

Thèse : Martin TROUILLARD

Résumé

Le moyen principal par lequel la majorité des êtres vivants parvient à disposer de l'énergie nécessaire à l'entretien et au développement cellulaires est la respiration, ensemble de réactions d'oxydo-réduction couplées à la synthèse d'ATP, « monnaie » énergétique de la cellule, par le biais d'une translocation de protons de part et d'autre de la membrane interne des mitochondries. Un sujet central dans l'étude de la chaîne de transfert d'électrons (CTE) respiratoire réside dans le mode d'organisation des éléments qui la constituent. En particulier, un nombre important d'expériences récentes ont démontré la possibilité d'isoler par des moyens biochimiques des « supercomplexes » constitués de plusieurs des complexes de la chaîne respiratoire physiquement associés entre eux, menant à une remise en cause du « modèle des collisions aléatoires » prédominant jusqu'alors. Afin de contribuer à répondre à cette question, nous avons développé une méthode permettant l'observation spectrophotométrique en temps réel des transferts d'électrons respiratoires dans des cellules intactes de *S. cerevisiae*, et possiblement d'autres organismes.

Cette technique est basée sur l'approche « flow-flash » inventée par Gibson & Greenwood en 1963, et largement mise en oeuvre par la suite dans l'étude de la cytochrome c oxydase in vitro. Nous démontrons par cette approche l'absence de contraintes pesant sur la diffusion du cytochrome c, suggérant que les supercomplexes ne canalisent pas les transporteurs solubles de la respiration dans la CTE des cellules entières.

Mots-clé : respiration, transferts d'électron, supercomplexes, spectrophotométrie résolue en temps, cytochrome oxydase, cytochrome c, photosynthèse

Abstract

The principal means by which the majority of living beings obtain the energy they need for cellular upkeep and development is respiration, a complex succession of redox reactions coupled to the synthesis of ATP (the cell's "energy currency") through the translocation of protons from one side of the inner mitochondrial membrane to the other. One of the central subjects in the study of the respiratory electron transfer chain (ETC) has regarded the relative organisation of its elements. Strikingly, a number of recent investigations have revealed the possibility to biochemically isolate "supercomplexes" made of several physically-associated respiratory complexes, leading to increased questioning as to the formerly-prevailing "random collision model". In an attempt to answer these questions, we developed a novel method for real-time spectrophotometric observation of respiratory electron transfers in whole cells of *S. cerevisiae*, based on the flow-flash technique designed by Gibson & Greenwood in 1963, and widely applied to the study of cytochrome c oxydase in vitro.

We show here that no constraint are held on diffusion of cytochrome c in the ETC of intact cells, suggesting that supercomplexes do not « channel » the soluble electron carriers of the respiratory chain.

Key words : respiration, electron transfers, supercomplexes, real-time spectrophotometry, cytochrome oxidase, cytochrome c, photosynthesis