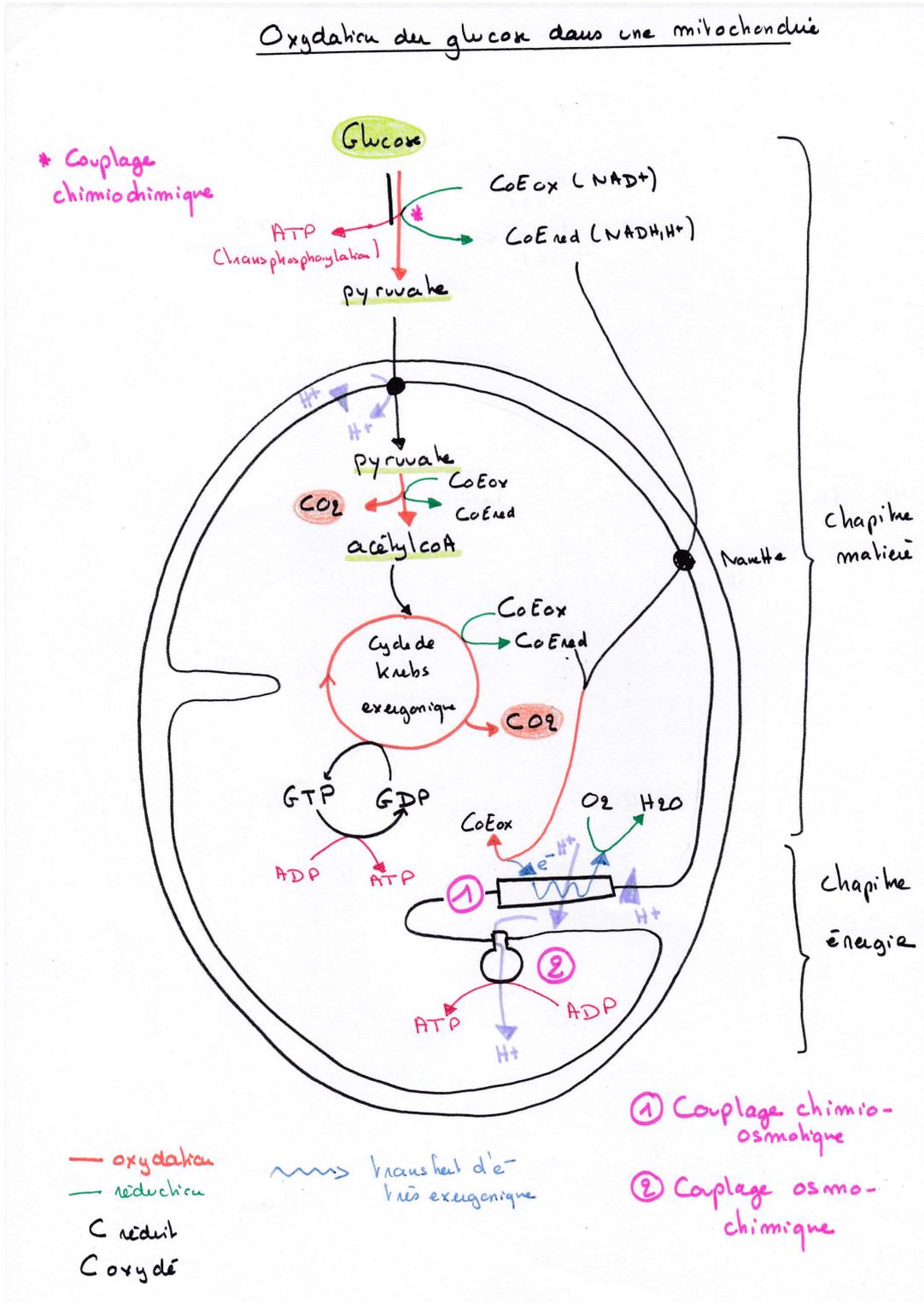
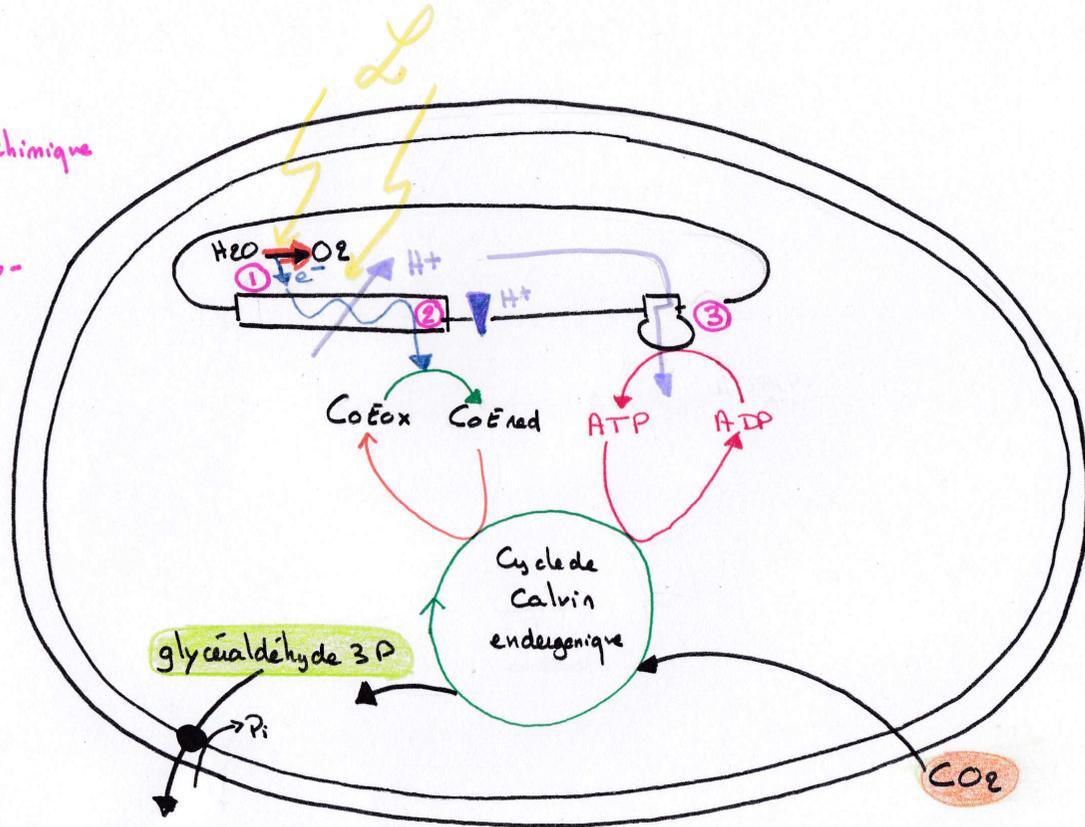


Figures introductives



Réduction du CO₂ dans le chloroplaste

- ① Couplage photochimique
- ② Couplage chimio-osmotique
- ③ Couplage osmo chimique



