

Travaux dirigés de Microbiologie Master I Sciences des Génomes et des Organismes

B- Le Métabolisme microbien

I- Faire correspondre les formes suivantes du métabolisme du soufre avec la bonne équation (écrire une lettre appropriée dans l'espace):

- B respiration du soufre A. $S + H_2 \rightarrow H_2S$
C oxydation du soufre B. $SO_4 + \text{organiques} \rightarrow CO_2 + H_2S$
A réduction du soufre C. $CO_2 + 2H_2S \rightarrow (CH_2O)_n + 2S + H_2O$

Comment pouvez-vous classer les organismes suivants: (pg 5)

a. Le micro-organisme # 1 ne peut pas utiliser l'oxygène dans son métabolisme, mais produit la peroxydase et SOD (SOD est une enzyme pour éliminer superoxide, une forme d'oxygène toxique pg 8). Il peut utiliser le CO_2 comme source de carbone mais ne peut pas obtenir de l'énergie de la lumière.

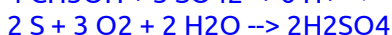
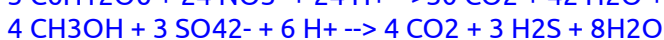
Basé sur les besoins en oxygène, ce serait un anaérobie aérotolérante (ne peut pas utiliser l' O_2 , mais ne le tue pas due à des enzymes de protection). En fonction de son métabolisme, c'est un chimioautotrophe (source de carbone inorganique, pas de photosynthèse)

b. Le micro-organisme # 2 requiert une forte concentration en sel, réalise la photosynthèse, et peut pousser sur un milieu minimal avec du glucose, mais pas un milieu minimal sans sucre.

Cet organisme a des besoins en sel en font un halophile, et bien qu'il peut faire la photosynthèse il a besoin encore apparemment d'une source de carbone organique, c'est donc un photohétérotrophe.

II- Ecrire une réaction d'oxydoréduction équilibrée pour les donneurs et les accepteurs d'électrons suivantes. Pour chaque réaction, identifier les éléments d'oxydoréduction et indiquer quel élément est oxydé et qui est réduit.

<u>Electron donor</u>	<u>Electron acceptor</u>
a. glucose/ CO_2	O_2/H_2O
b. glucose/ CO_2	NO_3^-/N_2
c. CH_3OH/CO_2	SO_4^{2-}/H_2S
d. S/H_2SO_4	O_2/H_2O



III- Décrire ce qui se passerait si vous avez pris une cellule d'une bactérie halophile extrême *Halobacterium salinarum* de son milieu de croissance (contenant 25% de NaCl) et vous l'avez placé dans l'eau distillée. Chez *Halobacterium*, la concentration intracellulaire en sel est normalement la même que l'autre cote de la membrane. En outre, prévoir ce que *Escherichia coli*, une non halophile typique, si vous feriez l'expérience inverse (eau distillée à 25% de NaCl).

H. salinarum a une activité intercellulaires d'eau extrêmement basse en raison de la présente KCl dans la cellule comme un soluté compatible. Lorsqu'il est placé dans l'eau distillée, vous pouvez vous attendre à une précipitation rapide d'eau dans la cellule, entraînant une extrême pression osmotique et la lyse cellulaire subséquente. D'autre part, *Escherichia coli*, placées dans 25% de NaCl, serait perdre de l'eau de la cellule et se déshydrater.

IV. Concernant le pH de l'environnement et celui de la cellule, de quelle manière les acidophiles et alcaliphiles sont différents? En quoi sont-ils semblables ?

Les acidophiles préfèrent un pH inférieur à 6.5 alors que les alcaliphiles préfèrent des valeurs de pH autour de 10-11. En général, les champignons ont tendance à être plus tolérants à l'acide que les bactéries, bien que certaines bactéries sont acidophiles. D'autre part, un peu de procaryotes sont alcaliphiles. Le cytoplasme des acidophiles et alcaliphiles tend à être proche de la neutralité et à la fois peuvent trouver des conditions environnementales de pH normal être toxiques, généralement en causant des dommages aux membranes cellulaires.

