

1

UNITÉ

Le métabolisme du glucose

Les cellules eucaryotes consomment de la matière organique dont elles tirent de l'énergie. Le glucose, en particulier, est un substrat énergétique métabolisable par toutes les cellules.

❖ **Quelles transformations subit la matière organique utilisée ? Comment son énergie chimique est-elle utilisée ?**

Devenir du glucose en aérobiose et en anaérobiose

TP

Culture n°	1	2	3	4	5
Suspension de levures sans réserves (10 g.L ⁻¹)	0 mL	10 mL	10 mL	10 mL	10 mL
Eau distillée	100 mL	90 mL	90 mL	90 mL	90 mL
Oxygénation*	Oui	Non	Non	Oui	Oui
Glucose (10 g.L ⁻¹) ajouté au temps t ₀	5 mL	0 mL	5 mL	0 mL	5 mL

* Les conditions d'oxygénation sont contrôlées par à une sonde à dioxygène. L'apport de dioxygène est réalisé grâce à un bulleur, récipient de culture ouvert. L'absence de dioxygène est assurée par l'usage d'eau distillée préalablement bouillie, récipient de culture fermé par un bouchon.

Résultats des glucotests

Culture n°	1	2	3	4	5
Références					
NEGATIF					
CLAIR					
MOYEN					
FONCE					
Glucotest (après 1h de culture)	+++	-	++	-	+

WY

JE MANIPULE

- Obtenir des levures sans réserves intracellulaires: diluer 10 g de levures fraîches dans 1 L d'eau distillée et mettre en préculture bien oxygénée (bulleur) pendant environ 48 h.
- Préparer 5 erlenmeyers numérotés de 1 à 5 et incuber à 30°C sous agitation, pour une durée de 1 heure.
- Tester la présence de glucose à t₀ + 1 h à l'aide de bandelettes glucotest, sur un échantillon de chacun des 5 erlenmeyers.

Une comparaison par spectrophotométrie de la densité optique des cultures avant et après incubation montre que les levures se sont davantage multipliées dans la culture 5 que dans la culture 3, alors que l'effectif initial est conservé dans les cultures 2 et 4.

1 **Consommation de glucose et croissance d'une population de levures.** La levure de bière est un organisme unicellulaire non photosynthétique, facile à cultiver en laboratoire. On la qualifie d'aérobie facultative car elle peut survivre et se multiplier en présence de dioxygène (aérobiose) ou en son absence (anaérobiose).

Des levures sont cultivées en anaérobiose, en présence de glucose (A). Un dégagement gazeux est recueilli (B), qui trouble l'eau de chaux. Il s'agit donc de CO₂. On peut montrer qu'il y a également une production de CO₂ en aérobiose.





Le dosage du CO₂ libéré révèle un rapport de 6 molécules de CO₂ par molécule de glucose C₆H₁₂O₆ consommée en aérobiose et de seulement 2 molécules de CO₂ par molécule de glucose C₆H₁₂O₆ consommée en anaérobiose. La voie métabolique de dégradation complète du glucose en conditions aérobies est appelée **respiration**. La voie métabolique de dégradation incomplète du glucose en conditions anaérobies est appelée **fermentation**.

Des processus respiratoires et/ou fermentaires ont lieu, plus généralement, dans toutes les cellules eucaryotes. Dans les cellules chlorophylliennes, ils ne sont facilement détectables qu'à l'obscurité car à la lumière, ils sont masqués par les échanges gazeux photosynthétiques.



2 **Dégagement de CO₂ par des cultures de levures en anaérobiose et en aérobiose.**

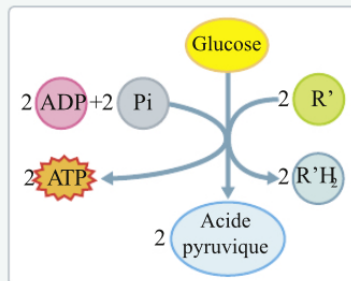
La glycolyse, première étape de dégradation du glucose

Expérience	Tube 1	Tube 2	Tube 3	Tube 4
Cubes de navets	Navet non ébouillanté	Navet non ébouillanté	Navet ébouillanté	Navet ébouillanté
Glucose (2,5 g)	Pas de glucose	Glucose	Pas de glucose	Glucose
Résultats				
Couleur du bleu de méthylène	Décoloration	Décoloration plus rapide	Pas de décoloration	Pas de décoloration

