

IFTAB II

EXERCICES DE BIOCHIMIE METABOLIQUE

1. METABOLISME OXYDATIF

- Des mitochondries de foie sont incubées dans un milieu contenant du pyruvate comme source de carbone. Il y a consommation d'oxygène. Préciser le métabolisme correspondant.
- Ces mitochondries de foie sont incubées dans un milieu contenant maintenant du malate à la place du pyruvate. On constate qu'il y a également consommation d'oxygène. Par contre si on remplace le malate par de l'oxalacétate, il n'y a plus de consommation d'oxygène.

Comment peut-on interpréter ce résultat ?

2. CYCLE DE KREBS + CHAINE RESPIRATOIRE

- Rappeler quel est le bilan global de la dégradation du pyruvate, effectuée par une suspension de mitochondrie oxygénées
- Si on alimente une suspension de mitochondries de foie par du malonate, on constate que ces organites ne respirent pas, bien que le malonate pénètre à l'intérieur des mitochondries. Que peut-on conclure ?
- On alimente alors la suspension, dans deux expériences successives, en malonate puis pyruvate, en malonate puis malate. Dans les deux cas les mitochondries respirent en formant du CO_2 et il y a accumulation de succinate.
- Que peut-on en déduire ?

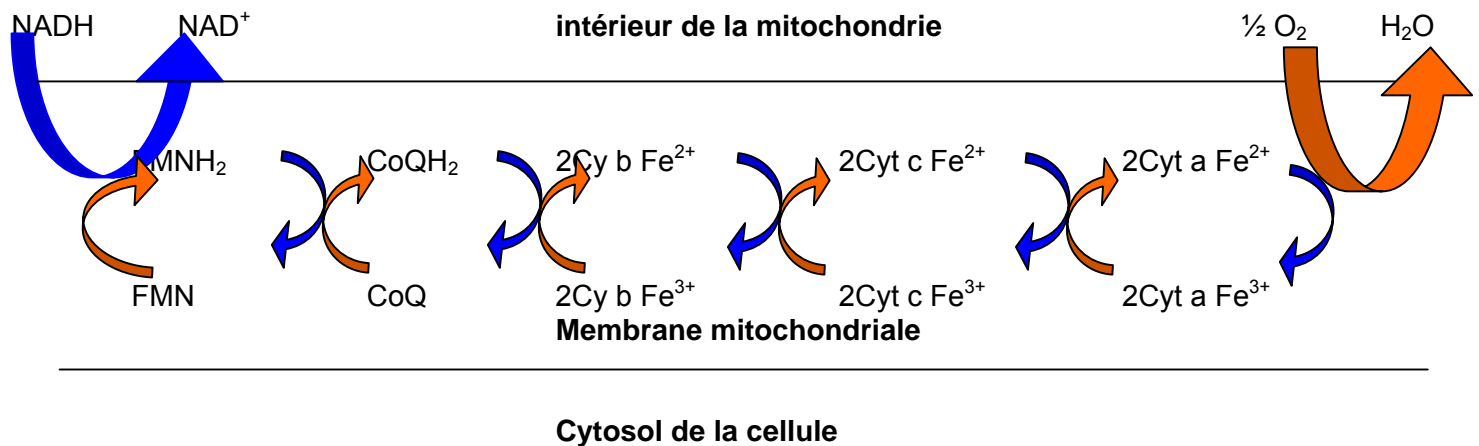
Donnée : Malonate $\text{OOC-CH}_2\text{-COO}^-$

3. CHAINE RESPIRATOIRE

On réalise l'expérience suivante : Une suspension de mitochondries isolées, dans un milieu désoxygéné est alimenté par du malate. On ajoute alors de antimycine puis on envoie de l'oxygène en excès. Quel sera l'état redox des transporteurs avant et après l'apport d'oxygène ?

NB : l'antimycine inhibe l'oxydation du cytochrome b par le cytochrome c.

