la respiration et montrez qu'il existe une relation entre ces échanges et la mise à disposition d'un métabolite organique (comme le glucose).

Partie 2 : L'organite de la respiration

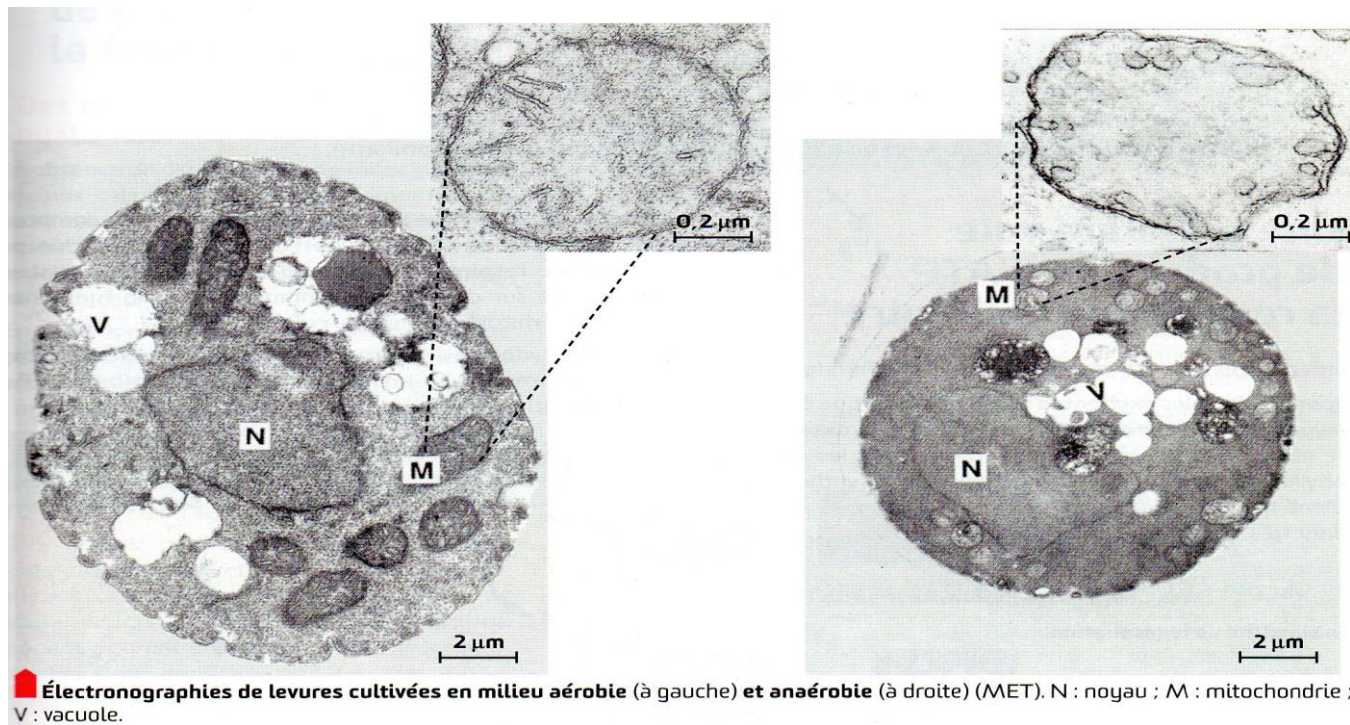
- Exploitez le document 2 afin de formuler une hypothèse sur la localisation cellulaire de la respiration.
- Eprouvez votre hypothèse grâce au document 3.
- Montrez l'existence d'une dégradation préalable des glucides dans le hyaloplasme lors de la respiration.
- Présentez les réactions chimiques qui se déroulent dans la mitochondrie, en précisant à chaque fois leur localisation.