Phase photochimique
Chapitre énergie

Phase non photochimique
Chapitre matière

Figure 1 : structure de l'ATP

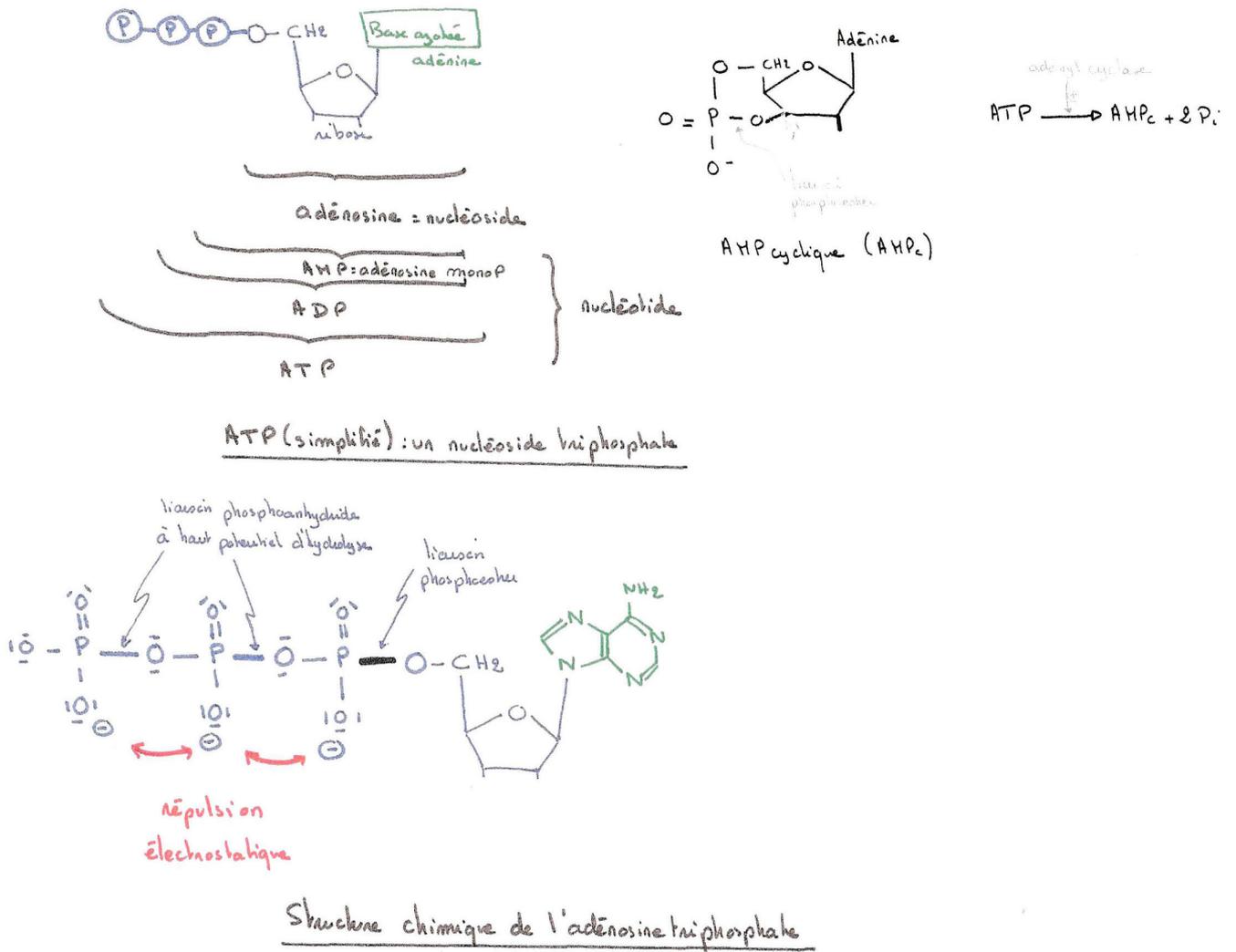


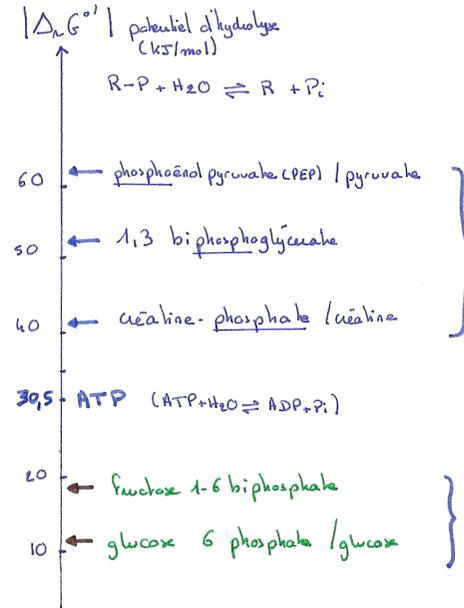
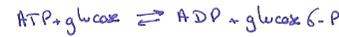
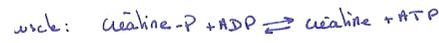
Figure 2 : Potentiel d'hydrolyse de quelques composés phosphorylés
(in Segarra et al.)

Composés	$\Delta rG^{0'}$ en kJ.mol^{-1}	Types de liaison	Potentiel de transfert	Sens de transfert spontané
PEP (phosphoénolpyruvate)	- 61,9	Liaisons à haut potentiel d'hydrolyse	Elevé 	
1, 3-Bisphosphoglycérate	- 49,4			
Phosphocréatine	- 43,1			
ATP → AMP + PPi	- 32,2			
ATP → ADP + Pi	- 30,5	Liaisons à faible potentiel d'hydrolyse	Faible 	
Glucose 1-phosphate	- 20,9			
Fructose 6-phosphate	- 13,8			
Glucose 6-phosphate	- 13,8			

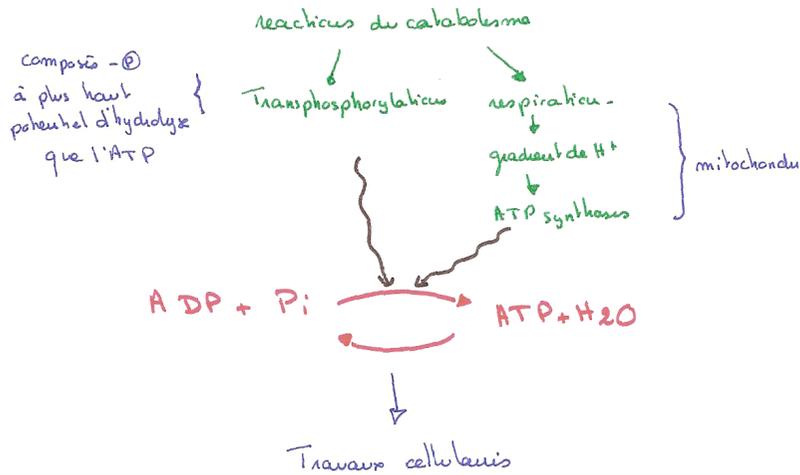
Energies libres standard de l'hydrolyse de composés phosphorylés et de l'acétyl-coenzyme A

Liaison riche en énergie si $\Delta G^\circ < -25$ kJ/mol		
	ΔG° kJ/mol	
Phosphoénolpyruvate	- 61,9	Riche
1,3-Bisphosphoglycérate (\rightarrow 3-Phosphoglycérate + P _i)	- 49,3	
Créatine phosphate	- 43,0	
PPI (\rightarrow 2P _i)	- 33,4	
ATP (\rightarrow AMP + PP _i)	- 32,2	
Acétyl-CoA	- 31,4	
ADP (\rightarrow AMP + P _i)	- 30,5	
<hr/>		
ATP (\rightarrow ADP + P _i)	- 30,5	Non Riche
Glucose-1-phosphate	- 20,9	
Fructose-6-phosphate	- 15,9	
AMP (\rightarrow Adénosine + P _i)	- 14,2	
Glucose-6-phosphate	- 13,8	
Glycérol-1-phosphate	- 9,2	

Transphosphorylations



Position intermédiaire du potentiel d'hydrolyse de l'ATP

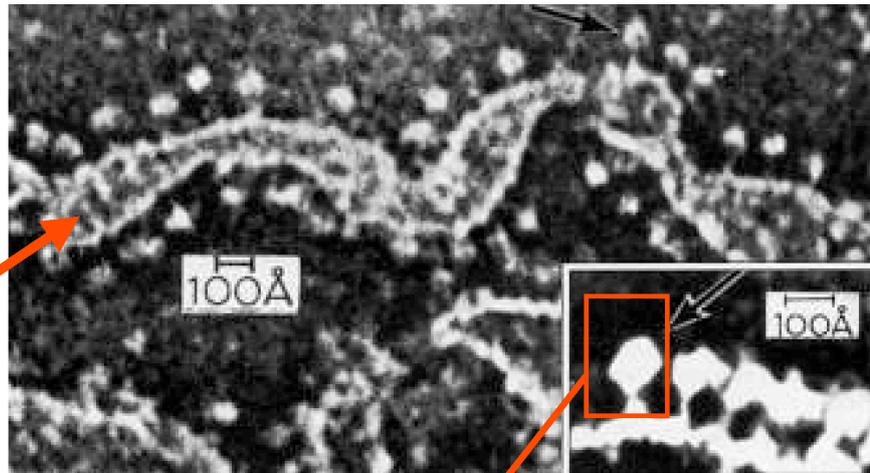


L'ATP, une forme d'énergie intermédiaire

Figure 4 : Observation des sphères pédonculées (= ATP synthases) au MET sur la membrane interne de mitochondrie

MET, coloration négative

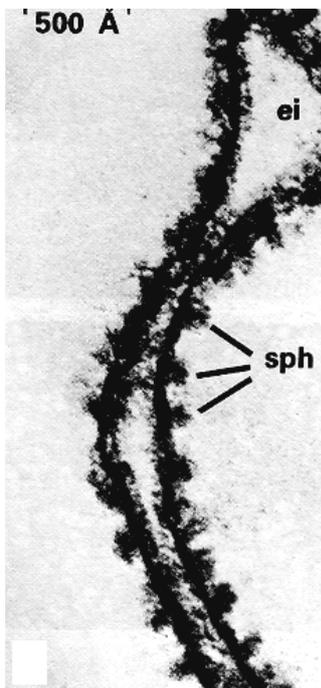
Crête mitochondriale
= repli de la membrane interne