V- Vous étudiez une communauté bactérienne des sédiments d'une zone marécageuse dans une forêt locale préservée. Vous avez isolé trois types différents de bactéries et acquis des informations sur chacun d'eux. Voici ce que vous savez à ce jour:

Le micro-organisme A peut se développer sur un milieu minimum sans source de carbone, mais seulement s'il y a de la lumière. Il peut être trouvé depuis la surface et jusqu' à 2m en profondeur dans les sédiments.

Le micro-organisme B se trouve de 1 à 4 m de profondeur dans les sédiments, mais jamais à la surface.

Les micro-organismes A et B peuvent être trouvées ensemble à une même profondeur. Il peuvent être cultivés en laboratoire si on leur fournie à la fois une source de carbone organique et de fortes concentrations de $MgSO_4$ ou K_2SO_4 .

Le micro-organisme C peut être trouvé dans toutes les profondeurs des sédiments. Il peut croître dans un milieu minimal supplémenté avec une source de carbone organique comme le glucose. Les cultures ont une odeur assez fétide parce que les bactéries produisent de l'acide butyrique.

a. Comment classeriez-vous le micro-organisme B en fonction de ses besoins en oxygène ?

Il ne se trouve jamais à la surface, il est donc probablement un anaérobe strict.

b. Pourquoi ne le micro-organisme B nécessite le $MgSO_4$ ou K_2SO_4 dans son milieu de croissance ? Soyez aussi précis que possible sur la façon dont ces molécules sont utilisées dans son métabolisme.

SO_4 peut être utilisés par les réducteurs de sulfate (réduction dissimilatrice du sulfate) comme accepteur d'électrons, qui permet à ces bactéries anaérobies strictes d'effectuer une respiration anaérobie. Le produit est H_2S .

c. Pourquoi ne le micro-organisme A pousse sans source de carbone dans le milieu ? Soyez aussi précis que possible sur le genre de processus métabolique qu'il utilise.

Comme la lumière est nécessaire, ce doit être un photo-autotrophe utilisant une voie de photosynthèse pour produire de l'énergie et du carbone organique à partir de la lumière et du CO₂. Nous savons qu'il ne peut pas être une cyanobactérie, car il produirait de l'O₂ et l'organisme B ne pourrait pas coexister avec elle. Donc, ce doit être soit une bactérie verte ou pourpre, assurant la photosynthèse anoxygénique

d. De quelle façon le micro-organisme A dépend du micro-organisme B ?

Le soufre est le donneur d'électrons pour la photosynthèse anoxygénique; l'organisme B convertit le sulfate en sulfure hydrogène

e. Quel type de métabolisme énergétique pensez-vous le micro-organisme C utilise ? Pourquoi ?

Pas besoin d'oxygène et une source de carbone organique est utilisée, mais pas oxydée jusqu'à CO₂. Donc, ce microbe fait de la fermentation, probablement un anaérobe aérotolérant.

f. Comment le micro-organisme C pourrait bénéficier de l'un ou l'autre ou des deux autres organismes dans la communauté ?

L'acide butyrique est une molécule organique qui pourrait être oxydée, qui pourrait servir comme une source de carbone organique pour l'organisme B. L'organisme A ne bénéficierait probablement d'aucune façon de l'organisme C.

VI- Nous avons dit que la respiration anaérobie est moins efficace que la respiration aérobie, parce les accepteurs d'électrons comme le nitrate ou le sulfate ne sont pas aussi électronégatifs que l'oxygène.

Supposons une cellule poussant en anaérobiose en utilisant le glucose comme source d'énergie et du nitrate comme accepteur d'électrons.

a. Pour chaque molécule de glucose, combien d'ATP peut produire cet organisme par phosphorylation (ADP → ATP) au niveau du substrat (glycolysis pg 5 et le cycle de TCA pg 6)?

2 du glycolyse et 1 pour chaque cycle de TCA: 4 total

b. L'utilisation des nitrates dans le transport d'électrons, l'énergie stockée dans les électrons sur chaque NADH peut être utilisée pour pomper des protons suffisante pour produire 1,5 ATP. Chaque FADH₂ produit environ 1 ATP. Combien de molécules d'ATP peut cet organisme produire à partir d'une molécule de glucose par le transport des électrons ? Notez : la chaîne respiratoire produit 34 ATP quand l'oxygène est l'accepteur des électrons.