3 Mise en évidence d'une voie d'oxydation cytoplasmique du glucose.

HISTOIRE DES SCIENCES

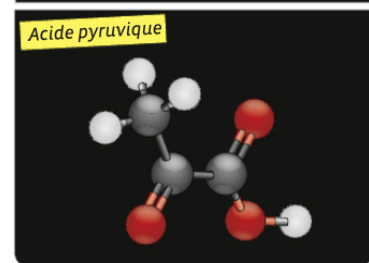
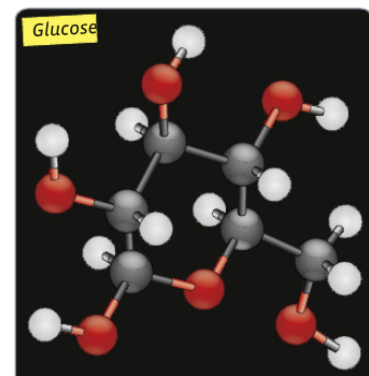
La glycolyse est une voie cytoplasmique d'oxydation du glucose commune à la respiration et à la fermentation. Elle a été élucidée après plus de 40 ans de recherches. Le chimiste Eduard Buchner, qui étudiait la fermentation, constata que «la complexité de la levure n'est pas indispensable à ce processus». Il émit l'hypothèse que «le ferment actif n'est qu'une substance dissoute, sans doute une protéine» qu'il baptisa la «zymase». La «zymase» s'est révélée être un mélange de protéines ayant une activité catalytique, ou enzymes. Il fut montré en 1905 que les extraits acellulaires permettant la glycolyse doivent également contenir du phosphate inorganique, de l'ATP, de l'ADP et un oxydant R'. Otto Meyerhof contribua finalement à élucider les 9 étapes de la glycolyse.



4 Le bilan chimique de la glycolyse.

JE MANIPULE

- ▶ Préparer 4 tubes à essais contenant chacun 10 mL d'eau distillée.
- ▶ Découper des cubes de navet de 2 mm de côté et en déposer rapidement 10 dans chaque tube à essais. La découpe permet de libérer dans l'eau des molécules cytoplasmiques solubles.
- ▶ Plonger les tubes 3 et 4 dans l'eau bouillante pendant 5 minutes pour dénaturer les protéines.
- ▶ Ajouter du glucose dans les tubes 2 et 4.
- ▶ Filtrer puis ajouter dans chaque tube du bleu de méthylène pour obtenir une coloration bleue très pâle. Le bleu de méthylène est un indicateur d'oxydoréduction : à l'état oxydé il est bleu, tandis qu'à l'état réduit il est incolore.



5 La molécule de glucose et la molécule d'acide pyruvique.



ACTIVITÉS

- DOC. 1.** Établissez des conditions suffisantes à une multiplication rapide des levures.
- DOC. 2.** Expliquez pourquoi la respiration est qualifiée de dégradation complète du glucose, contrairement à la fermentation.
- DOC. 3 ET 4.** Interprétez les résultats de l'expérience (doc. 3) au vu des données sur le bilan chimique de la glycolyse (doc. 4).

- DOC. 5.** Décrivez et comparez les molécules de glucose et d'acide pyruvique. Précisez s'il s'agit de molécules organiques ou minérales, et calculez le nombre d'oxydation moyen du carbone dans chacune de ces deux molécules (définition du nombre d'oxydation page 15).
- EN CONCLUSION.** Proposez une schématisation des grandes étapes de la dégradation cellulaire du glucose.

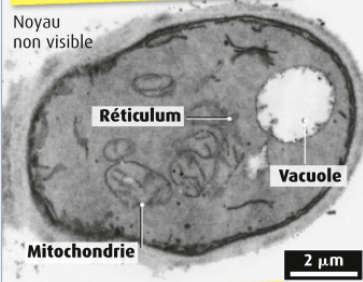
La respiration cellulaire

En aérobiose, les cellules eucaryotes réalisent la respiration cellulaire, oxydation complète de molécules organiques comme le glucose.