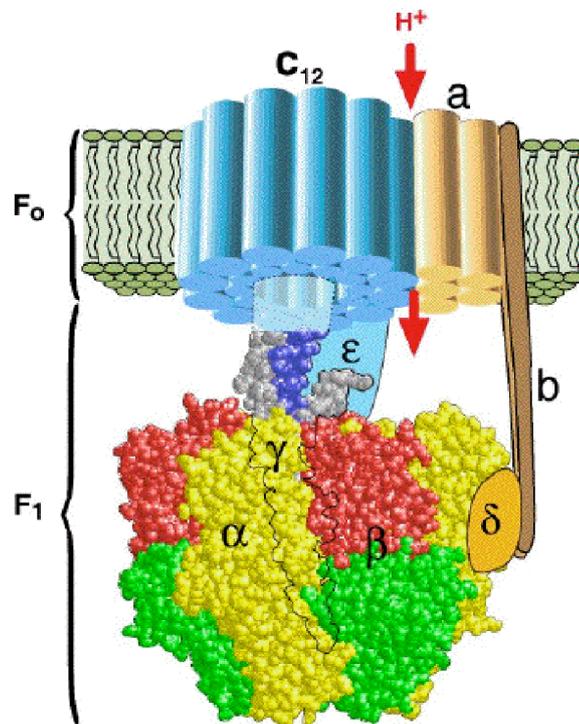
Sphère pédonculée

Mitochondrie au MET

Figure 5 : Structure de l'ATP synthase

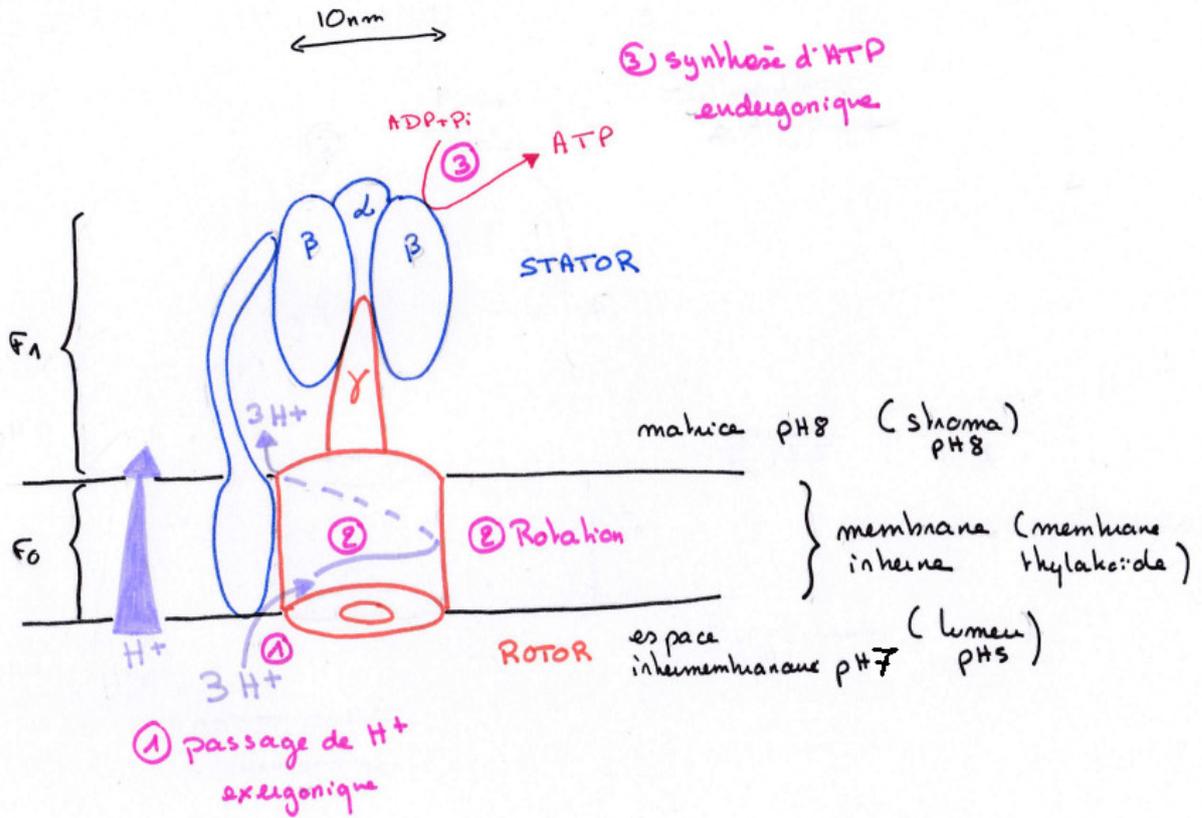


Membrane interne de la mitochondrie au MET



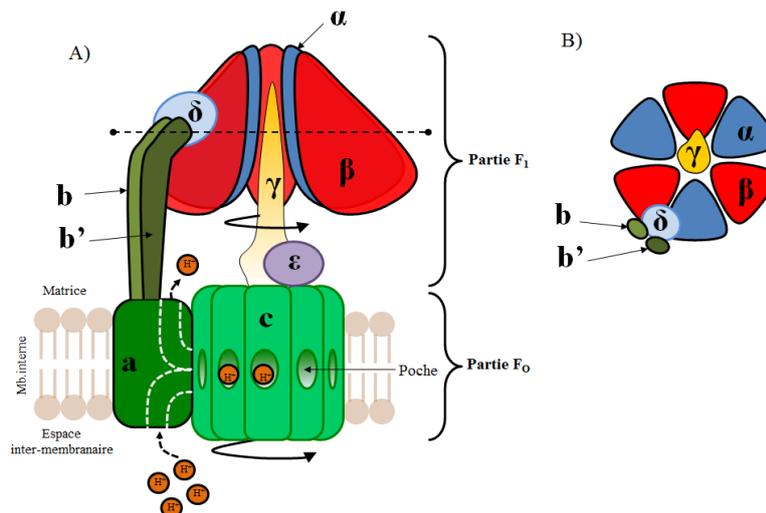
H. Wang and G. Oster (1998). Nature 396:279-282.

Structure déduite de la cristallographie et diffraction aux rayons X



① → ② : couplage osmo-mécanique
 ② → ③ : couplage mécano-chimique) ① → ③ Couplage osmo-chimique

Modèle de fonctionnement de l'ATP synthase



Origine de la rotation de l'anneau c :

La sous unité a possède 2 demi canaux à protons :

- un demi canal qui va de l'espace intermembranaire vers le milieu de la membrane interne
- un demi canal qui va du milieu de la membrane interne vers la matrice

- ① Les protons entrent au niveau du premier demi canal : ils se fixent sur un acide aminé de la sous unité c
- ② La fixation des protons entraîne une rotation de l'anneau (presque un tour complet grâce au déplacement des protons le long des différentes sous unités c)
- ③ La rotation a 2 conséquences :

- elle permet aux protons d'atteindre le 2^{ème} demi canal qui s'ouvre vers la matrice, et donc de rejoindre la matrice
- elle entraîne un changement de conformation de la sphère formée par les sous-unités alpha et bêta. Ce changement de conformation est responsable de la catalyse.

Figure 6 : Mise en évidence du fonctionnement de l'ATP synthase par un nanomoteur

Films (Travaux de Noji et al, *Nature* 1997) :

La partie F₁ de l'ATP synthase est fixée sur un support. La sous-unité gamma (tige) est fixée de façon covalente à un microfilament d'actine rendue fluorescente.

On étudie donc ici l'activité ATPase (= ATP hydrolase) de la protéine en présence d'ATP.

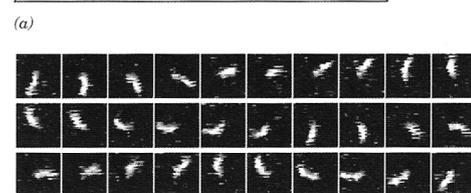
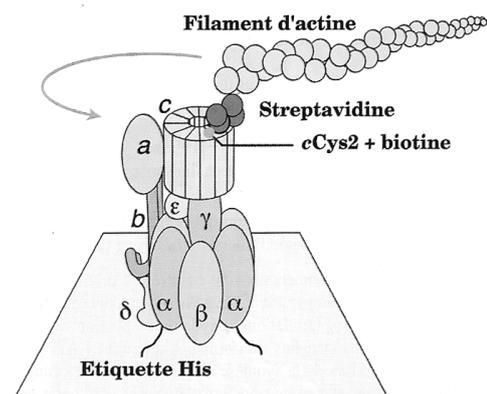
On observe une rotation du filament d'actine associé à la sous-unité gamma : couplage de l'hydrolyse d'ATP avec la rotation du rotor.

(in Voet et Voet, De Boeck 2005)

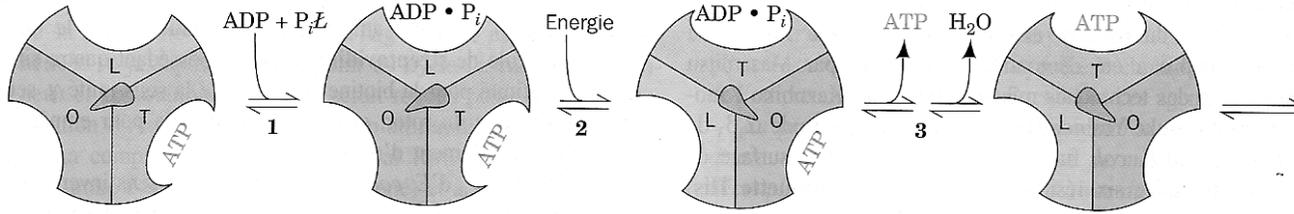
Films :

<http://www.k2.phys.waseda.ac.jp/F1movies/F1Prop.htm>

<http://www.k2.phys.waseda.ac.jp/F1movies/F1Step.htm>



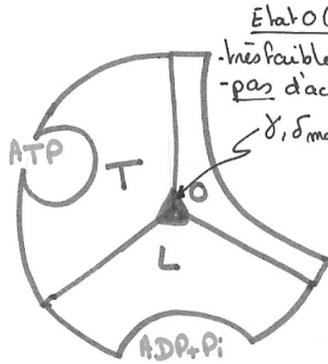
Rotation de l'anneau c dans l'ATPase-F₁F₀ d'*E. coli*.
 (a) Système expérimental utilisé pour observer la rotation. Voir le texte pour les détails. La flèche bleue indique la direction de la rotation observée pour le filament d'actine marqué par fluorescence fixé à l'anneau c.
 (b) Rotation d'un filament d'actine de 3,6 μm en présence de 5 mM MgATP observée en images vidéo successives prises en microscopie à fluorescence. [Avec la permission de Masamitsu Futai, Osaka University, Osaka, Japon.]