Glycolyse fait 2 NADH; TCA fait 6 (in two turns) plus 2 FADH₂. Pour NADH, $8 \times 1.5 = 12$, et pour FADH₂, $2 \times 1 = 2$ or 14 au total.

VII. Vous avez isolé une nouvelle bactérie à partir d'une source d'eau chaude. Elle pousse à une température optimale de 80°C

en aérobiose dans l'obscurité,
en anaérobiose dans le noir,
ou en anaérobiose, à la lumière.

Dans tous les cas, elle pousse sur S^0 et de CO_2 . Elle est totalement différente de toute bactérie vous avez jamais vu avant, et pendant la croissance, à la lumière, elle est pigmentée.

Quel est le type de métabolisme dans chacun de ces cas (nommez le type métabolique)?

1. dark, aerobic: S^0 = energy source/electron donor; O_2 =terminal electron acceptor (TEA); CO_2 =carbon source **aerobic chemolithoautotrophy**

2. dark, anaerobically: S^0 = energy source/electron donor; CO_2 = carbon source & TEA **anaerobic chemolithoautotrophy**

3. light, anaerobically: S^0 = electron donor; light = energy source; CO_2 =carbon source **anaerobic photolithoautotrophy**

VIII. Expliquez pourquoi le rendement de croissance (g de cellules par mole de substrat) d'une bactérie est beaucoup plus grand lorsque l'organisme pousse en aérobie sur glucose que sur l'acetate comme donneurs d'électrons (pg 9)

Le glucose a un potentiel redox beaucoup plus négatif (favorable) que le l'acetate et par conséquent le rendement énergétique est beaucoup plus grand et le rendement de croissance est plus élevé.

IX. Pourquoi le glucose est-il considéré comme le nutriment combustible privilégié pour les cellules, y compris les cellules microbiennes ?

Quand une cellule oxyde une molécule de glucose ($C_6H_{12}O_6$) en CO_2 et en H_2O , l'énergie contenue dans le glucose est retirée par étapes et finit par être emmagasinée dans l'ATP, qui devient alors une source d'énergie susceptible d'être investie dans des réactions qui en ont besoin. Les composés tels que le glucose qui ont beaucoup d'atomes d'hydrogène, sont des composés hautement réduits, contenant une grande quantité d'énergie potentielle. C'est pourquoi le glucose est un nutriment précieux pour les cellules, y compris pour les cellules microbiennes. (L'oxydation est la perte d'électrons (e^-) par un atome ou par une molécule. Cette réaction produit souvent de l'énergie. La réduction est l'acquisition de un ou plusieurs électrons par un atome ou par une molécule. Les réactions d'oxydation et de réduction sont toujours couplées; autrement dit, chaque fois qu'une substance est oxydée, il y en a une autre qui est simultanément réduite. Les organismes utilisent les réactions d'oxydoréduction lors du catabolisme pour extraire de l'énergie des molécules de nutriments tels que le glucose.)

X. Expliquez la différence entre les termes suivants:

- a) respiration aérobie et respiration anaérobie
- b) respiration et fermentation

a. Le processus de la respiration cellulaire, qu'elle soit aérobie ou anaérobie, se déroule en trois phases, soit la glycolyse, le cycle de Krebs et la chaîne de transport des électrons. Dans le cas de la respiration aérobie, le cycle de Krebs se fait en aérobie et l'accepteur d'électrons final dans la chaîne de transport des électrons est l' O_2 . Dans le cas de la respiration anaérobie, l'accepteur d'électrons final est une substance inorganique autre que l'oxygène (O_2), soit NO_3^- ou SO_4^{2-} par exemple. Une partie seulement du cycle de Krebs fonctionne en anaérobie et tous les transporteurs de la chaîne de transport des électrons ne participent pas à ce type de respiration. Ainsi, la production d'ATP n'y est jamais aussi élevée qu'au cours de la respiration aérobie.

b. Pour produire de l'énergie à partir du glucose, les microorganismes font appel à deux grands processus: la respiration cellulaire et la fermentation. Les deux processus commencent habituellement de la même façon, par la glycolyse, puis s'engagent par la suite dans des voies différentes. Dans la respiration, la glycolyse est suivie du cycle de Krebs et d'une chaîne de transport des électrons; des

molécules sont oxydées et l'accepteur d'électrons final est (presque toujours) une molécule inorganique; la production d'ATP est élevée. Dans la fermentation, après la glycolyse, l'acide pyruvique est converti en un ou plusieurs produits différents, dont l'alcool (éthanol) et l'acide lactique, selon le type de cellule. Contrairement à ce qui se passe dans la respiration cellulaire, il n'y a pas de cycle de Krebs ni de chaîne de transport des électrons lors de la fermentation. Par conséquent, la production d'ATP, qui résulte uniquement de la glycolyse, est beaucoup plus faible.