Productions attendues	Critères de réussites
Réalisation de la manipulation.	Utilisation maîtrisée du matériel et des produits. Respect des conditions de mesures. Organisation de la paillasse et rangement du matériel en fin de manipulation.
Résultats de la manipulation sous forme graphique.	Enregistrement exploitable avec échelles adaptées pour les axes. Graphiques correctement légendé et titré.
Paragraphe argumenté	Exploitation des résultats expérimentaux afin de répondre au problème.
Hypothèse sur la localisation cellulaire de la respiration.	Comparaison des électrographies de cellules en aérobiose et anaérobiose.
Validation ou réfutation de votre hypothèse.	Exploitation du document 3 afin d'éprouver l'hypothèse.
Paragraphe argumentée.	Exploitation des documents 4 et 5 afin de répondre au problème.
Présentation des réactions chimiques se déroulant dans la mitochondrie et leur localisation.	Exploitation du document 6.

Document 1 : Mise en évidence de la respiration cellulaire

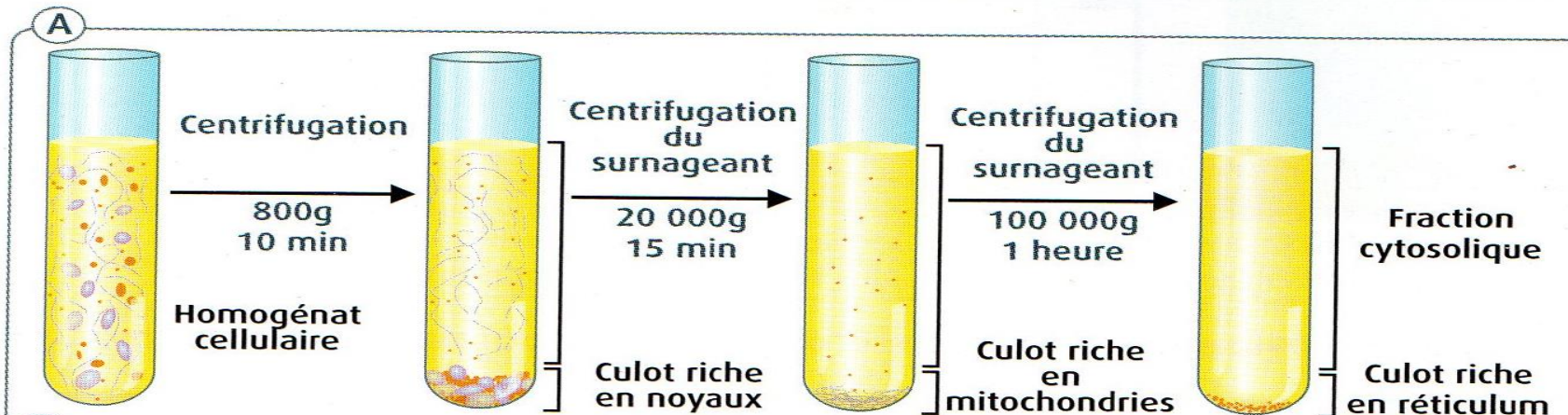
- ✓ Proposez une stratégie permettant de mettre en évidence les échanges gazeux caractéristiques de la respiration et montrez qu'il existe une relation entre ces échanges et la mise à disposition d'un métabolite organique (comme le glucose).
- ✓ Réalisez la manipulation

Document 2 : Electronographies de cellules de levures en aérobiose et anaérobiose



Document 3 : La localisation cellulaire de la respiration

Des levures sont lysées et les différents compartiments cellulaires sont séparés in vitro par plusieurs étapes de centrifugation (A). Les échanges gazeux sont mesurés en aérobiose, en absence ou en présence de glucose ou d'acide pyruvique, sur les différentes fractions obtenues. Les résultats sont présentés dans le tableau (B).