Mécanisme du changement d'affinité énergie-dépendant de la synthèse d'ATP par l'ATP synthase-pompe à protons. F_1 présente trois protomères interactifs $\alpha\beta$ chimiquement identiques mais de conformation différente : O, la conformation ouverte, a très peu d'affinité pour les ligands et est catalytiquement inactive ; L lie faiblement les ligands et est catalytiquement inactive ; T a une forte affinité pour les ligands et est catalytiquement active. La synthèse de l'ATP se fait en trois étapes : (1) Liaison de l'ADP et de P_i au site L. (2) Changement

conformationnel énergie-dépendant qui transforme les sites de liaison L en T, T en O, et O en L. (3) Synthèse de l'ATP au site T et libération d'ATP au site O. L'enzyme reprend son état initial après deux autres séries de cette séquence de réactions. L'énergie qui provoque les changements conformationnels semble transmise à l'assemblage catalytique $\alpha_3\beta_3$ par la rotation de l'assemblage $\gamma\epsilon$ (chez *E. coli* ; $\gamma\delta$ dans les mitochondries), représentée ici par l'objet asymétrique (vert) situé au centre. [D'après Cross, R.L., *Annu. Rev. Biochem.* 50, 687 (1980).]

Etat T (fermé)
 - forte affinité pour l'ATP et ADP, P_i
 - activité catalytique



Etat L (libre)
 - forte affinité
 - pas d'activité catalytique

Etat O (ouvert)
 - très faible affinité
 - pas d'activité catalytique

Diffusion de $3H^+$
 → rotation du rotor
 → changement de conformation
 → permutation des 3 sous-unités (fixes)

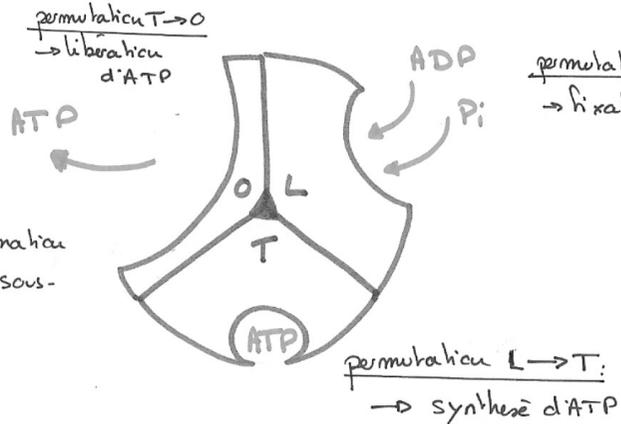


Figure 7 : Modèle de fonctionnement de l'ATP synthase

Figure 8 : l'ATP est utilisé dans de nombreux travaux cellulaires

Processus cellulaires	Exemples où l'ATP intervient	Type de couplage
Activation de précurseurs	Phosphorylation du glucose en G6P au début de la glycolyse.	Chimio -chimique
Régénération de molécules	Phosphorylation du GDP en GTP.	Chimio -chimique
Biosynthèse de molécules	Synthèse de la glutamine à partir de glutamate et de NH_4^+ .	Chimio -chimique
Biosynthèse de macromolécules	Formation de l'ADP-glucose (monomère polymérisable en amidon).	Chimio -chimique
Echange de matière	Transport de solutés contre le gradient de concentration via des pompes membranaires ou transports actifs primaires (Na^+ / K^+ ATPase, H^+ ATPase, Ca^{2+} ATPase).	Chimio -osmotique
Contraction	Armement et coup de force de la tête de myosine sur l'actine lors de la contraction musculaire.	Chimio -mécanique
Déplacement	Trans-conformation de la dynéine qui déplace les microtubules du flagelle assurant le déplacement du spermatozoïde.	Chimio -mécanique

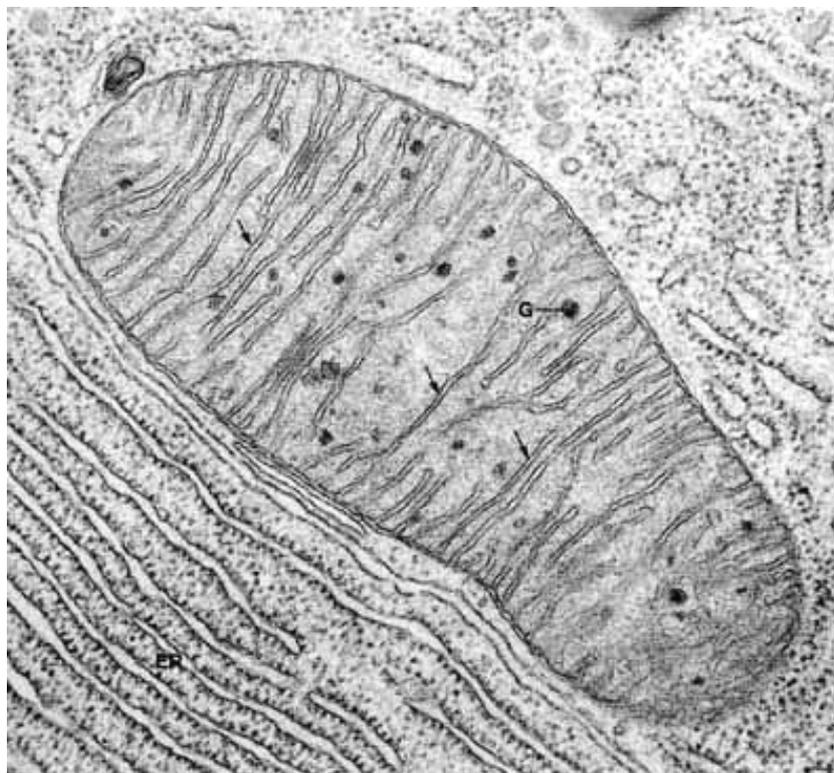
Figure 9 : Mitochondrie au microscope électronique à transmission (MET)

Figure 10a : Chloroplaste au MET

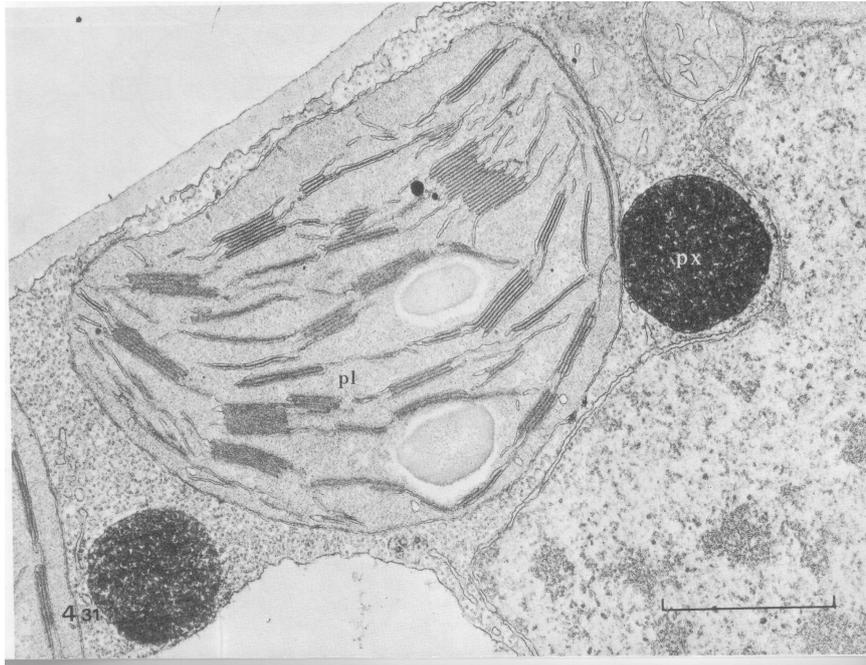


Figure 10b : Croquis d'un chloroplaste (in Robert et Rolland, Douin, 1989)