XI. Expliquez dans vos propres mots le rôle de l'ATP. Pourquoi l'ATP est-elle un intermédiaire clé du métabolisme ? (pg 9)

L'ATP stocke l'énergie dérivée des réactions cataboliques et la libère, le moment venu, pour alimenter les réactions anaboliques et accomplir le travail cellulaire. **L'ATP est la forme d'énergie chimique utilisable par les cellules. Elle peut ressembler à un liquide très inflammable tel que le kérosène.** Une grosse bûche qui brûle finirait peut-être par produire plus de chaleur qu'une tasse de kérosène, mais ce dernier est plus facile à allumer et on en tire de la chaleur plus rapidement et avec moins d'efforts. De la même façon, les liaisons instables riches en énergie de l'ATP procurent à la cellule de l'énergie immédiatement accessible pour les réactions anaboliques. L'ATP est un intermédiaire clé dans le métabolisme parce que les réactions qui exigent de l'énergie sont couplées aux réactions qui libèrent de l'énergie.

XII. La voie des pentoses phosphates produit seulement une molécule d'ATP. Nommez deux avantages de cette voie pour la cellule (pg 8).

La voie des pentoses phosphates fonctionne en même temps que la glycolyse et fournit un moyen de **dégrader les sucres à cinq carbones** (pentoses) en plus du glucose; elle produit d'importants **pentoses intermédiaires qui servent à la synthèse des acides nucléiques** (ribose et désoxyribose), à celle du glucose à partir du gaz carbonique par la photosynthèse et à celle de certains acides aminés. Cette voie est un **producteur important de la coenzyme réduite NADPH** à partir de NADP⁺.

XIII. Toutes les réactions biochimiques productrices d'énergie qui se déroulent dans les cellules, telles que la photophosphorylation et la glycolyse, sont quel type de réaction?

réactions d'oxydoréduction.

XIV. Nommez quatre composés qui peuvent être produits à partir de l'acide pyruvique par les organismes qui utilisent seulement la fermentation (pg 7).

ethanol; acide lactique; butanol; acétone, glycérol, acetate

XV- Déterminez et expliquez l'importance des deux substances suivantes: la catalase et la superoxyde dismutase (pg 8).

Lors des processus de production d'énergie par les bactéries aérobies (respiration aérobie), il y a aussi production de substances très toxiques telles que les radicaux superoxyde (O₂⁻) et le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). Pour éviter de mourir sous l'action des substances toxiques qu'elle libère, la bactérie produit des enzymes qui neutralisent ces dernières. Ces enzymes sont la catalase et la superoxyde dismutase.

- La superoxyde dismutase catalyse la transformation du radical superoxyde (O₂⁻) en peroxyde (H₂O₂) et en dioxygène

- la catalase catalyse la transformation du peroxyde (H₂O₂) en oxygène et en eau, soit des produits inoffensifs.

La classification du metabolisme

La source de carbone :

