

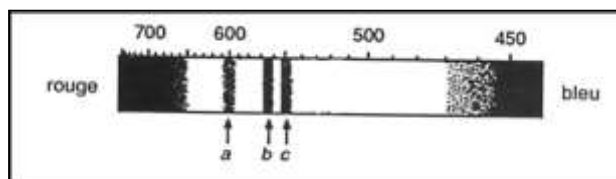
Etude de la chaîne respiratoire mitochondriale

Document 1. Les molécules de la chaîne respiratoire et le trajet des électrons.

Afin d'identifier les molécules impliquées dans la chaîne respiratoire mitochondriale, des scientifiques utilisent un spectrophotomètre, qui fait passer une lumière très intense à travers l'échantillon étudié, puis à travers un prisme qui décompose le spectre du rouge au bleu. Si des molécules de l'échantillon absorbent la lumière à des longueurs d'onde particulières, des bandes sombres interrompent le spectre de couleurs obtenu.

Des études menées sur des mitochondries de différents tissus et dans différentes conditions expérimentales ont permis de conclure que le spectre d'absorption est dû à trois composants que l'on nommera cytochromes a, b, c.

Le document ci-contre représente les bandes d'absorption de ces cytochromes a, b et c.



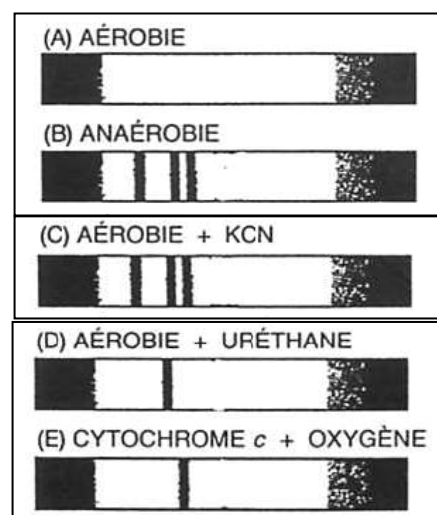
L'étude spectrophotométrique est ensuite réalisée dans différentes conditions expérimentales :

(A) et (B) : Comparaison des bandes d'absorption des cytochromes en présence (milieu aérobie) et en l'absence (milieu anaérobie) de dioxygène.

(C) : Résultats obtenus après ajout de cyanure (KCN) dans le milieu.

(D) : Résultats obtenus en milieu aérobie après ajout d'uréthane, un inhibiteur du transport d'électrons.

(E) : Résultats obtenus en présence de dioxygène avec le seul cytochrome S (extrait par réhydratation de levures en poudre).



Les potentiels redox de quelques couples oxydo-réducteurs sont fournis ci-dessous pour compléter l'interprétation des résultats précédents.

Couples oxydo-réducteurs (Ox, Red)	E° (ox, red) en volts
O_2 / H_2O	0,82
Cyt a_3 (Cu^{2+}/Cu^+)	0,30
Cyt a (Fe^{3+}/Fe^{2+})	0,29
Cyt c (Fe^{3+}/Fe^{2+})	0,25
Cyt c_1 (Fe^{3+}/Fe^{2+})	0,22
Cyt b (Fe^{3+}/Fe^{2+})	0,04
Q / QH ₂	- 0,02
FAD / FADH ₂	- 0,22
NAD ⁺ / NADH, H ⁺	- 0,32

[D'après Wilson J., Hunt T., « Biologie moléculaire de la cellule, livre d'exercices » Flammarion-Médecine Sciences Ed., 1995].

Document 2. Etude du rendement (nombre de molécules d'ATP produites par molécules d'O₂ consommées) de la chaîne respiratoire mitochondriale par mesure de la concentration d'O₂ au cours du temps.

Trois expériences successives sont réalisées sur la même suspension mitochondriale, préparée au temps 0. En a, b, c différentes substances sont ajoutées au milieu.

a. Addition de 90 μmol d'ADP et d'un excès de β-hydroxybutyrate.