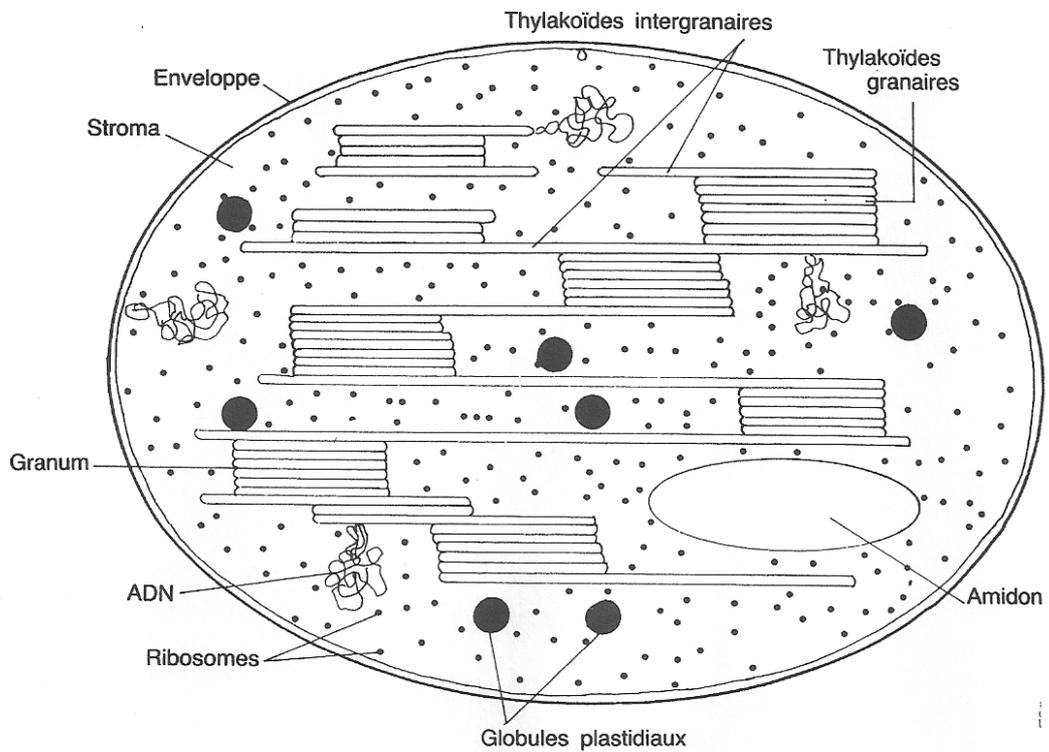
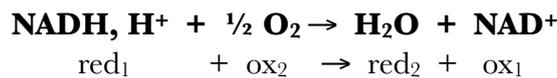
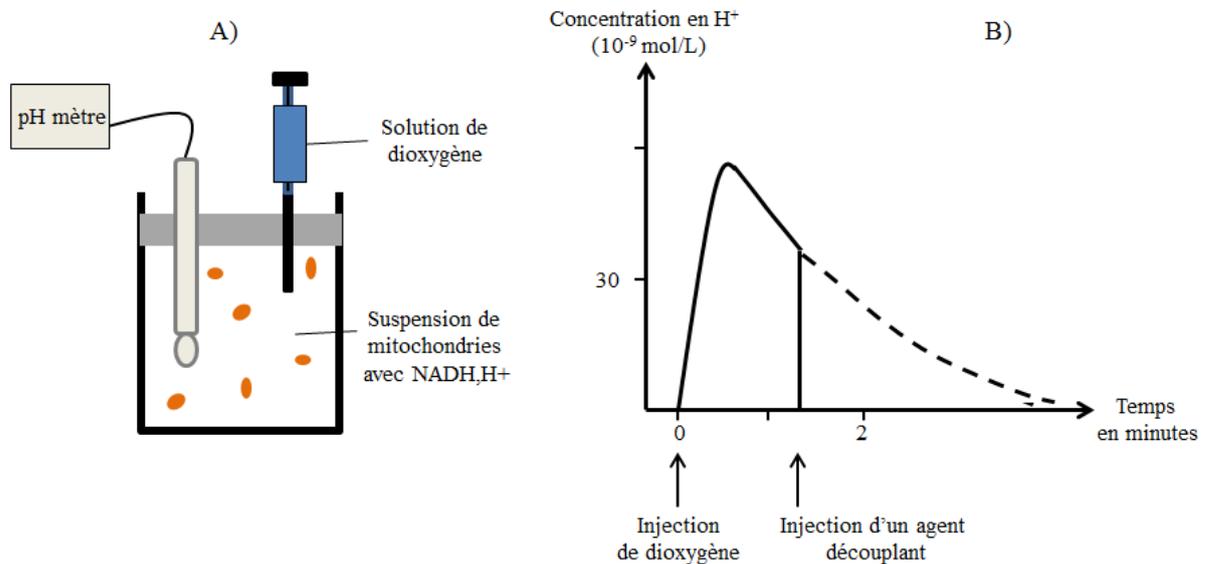


Figure 11 : Mise en évidence du transfert d'électrons entre le pouvoir réducteur et le dioxygène
(in Segarra et al.)



Avec comme demi-réactions :

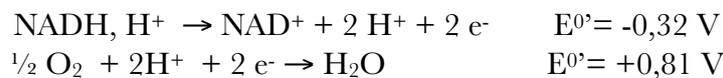
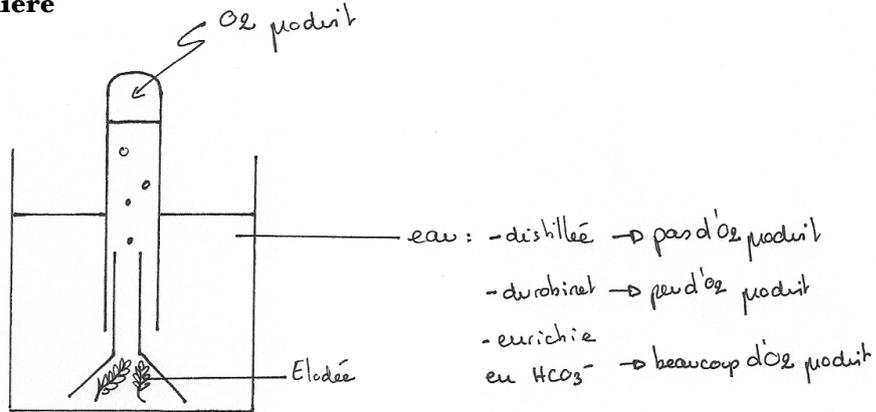
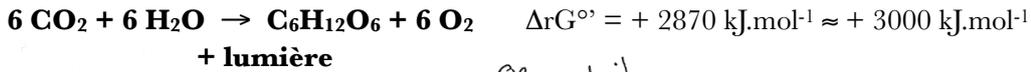


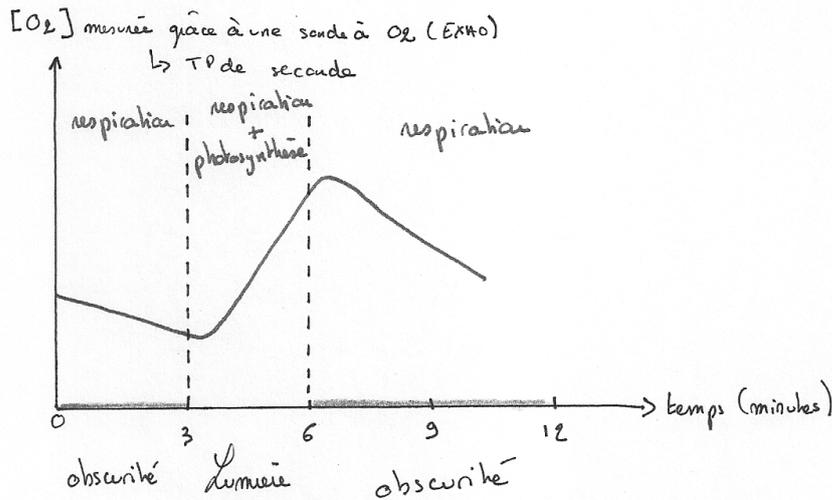
Figure 12 : Potentiel rédox des transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire

Redox reaction (half-reaction)	E ⁰ (V)
2H ⁺ + 2e ⁻ → H ₂	-0.414
NAD ⁺ + H ⁺ + 2e ⁻ → NADH	-0.320
NADP ⁺ + H ⁺ + 2e ⁻ → NADPH	-0.324
NADH dehydrogenase (FMN) + 2H ⁺ + 2e ⁻ → NADH dehydrogenase (FMNH ₂)	-0.30
Ubiquinone + 2H ⁺ + 2e ⁻ → ubiquinol	0.045
Cytochrome b (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome b (Fe ²⁺)	0.077
Cytochrome c _t (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome c _t (Fe ²⁺)	0.22
Cytochrome c (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome c (Fe ²⁺)	0.254
Cytochrome a (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome a (Fe ²⁺)	0.29
Cytochrome a ₃ (Fe ³⁺) + e ⁻ → cytochrome a ₃ (Fe ²⁺)	0.35
½O ₂ + 2H ⁺ + 2e ⁻ → H ₂ O	0.810

Figure 13 : rappels du lycée sur la photosynthèse
Équation-bilan de la photosynthèse :



Expérience montrant le dégagement d' O_2
en présence de CO_2



Effet de la lumière sur le dégagement d' O_2

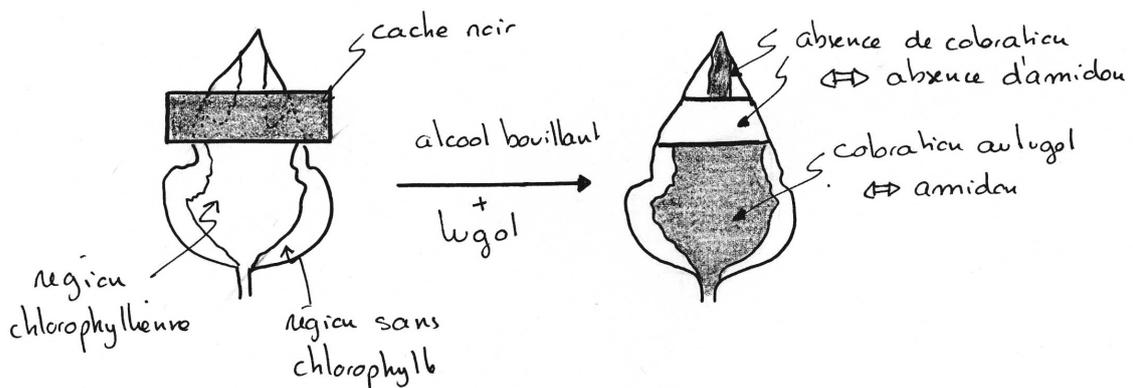


Figure 14 : expérience de Hill
(in Segarra et al.)