CO₂ = autotrophe

organique = heterotrophe

La source des electrons

organique = organotrophe

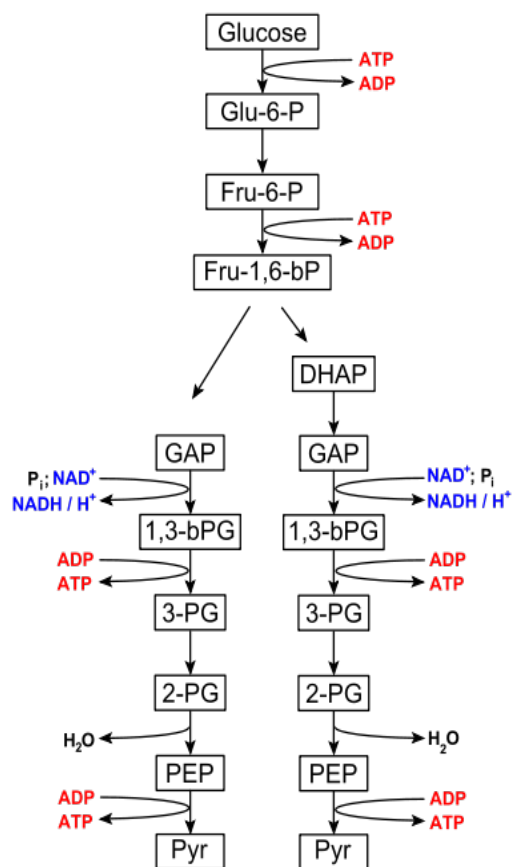
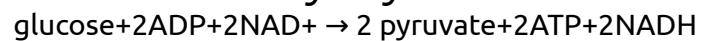
non-organique = lithotrophe (ie l'eau)

La source d'energie pour recuperer les electrons (oxidation)