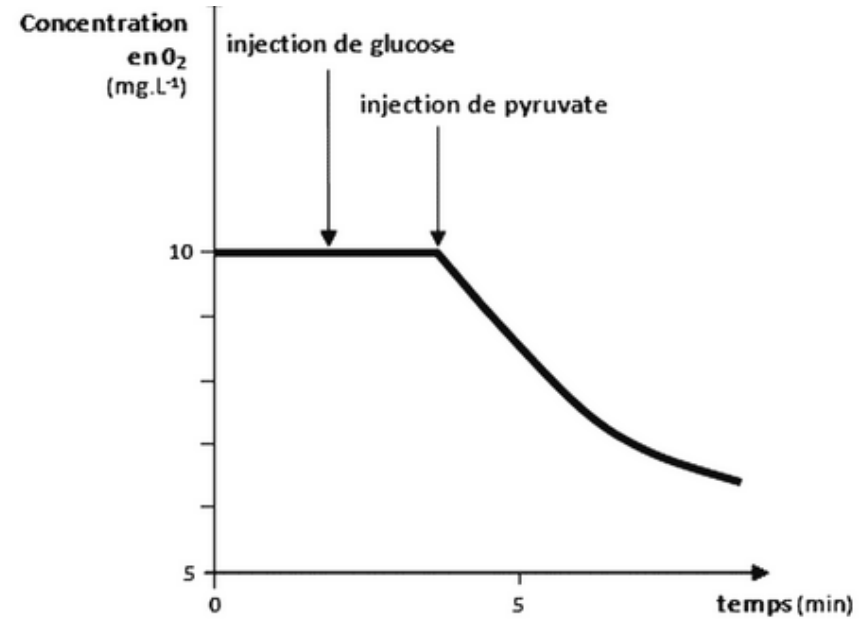


Composé organique	Fraction noyaux	Fraction cytosol	Fraction mitochondries	Fraction réticulum
Aucun	-	-	-	-
Glucose	-	CO ₂ ↑	-	-
Acide pyruvique	-	-	CO ₂ ↑ et O ₂ ↓	-
-: pas d'échange gazeux ↑: dégagement ↓: consommation				

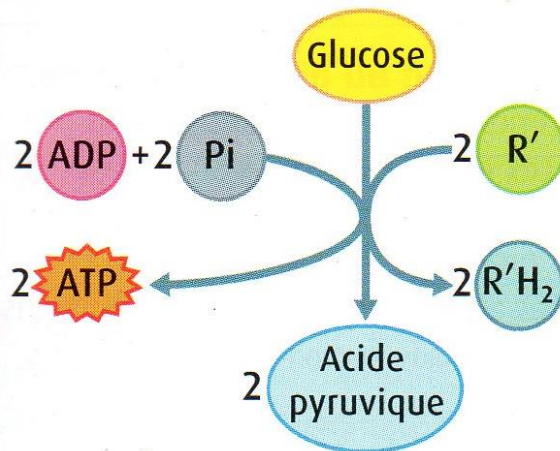
Document 4 : La respiration des mitochondries isolées

A partir d'un broyat de cellules, on a isolé un culot de mitochondries. Ces dernières sont placées dans un milieu bien oxygéné et contenant de l'ADP + Pi.

On suit au cours du temps la concentration en O₂ du milieu dans différentes conditions expérimentales.



Document 5 : Bilan chimique de la glycolyse



L'oxydation d'une molécule de glucose lors de la glycolyse produit 2 molécules d'acide pyruvique. Elle est couplée à la réduction de 2 composés R' en R'H₂ (chimiquement proches de R et RH₂ qui interviennent dans la photosynthèse, _____) et à la phosphorylation de 2 molécules d'ADP.