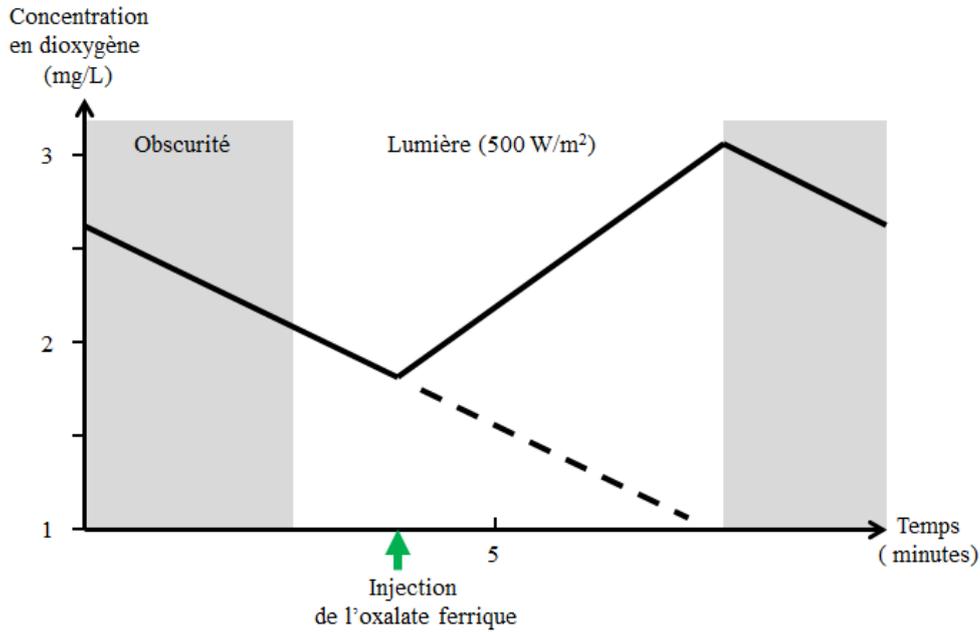
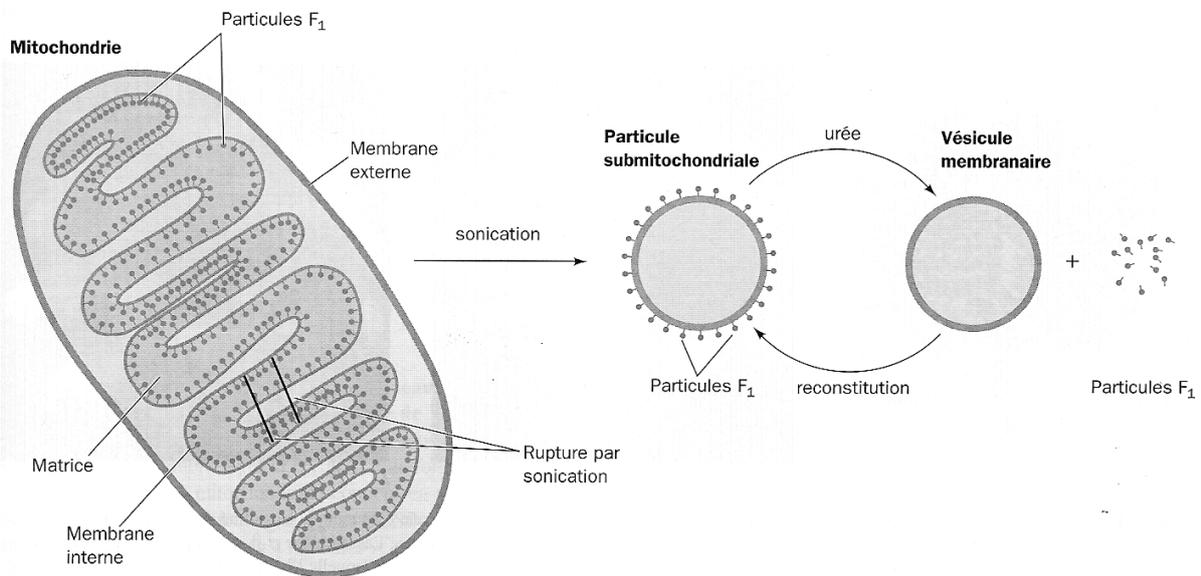


Figure 15 : Obtention de vésicules de membrane interne par sonication

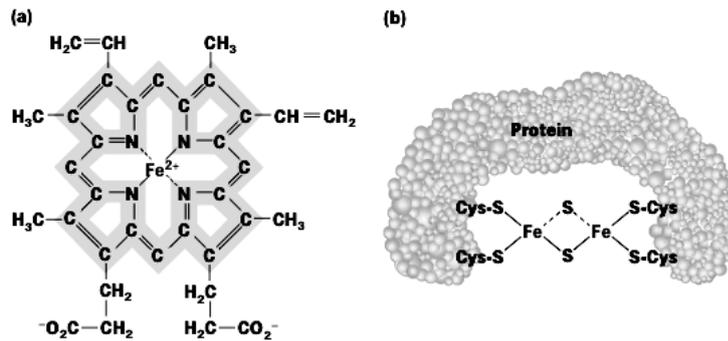
Les ultrasons fragmentent les crêtes de la membrane interne (in Voet et Voet, De Boeck, 2005)



Micrographies électroniques et dessins d'interprétation de la membrane mitochondriale à différents stades de « dissection ». (a) Crêtes de mitochondrie intactes montrant les particules F₁ se projetant dans la matrice. [D'après Parsons, D.F., *Science* **140**, 985 (1963). Copyright (c) 1963 American Association for the Advancement of Science. Avec autorisation.] (b) Particules submitochondriales mon-

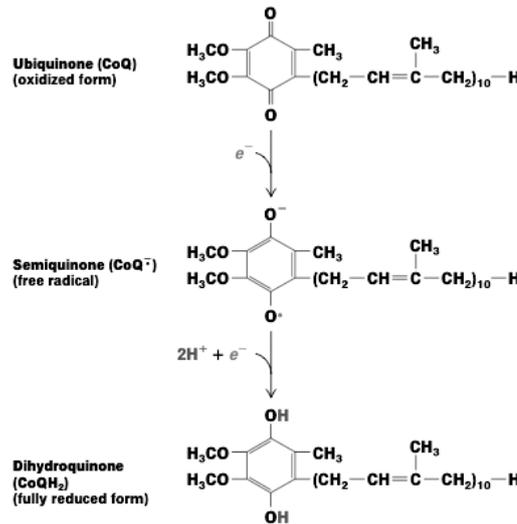
trant leurs « champignons » F₁ se projetant à l'extérieur. Les particules submitochondriales sont préparées par ultrasonication de membranes internes mitochondriales [Avec la permission de Peter Hinkle, Cornell University.] (c) Particules submitochondriales après traitement à l'urée. [Avec la permission d'Efraim Racker, Cornell University.]

Figure 16 : Structure des transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire mitochondriale (membrane interne)
(in Lodish, 5ème édition)



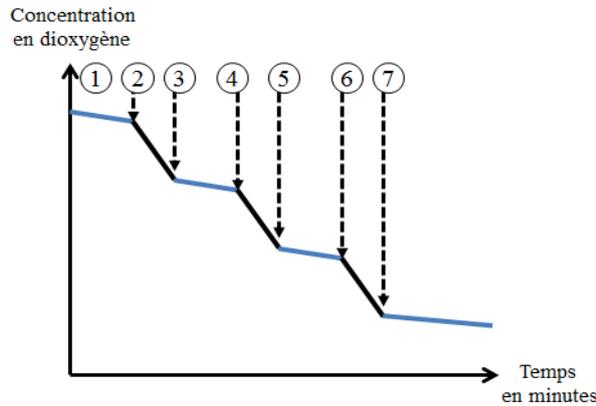
Heme and iron-sulfur prosthetic groups in the respiratory (electron-transport) chain. (a) Heme portion of cytochromes b_L and b_H , which are components of the CoQH_2 -cytochrome c reductase complex. The same porphyrin ring (yellow) is present in all hemes. The chemical substituents attached to the porphyrin ring differ in the other cytochromes in

the respiratory chain. All hemes accept and release one electron at a time. (b) Dimeric iron-sulfur cluster ($2\text{Fe}-2\text{S}$). Each Fe atom is bonded to four S atoms: two are inorganic sulfur and two are in cysteine side chains of the associated protein. (Note that only the two inorganic S atoms are counted in the chemical formula.) All Fe-S clusters accept and release one electron at a time.



Oxidized and reduced forms of coenzyme Q (CoQ), which carries two protons and two electrons.
Because of its long hydrocarbon "tail" of isoprene units, CoQ is soluble in the hydrophobic core of phospholipid bilayers and is very mobile. Reduction of CoQ to the fully reduced form, QH_2 , occurs in two steps with a half-reduced free-radical intermediate, called *semiquinone*.

Figure 17 : Détermination de la séquence des transporteurs d'électrons de la chaîne respiratoire
(d'après CAPES 2004)



Toute diminution de la concentration en dioxygène suggère que ce dernier est réduit en eau (H_2O).

- 1) Les mitochondries sont placées dans une solution tampon avec de l'ADP et du Pi en excès, la consommation du dioxygène est minimale.
- 2) Addition de malate et d'ADP. L'oxydation du malate produit du $NADH, H^+$
- 3) Ajout de roténone (toxine végétale) qui bloque le transfert des électrons $NADH, H^+$ au niveau du cxI
- 4) Ajout de succinate et d'ADP. L'oxydation du succinate produit du $FADH_2$.
- 5) Ajout d'antimycine A (antibiotique) qui bloque l'oxydation à la fois du $NADH, H^+$ et du $FADH_2$.
- 6) Addition d'ascorbate et de TMPD : le TMPD est un transporteur d'électrons réduit par l'ascorbate et qui transfère ses électrons directement au cytochrome c.
- 7) Ajout de cyanure de potassium (KCN).