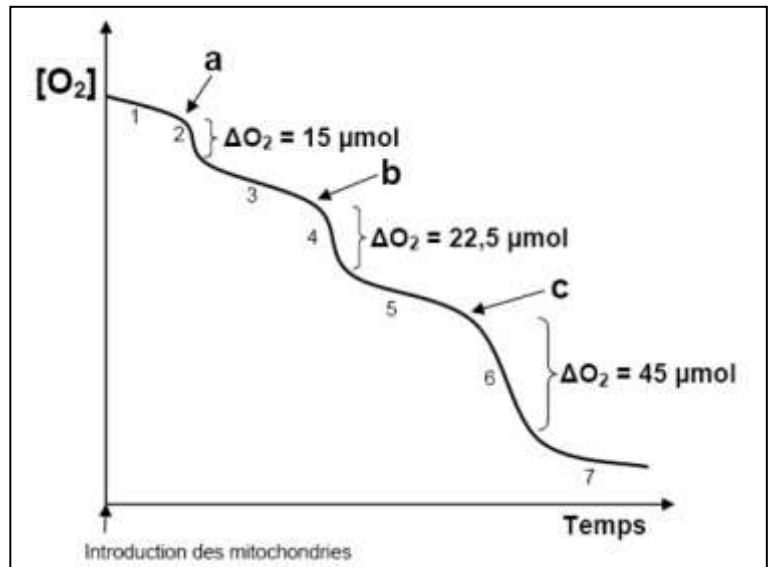
N.B. : Le β-hydroxybutyrate est un composé qui, comme NADH, H⁺ peut fournir des électrons au complexe I de la chaîne respiratoire.

b. Addition de 90 μmol d'ADP, d'un excès de succinate et de roténone.

N.B. : Le succinate est un composé qui peut céder ses électrons au FAD dans les mitochondries.

La roténone inhibe le transfert d'électrons en provenance du NADH, H⁺ dans la chaîne respiratoire.

c. Addition de 90 μmol d'ADP, d'antimycine, et d'un excès du mélange ascorbate + TMPD.



N.B. : Le TMPD (tétraméthyl-p-phénylènediamine) est un transporteur d'électrons réduit par l'ascorbate et qui transfère ses électrons directement au cytochrome c.

L'antimycine inhibe le transfert d'électrons provenant du FADH₂.

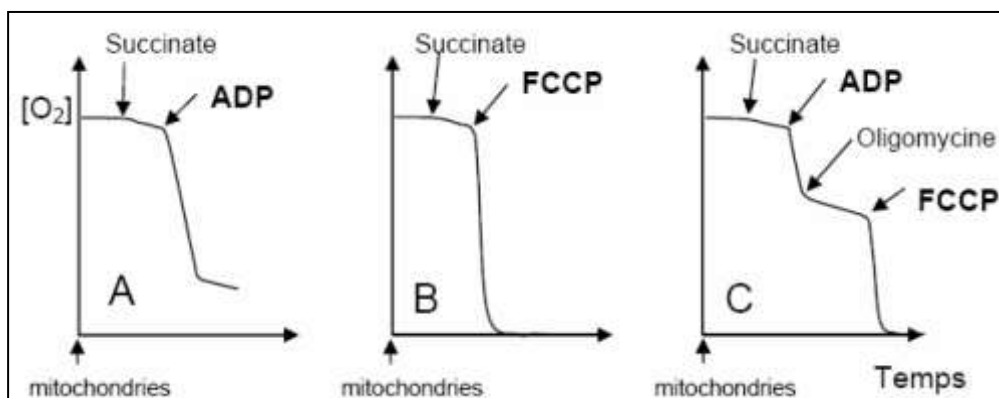
La consommation d'O₂ consécutive à chaque ajout de substances est indiquée à côté de la portion de graphique correspondante (ΔO₂).

N.B. : dans toute l'expérience, du Pi est présent dans le milieu.

[D'après sujet de CAPES externe de SVT, 2004]

Document 3. Etude du lien entre consommation d'O₂ et synthèse d'ATP par mesure de la concentration en O₂.

On réalise 3 expériences indépendantes (A, B et C) avec trois suspensions mitochondriales identiques. On ajoute successivement les substances indiquées sur les graphiques.



ADP : adénosine diphosphate.

FCCP : substance protonophore (= agent découplant ; le dinitrophénol DNP a le même effet).

Oligomycine : inhibiteur de l'ATP synthase.

[D'après sujet de CAPES externe de SVT, 2004]