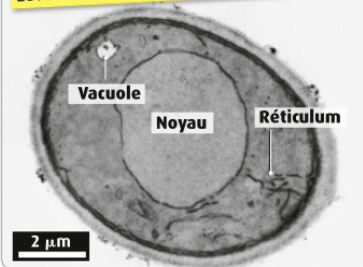
❖ Quelles sont les modalités de la respiration cellulaire et quelles sont les structures cellulaires impliquées ?

La localisation cellulaire de la respiration

Levure cultivée en présence d'O₂

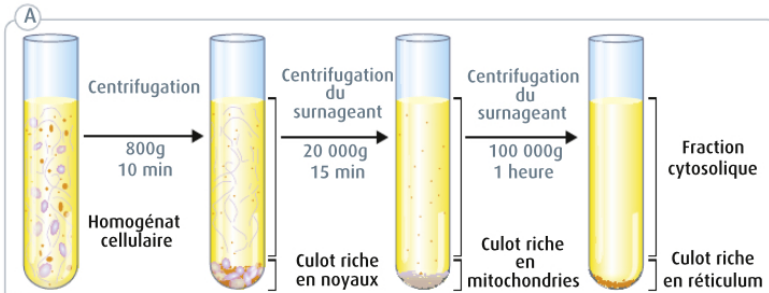


Levure cultivée en absence d'O₂



1 Organisation de levures cultivées en aérobiose ou en anaérobiose (MET x 10 000).

Comme toutes les cellules eucaryotes, une cellule de levure contient différents types de compartiments délimités par une membrane. On compare le développement des compartiments pour des levures d'une même souche cultivées en présence ou en absence de dioxygène.



(B) Tableau des échanges gazeux :

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

(C) Tableau de la présence des composés organiques :

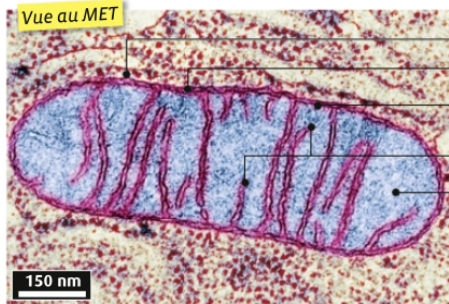
Composé organique	Fraction noyaux	Fraction cytosol	Fraction mitochondries	Fraction réticulum
Glucose	++	+	++	++
Acide pyruvique	0	+	0	0

0 : absence + / ++ : présence en faible / forte quantité

2 Une expérience pour localiser la respiration au niveau cellulaire.

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). Les taux de glucose et d'acide pyruvique sont mesurés au bout de 12h dans les fractions incubées dans un milieu initialement glucosé et sans acide pyruvique. Les résultats sont présentés dans le tableau (C).