Schéma simplifié de la chaîne respiratoire correspondant au transport de $2e^-$ et $2H^+$, les flèches bleues correspondent aux oxydations les oranges aux réductions :



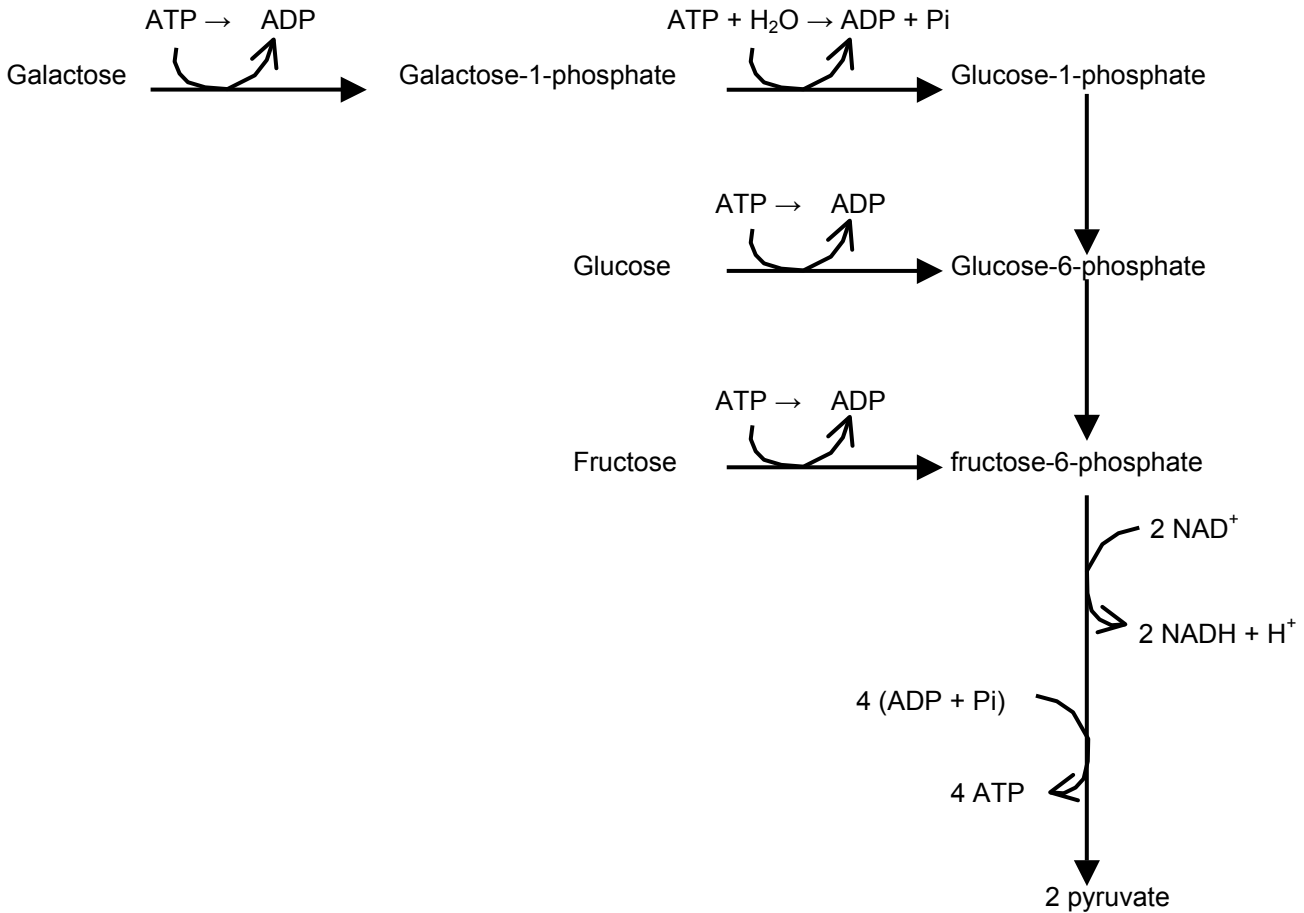
4. CATABOLISME DU LACTOSE ET DU SACCHAROSE EN AEROBIOSE

Le lactose (β -D-galactopyranosyl 1 \rightarrow 4 D-glucopyranose) est d'abord hydrolysé en glucose et en galactose. Le saccharose (α -D-glucopyranose1 \rightarrow 2 β -D-fructofuranoside.) est d'abord hydrolysé en glucose et en fructose. Ces oses empruntent ensuite la voie de la glycolyse selon le schéma ci-dessous :

1. Comparer les bilans énergétique de la dégradation d'une mole de lactose et d'une mole de saccharose en aérobie. en supposant que les oses libérés à partir de ces diholosides empruntent immédiatement la voie de la glycolyse.