Document 6 : Les réactions au sein de la mitochondrie

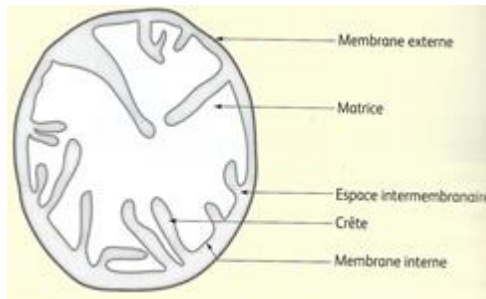


Schéma de l'organisation d'une mitochondrie

- ▶ Certains traitements permettent d'isoler les différentes fractions de la mitochondrie. Ces dernières sont placées en présence de pyruvate et/ou d' O_2 et la présence de CO_2 est recherchée.
- ▶ Certains composés absorbent différemment les longueurs d'onde selon qu'ils sont à l'état oxydé ou réduit.
- ▶ Ainsi, $R'H_2$ absorbe les longueurs d'onde à 350 nm alors que R' ne les absorbe pas.
- ▶ La **réduction** de composés R' en $R'H_2$ est recherchée en incubant différentes substances impliquées dans la respiration et en suivant l'absorbance à 350 nm.
- ▶ L'**oxydation** du pyruvate en CO_2 est due à un ensemble de réactions d'oxydoréduction formant une suite cyclique de réactions appelées **cycle de Krebs**.

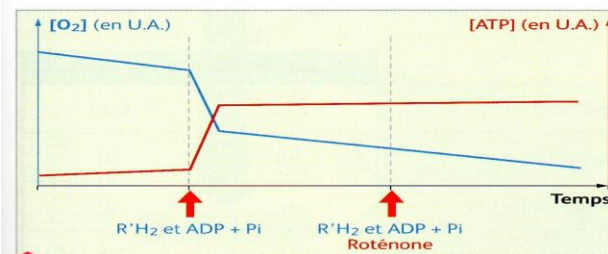
Mesures de l'absorbance à 350 nm de différentes solutions.

Structure étudiée	Ajout de pyruvate	Ajout de pyruvate et de dioxygène
Membrane externe	Pas de CO_2 produit	Pas de CO_2 produit
Membrane interne	Pas de CO_2 produit	Pas de CO_2 produit
Matrice	Dégagement de CO_2	Dégagement de CO_2

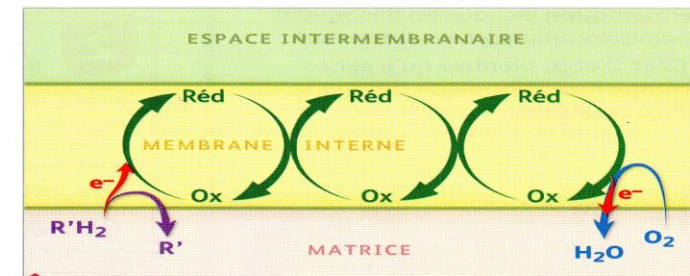
a Étude du dégagement de CO_2 par les différentes fractions mitochondriales.

Solutions testées	Absorbance à 350 nm
Composé oxydé R'	0
Composé réduit $R'H_2$	0,35
Protéines de la matrice + R'	0
Protéines de la matrice + glucose + R'	0
Protéines de la matrice + pyruvate + R'	0,25

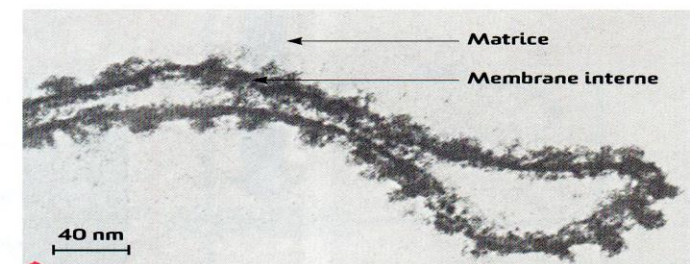
- ▶ La membrane interne des mitochondries contient des complexes d'oxydoréduction formant une **chaîne respiratoire**.
- ▶ Des suspensions de mitochondries sont placées avec des composés réduits $R'H_2$ et en présence ou non de roténone, un inhibiteur des complexes d'oxydoréduction. La production d'ATP et la consommation d' O_2 sont suivies au cours de l'expérience.
- ▶ Le dioxygène est un composé qui peut être réduit en H_2O .
- ▶ Une observation microscopique de la membrane interne des mitochondries permet de localiser les enzymes de synthèse de l'ATP, les ATP synthases.



b Variation des concentrations d' O_2 et d'ATP avant et après ajout de roténone.



a Les réactions d'oxydoréduction au sein de la chaîne respiratoire.



c Localisation des ATP synthases (MET).