Vue au MET



Membrane externe

Espace intermembranaire

Membrane interne

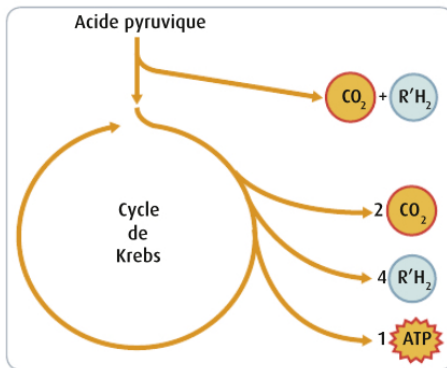
Crêtes

Matrice

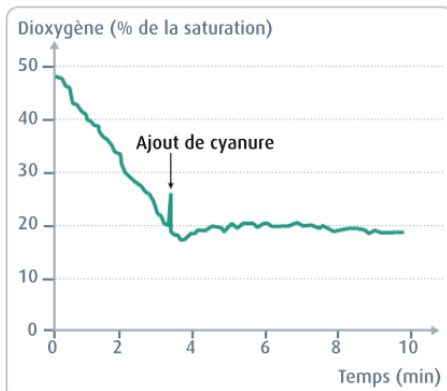
Mitochondrie

3 Organisation d'une mitochondrie.

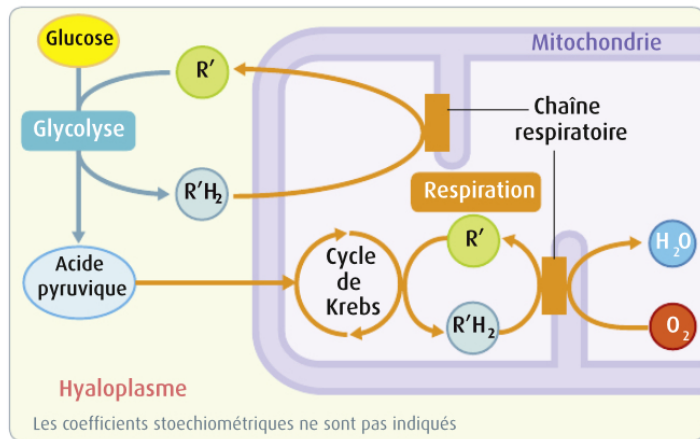
Les événements mitochondriaux de la respiration



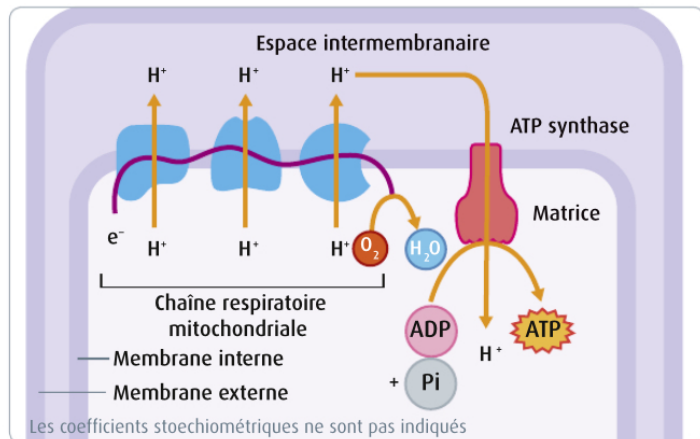
4 Le cycle de Krebs. Hans A. Krebs (prix Nobel en 1953) a montré que l'acide pyruvique issu de la glycolyse est oxydé totalement dans la matrice mitochondriale. Cette oxydation libère 3 molécules de CO_2 par acide pyruvique pris en charge. Elle est couplée à la formation de 5 composés réduits $\text{R}'\text{H}_2$ et d'une molécule d'ATP. Les réactions, cycliques, sont catalysées par des enzymes solubles ou faisant partie de la membrane interne de la mitochondrie.



6 La consommation d' O_2 . Le cyanure est un poison qui bloque le transfert des électrons au sein de la chaîne respiratoire. Son effet sur la consommation d' O_2 par des levures est analysé.



5 La régénération de l'oxydant R' . Les composés $\text{R}'\text{H}_2$ produits dans le cytoplasme (glycolyse) et la matrice (cycle de Krebs) sont oxydés en délivrant leurs électrons à des accepteurs situés dans la membrane interne des mitochondries, formant la chaîne respiratoire. Les R' sont ainsi régénérés.



7 La synthèse d'ATP. L'énergie du flux d'électrons dans la chaîne respiratoire permet d'expulser des protons dans l'espace intermembranaire. Ces protons rejoignent la matrice en actionnant une ATP-synthase similaire à celle de la membrane des thylacoïdes, ce qui permet la synthèse d'ATP à partir d'ADP et Pi . En plus des 2 ATP produits pendant la glycolyse, la respiration permet ainsi de produire 36 ATP par molécule de glucose.



ACTIVITÉS

- DOC. 1.** Comparez l'organisation de la levure en présence et en absence d' O_2 . Formulez une hypothèse sur la localisation cellulaire de la respiration.
- DOC. 2.** Identifiez les compartiments cellulaires impliqués dans la respiration cellulaire. Expliquez pourquoi l'acide pyruvique est nécessaire à la fraction mitochondriale pour la réalisation de la respiration.
- DOC. 3 À 6.** Récapitulez les étapes de l'oxydation du glucose produisant des composés réduits $\text{R}'\text{H}_2$, en

précisant leur localisation. Indiquez comment les oxydants R' sont régénérés.

4 DOC. 7. Calculez le rendement énergétique de la respiration sachant que l'oxydation complète du glucose libère $2840 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ utilisable, que le CO_2 ne contient plus d'énergie chimique utilisable et que la synthèse d'une mole d'ATP consomme environ $30 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

5 EN CONCLUSION. Établissez le bilan de la respiration à partir d'une molécule de glucose. Précisez le bilan en $\text{R}'\text{H}_2$ et en ATP.