2 Lors d'un petit déjeuner comportant du lait et de la confiture il est ingéré entre autres 10 g de lactose et 30g de saccharose. Calculer le nombre de mole d'ATP formées en supposant que les oses libérés à partir de ces diholosides empruntent immédiatement la voie de la glycolyse.

MM lactose = MM saccharose = 342 g.mol^{-1}

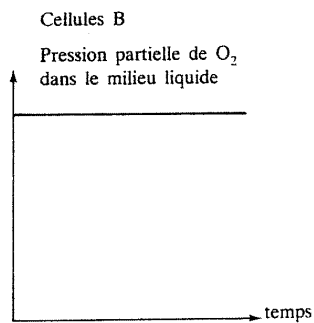
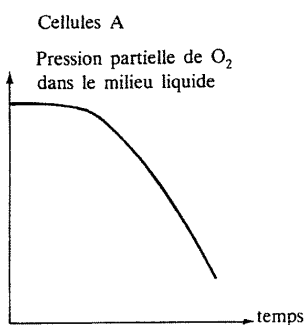


5. METABOLISME GLUCIDIQUE

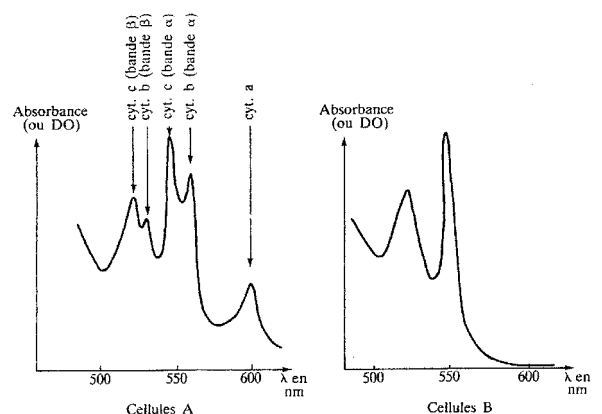
Les levures sauvages de l'espèce *S. cerevisiae* sont des organismes aérobies facultatifs qui, sur milieu gélosé, prolifèrent en des colonies. Deux types de colonies sont obtenus. Leurs cellules constitutives sont appelées A et B. On étudie certaines caractéristiques des cellules A et B placées en milieu convenable ; on effectue :

- la mesure de l'absorption de l'oxygène par les levures (doc. 1)
- L'enregistrement à l'aide d'un spectrophotomètre des variations de l'absorption lumineuse par les cytochromes des mitochondries de la levure en fonction de la longueur d'onde (doc. 2)

Document 1 :

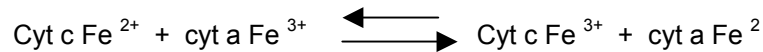


Document 2 :



a-Décrire puis interpréter les documents 1 et 2 en les utilisant d'abord séparément puis en rétablissant un lien entre eux.

b-Soit la réaction faisant intervenir les cytochromes a et c :



Dans quel sens la réaction tend-elle à se faire spontanément dans les conditions standards ?

Calculer la variation d'enthalpie libre standard de la réaction dans le sens où elle tend à se faire spontanément.

c- Cette réaction permet-elle la synthèse d'une molécule d'ATP ?

d- Ces deux souches sont cultivées sur un milieu contenant du saccharose comme source de carbone, calculer le bilan énergétique de la dégradation d'une molécule de saccharose pour chacune des souches.