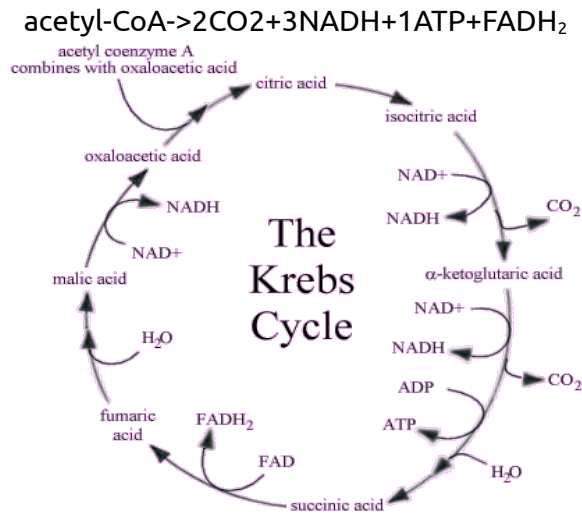
la lumiere=phototrophe

les chimies=chimiotrophe

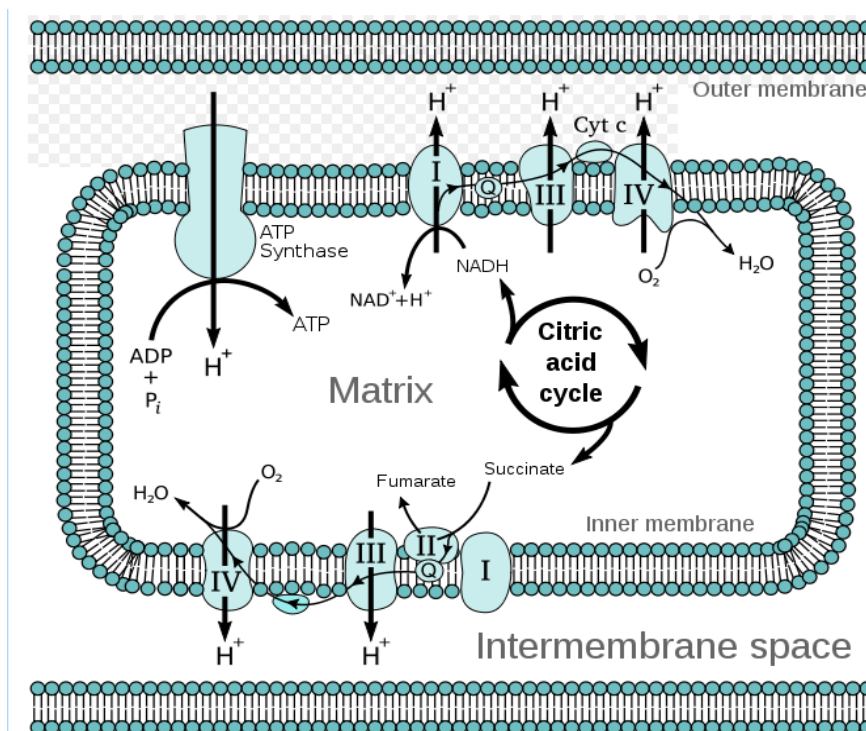
Glycolyse



Le cycle de Krebs=cycle des acides tricarboxyliques=cycle de l'acide citrique

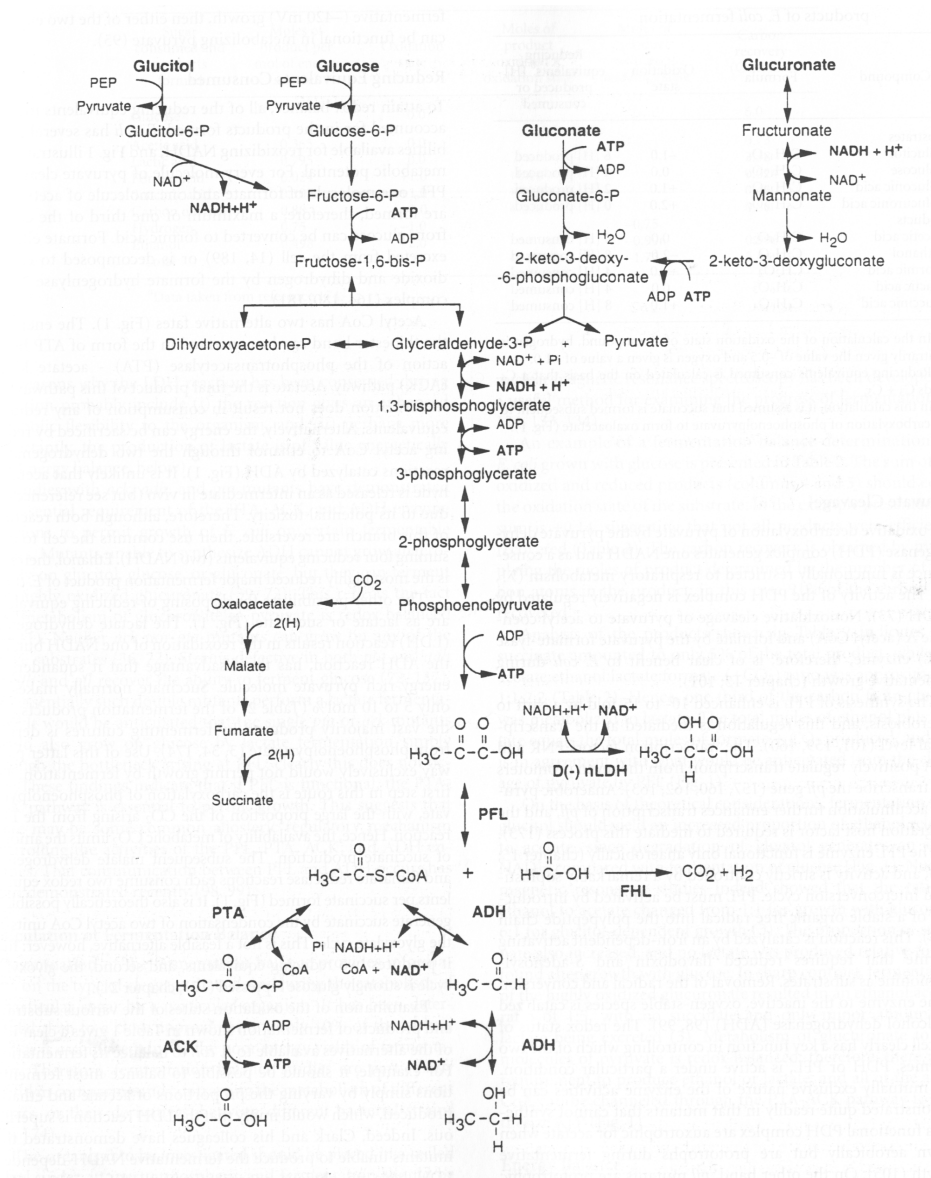


Chaîne respiratoire: réoxydations les coenzymes NADH et FADH_2 du cycle de Krebs pour la création d'un gradient transmembranaire de protons. Le gradient de proton sert à fabriquer de l'ATP



- NADH=source des électrons
- chaîne du transport des électrons=création d'un gradient transmembranaire
- ATP synthase=synthèse ATP par le gradient transmembranaire
- oxygène=accepteur des électrons

La fermentation : c'est la vie sans l'air. Consommation du NADH produit par la glycolyse