Figure 18 : la chaîne respiratoire mitochondriale A CONNAITRE

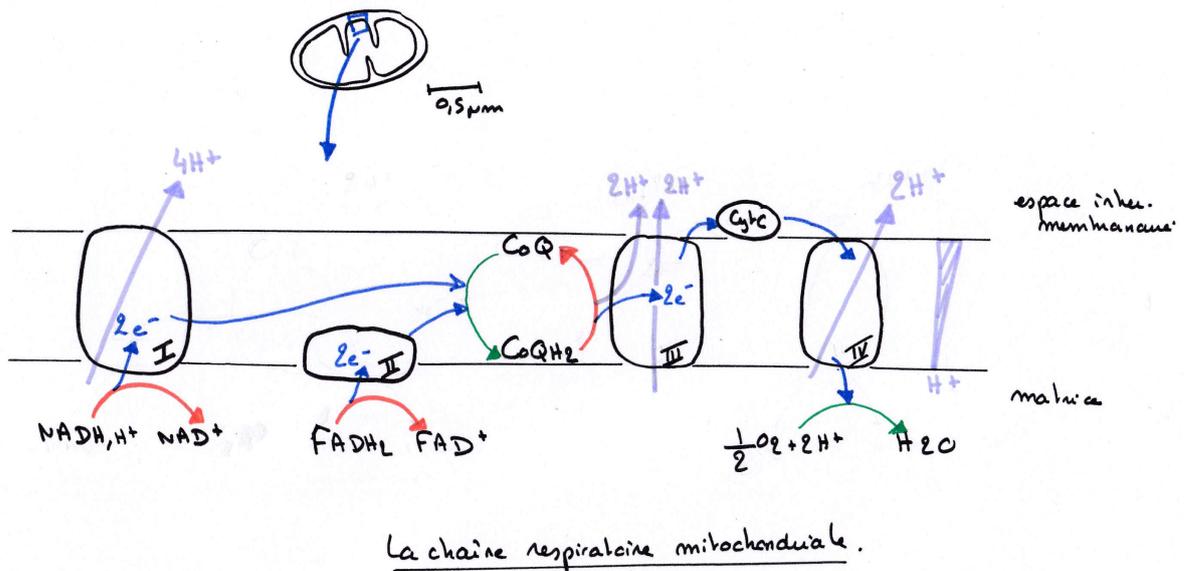


Figure 19 : Séparation des pigments par chromatographie sur papier

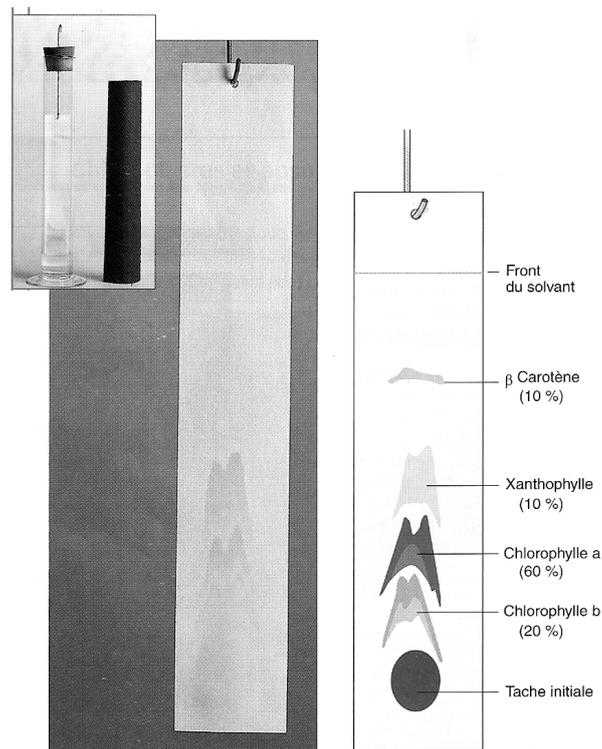
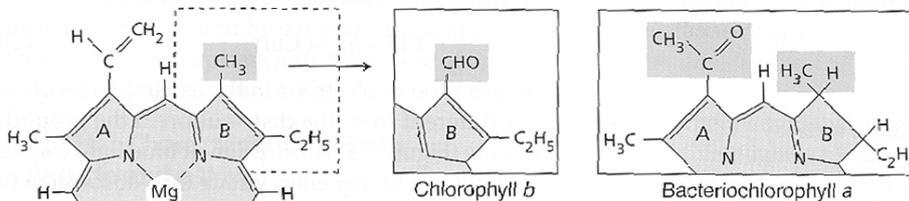
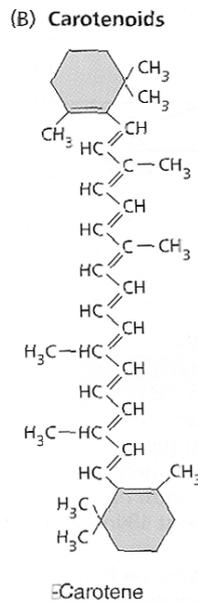


Figure 20a : Structure des pigments (in Taiz et Zeiger, Sinauer ed., 2002)

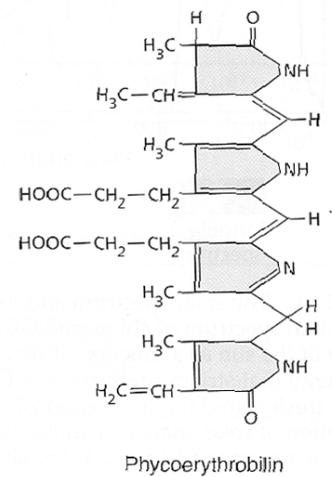
(A) Chlorophylls



(B) Carotenoids



(C) Bilin pigments



Chlorophyll a

Figure 20b : Structure simplifiée des pigments : chlorophylle et caroténoïdes

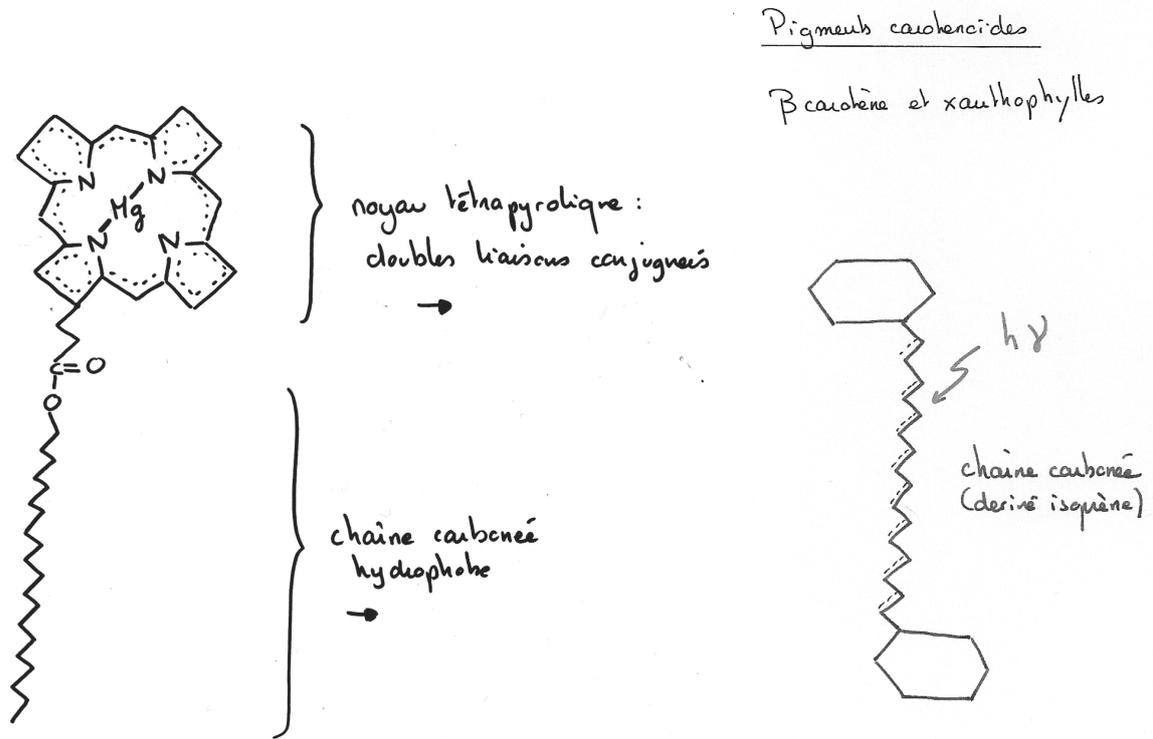


Figure 21 : spectre d'action de la lumière blanche sur la photosynthèse/ spectre d'absorption