Données :

Systèmes rédox	Potentiel standard (pH = 7, 30 °C)
NAD ⁺ /NADH	-0,32 V
FP/FPH ₂	-0,10 V
CoQ/QoQH ₂	-0,09 V
Cytb Fe ³⁺ /Cytb Fe ²⁺	+0,04 V
CytC1 Fe ³⁺ /CytC1 Fe ²⁺	+0,22 V
CytC Fe ³⁺ /CytC Fe ²⁺	+0,26 V
Cyt(a+a ₃) Fe ³⁺ /Cyt(a+a ₃) Fe ²⁺	+0,29 V
½O ₂ /O ²⁻	+0,82 V

$\Delta G'_0 = -nF\Delta E'_0 \quad F = 96,5 \text{ KJ.mol}^{-1}.V^{-1}$

Corrections

Exercice 1

a. Avec du pyruvate en conditions aérobies, le métabolisme sera la suites des séquences suivantes

- Décarboxylation du pyruvate en acétylCoA
- L'acétylCoA entre dans le cycle de Krebs et permet la formation de 2 CO₂, 3 NADH + H⁺, 1FADH₂ et 1 GTP.

Les coenzyme réduits sont réoxydés par la chaîne respiratoire, l'énergie libérés permet la synthèse d'ATP (3 pour 1 NADH + H⁺ et 2 FADH₂ pour 1).

b. Le malate est un des intermédiaires du cycle de Krebs et il peut pénétrer dans la mitochondrie donc si les cellules sont alimentées en malate, le cycle de Krebs va fonctionner les coenzymes réduits seront produits puis réoxydés par la chaîne respiratoire ce qui consommera de l'oxygène. Par contre oxalacétate qui est aussi un des intermédiaire du cycle de Krebs ne peut pénétrer dans la mitochondrie donc le cycle de krebs ne peut pas fonctionner et la chaîne respiratoire non plus, l'oxygène n'est pas consommé.

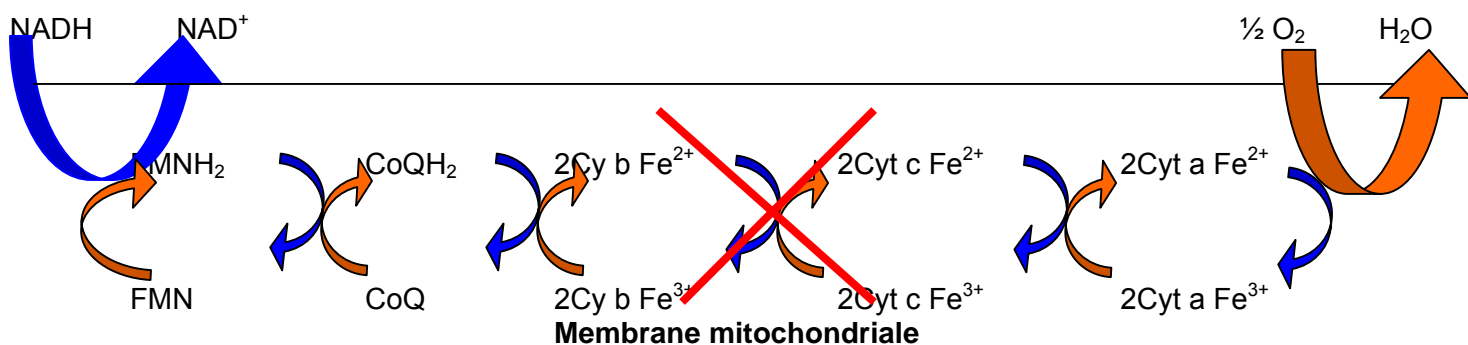
Exercice 2

Le malonate n'est pas un intermédiaire du cycle de Krebs il ne peut être utilisé comme substrat par les enzymes du cycle, il pénètre dans la mitochondrie mais n'est pas dégradé, les coenzymes réduits ne seront pas produits, la chaîne respiratoire ne fonctionnera pas et il n'y aura pas de consommation d'oxygène.

Avec du pyruvate ou du malate + du malonate, le cycle de Krebs fonctionne (cf exercice1) mais il est bloqué au niveau de l'oxydation du succinate en fumarate et le succinate s'accumule, donc la succinate déshydrogénase n'est plus active, elle est inhibée par le malotat. En voyant la structure du malote comparée à celle du succinate ^OOC-CH2-CH2-COO on peut penser que le malotat est un inhibiteur compétitif de la succinate déshydrogénase.