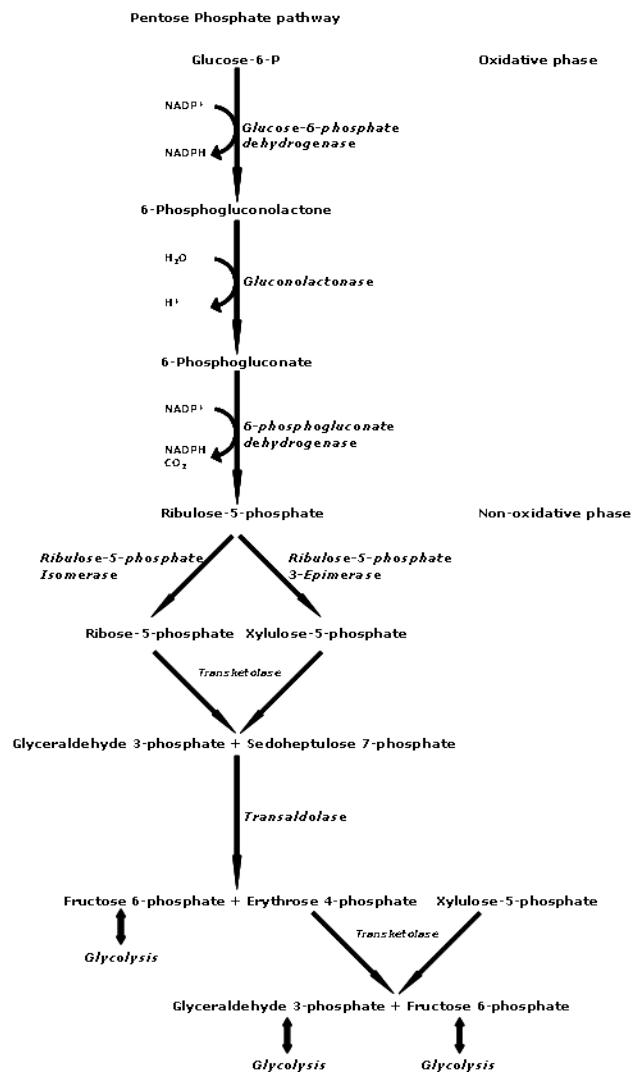


L'acide lactique = $\text{NADH} \rightarrow \text{NAD}^+$

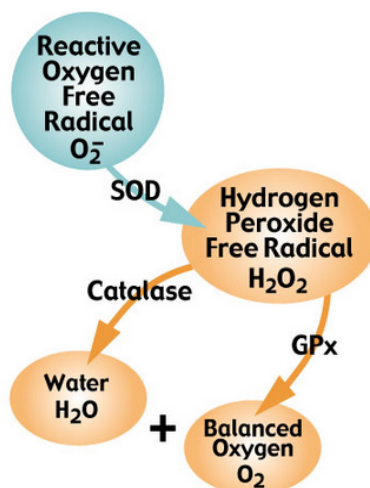
Ethanol = $2\text{NADH} \rightarrow 2\text{NAD}^+$