Exercice 3

Le malate permet le fonctionnement du cycle de Krebs les coenzymes réduits NADH +H⁺ et FADH₂ sont produits puis réoxydés par la chaîne respiratoire. L'antimycine inhibe l'oxydation du cytochrome b par le cytochrome c. La chaîne respiratoire est bloquée à ce niveau



Avant ajout d'oxygène

Le malate en excès réduit totalement le NAD^+ en $\text{NADH} + \text{H}^+$ qui a son tour réduit le FMN et ainsi de suite tous les transporteurs sont finalement réduits sont pouvoir être réoxydés par l' O_2 .

Après ajout d'oxygène et l'antimycine.

La chaîne respiratoire fonctionnera en deux parties indépendantes, L' oxyde le cyt a qui oxyde le cyt c, les autres transporteurs soumis à l'action du malate restent à l'état réduit.

Exercice 4

a. Une mole de lactose libère une mole de galactose et une mole de glucose

Une mole de glucose permet la synthèse de 38 moles d'ATP (cf. cours), une mole de galactose permet la synthèse de 37 moles d'ATP (une mole d'ATP supplémentaire est utilisée lors de la conversion du galactose-1P en Glucose -1P), soit au total **75 moles d'ATP**

Une mole de saccharose libère une mole de fructose et une mole de glucose

Une mole de fructose permet également la synthèse de 38 moles d'ATP soit au total **76 moles d'ATP**

b. 10 g de lactose et 30 g de saccharose correspondent respectivement à $10/342 = 0,0292$ mole de lactose et $30/342 = 0,0877$ mole de saccharose, il y a donc libération de :

- $0,0292 + 0,0877 = 0,070$ mole de glucose qui permettent la synthèse de $0,070 \times 38 = 4,44$ moles d'ATP
- $0,0292$ mole de galactose qui permettent la synthèse de $0,0292 \times 37 = 1,08$ moles d'ATP
- $0,0877$ mole de fructose qui permettent la synthèse de $0,0877 \times 38 = 3,33$ moles d'ATP

Soit au total 8,85 moles d'ATP

Exercice 5

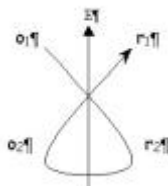
a. Le document 1 montre que dans les cellules A il y a consommation d'oxygène alors qu'il n'y en a pas dans les cellules B.

Le document 2 montre que les cellules A possèdent tous les cytochromes impliqués dans la chaîne respiratoire alors que les cellules B ne possèdent que le cytochrome C.

Ainsi dans les cellules A la chaîne respiratoire est active il peut y avoir un métabolisme oxydatif aérobie alors que dans les cellules B la chaîne respiratoire n'est pas active donc les cellules B auront seulement un métabolisme anaérobie, elles ne peuvent effectuer que des fermentations.

b. La réaction spontanée est celle qui implique l'oxydant du couple ayant le E_0 le plus fort et le réducteur du couple ayant le E_0 le plus faible

$\text{Cyt}(a+a_3) \text{Fe}^{3+}/\text{Cyt}(a+a_3) \text{Fe}^{2+} \quad E_0 = +0,29 \text{ V}$



$\text{CytC Fe}^{3+}/\text{CytC Fe}^{2+} \quad E_0 = +0,26 \text{ V}$

Donc la réaction spontanée est $\text{cyt a Fe}^{3+} + \text{Cyt c Fe}^{2+} \rightleftharpoons \text{cyt a Fe}^{2+} + \text{Cyt c Fe}^{3+}$

Dans la chaîne respiratoire il y a toujours 2 électrons mis en jeu donc

$$\Delta G'_0 = -nF\Delta E'_0 = -2 \times 96,5 \times (0,29 - 0,26) = -5,79 \text{ KJ.mol}^{-1}$$

- c. Ce $\Delta G'_0$ ne permet pas la synthèse d'ATP car le $\Delta G'_0$ de la réaction $\text{ADP} + \text{P}_i \rightarrow \text{ATP}$ est égal à $+30,5 \text{ KJ.mol}^{-1}$
- d. La souche A va synthétiser 76 molécules d'ATP par molécule de saccharose (38 par molécule de glucose et de fructose) par dégradation aérobie alors que la souche B va synthétiser 4 molécules d'ATP par molécule de saccharose (2 par molécule de glucose et de fructose) par fermentation alcoolique anaérobie.