Acetate = $\text{ADP} \rightarrow \text{ATP}$

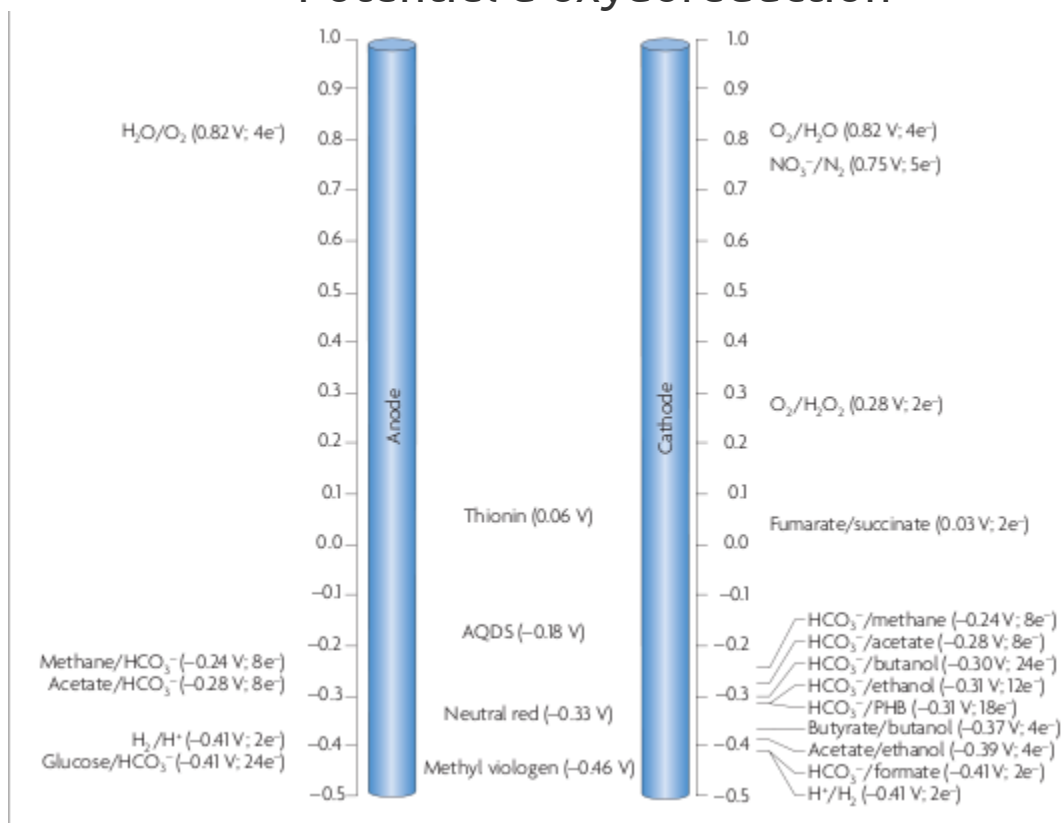
La voie des pentoses phosphates : production des pentoses pour la synthèse des acides nucléiques et assimilation des pentoses



SOD et catalase : transformation de molécules réactives de l'oxygène



Potentiel d'oxydoréduction

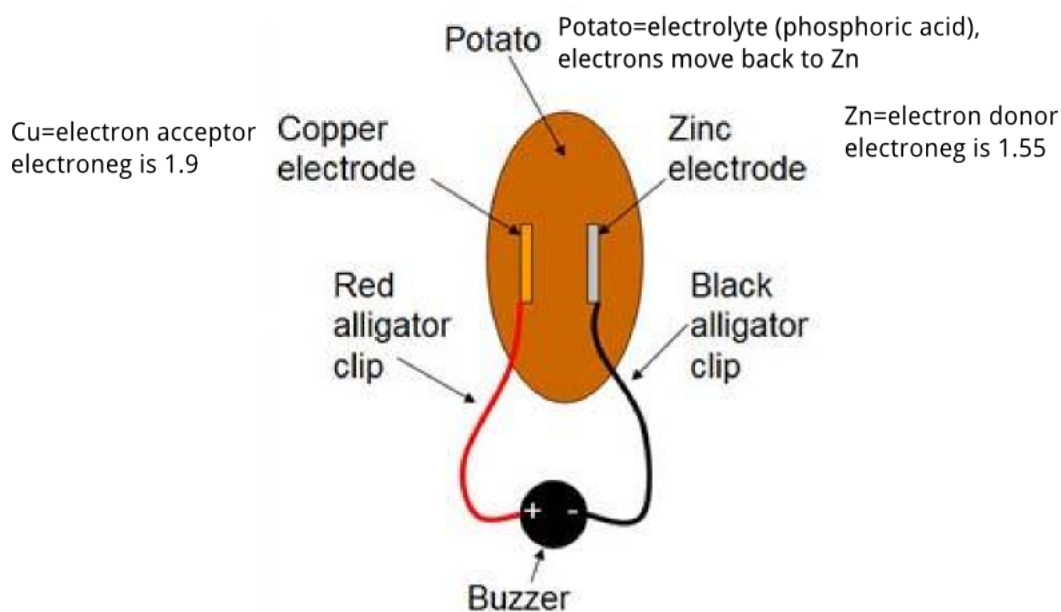


anode=oxidation d'un donneur d'électron

cathode=réduction d'un accepteur d'électron

tension potentielle=cathode potential-anode potential

Potato battery=electrochemical cell produces 0.8 volts



electronegativity=tendency to attract electrons

La structure de l'ATP