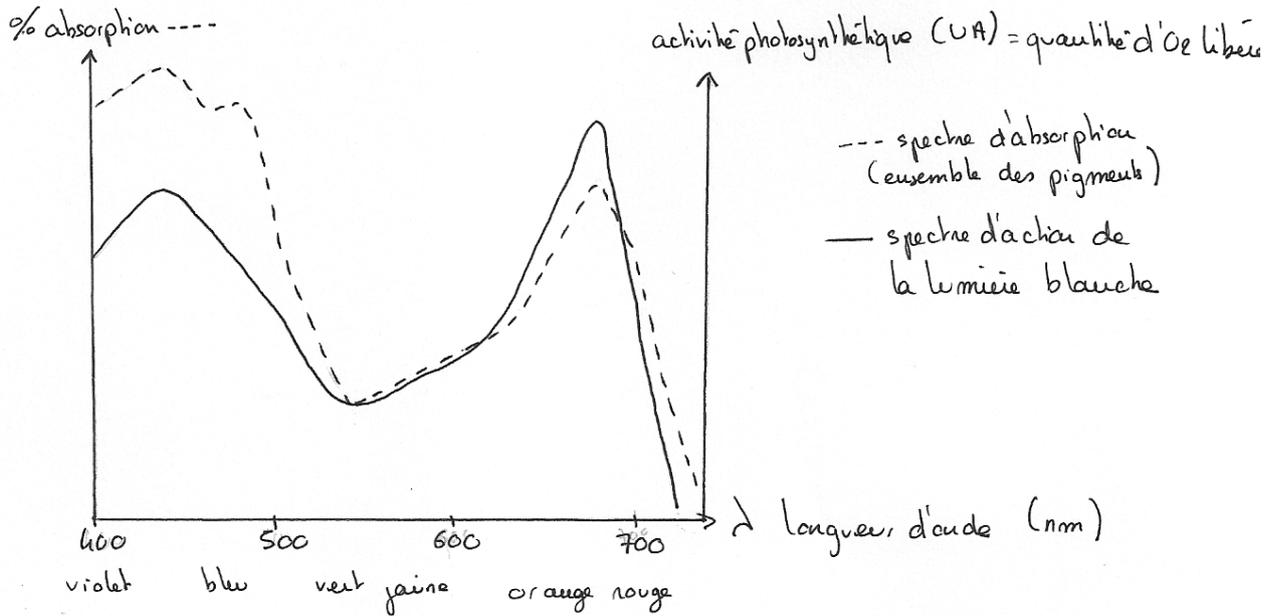


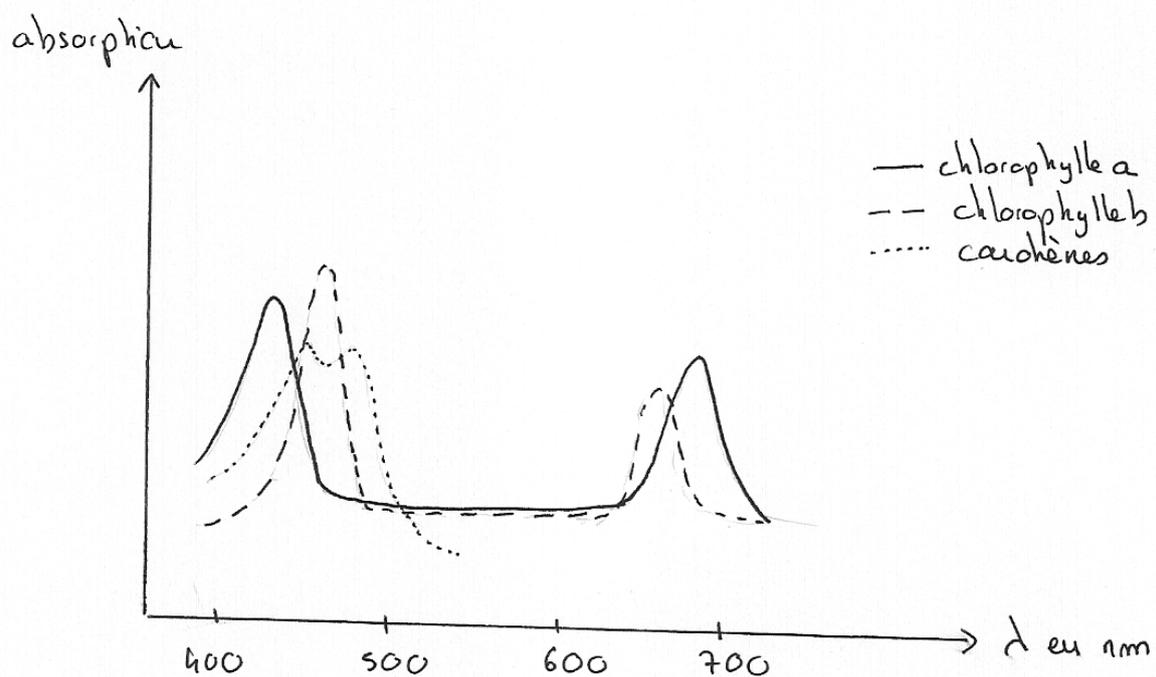
Figure 22 : spectre d'absorption des différents pigments chlorophylliens

Figure 23 : expérience d'Emerson et Arnold
Etude du rapport entre la quantité de lumière fournie à des
chlorelles et le dégagement de dioxygène hors programme

Emerson et Arnold mesurent la production d'oxygène émise par des éclairs lumineux très brefs (inférieurs à 1 ms) envoyés en rafales d'une dizaine de secondes et **d'intensité variable**. La durée très brève de l'éclair laisse supposer que l'appareil photosynthétique conduisant à la libération de O_2 n'est excité qu'une fois pour chaque éclair.

Ils mesurent donc la production d'oxygène associée à une rafale puis ils expriment cette production par éclair ($QO_2/\text{éclair}$) en moles $O_2/\text{éclair}$.

Résultats :

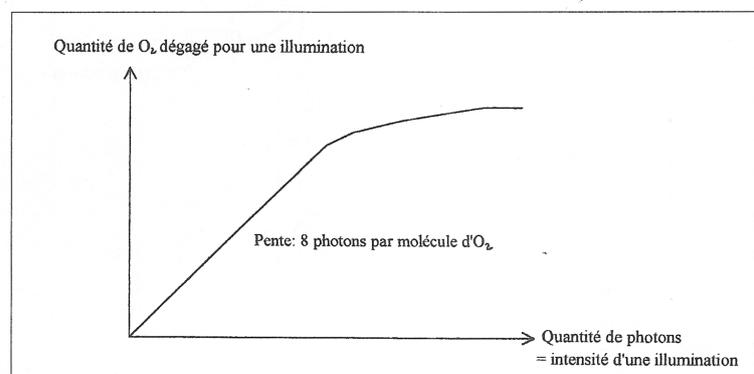
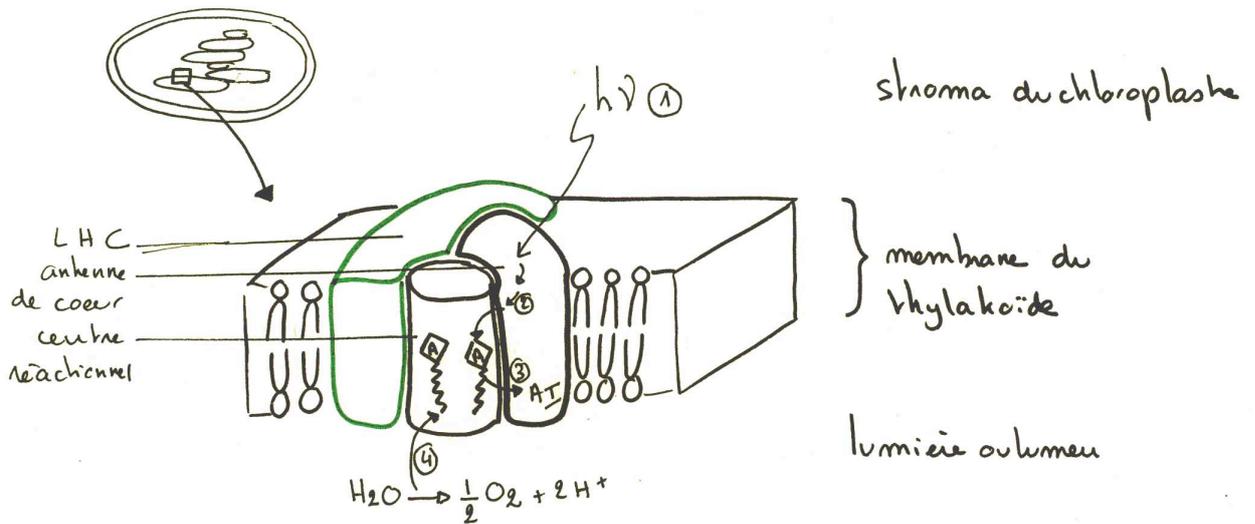


Figure 24 : organisation d'un photosystème

Chez les plantes supérieures, PSI est un complexe multiprotéique qui forme (figure ci-contre) :

- **un centre photochimique** constitué de 14 protéines distinctes : associées à une centaine de molécules de Chl a qui forment l'"antenne coeur »
- **une antenne collectrice supplémentaire appelée LHC**. Elle est constituée de 4 protéines distinctes associées à des pigments.



- ① capture d'un photon par des pigments
- ② transmission de l'excitation de pigment en pigment par résonance
- ③ changement de pot redox de la chloro a du coeur réactionnel
→ perte d'un e^- ($\rightarrow P680^+$) et retour à l'état fondamental = ox. fort
- ④ réduction de la chlorophylle a par l'eau.

Figure 25 : Fonctionnement du centre photochimique

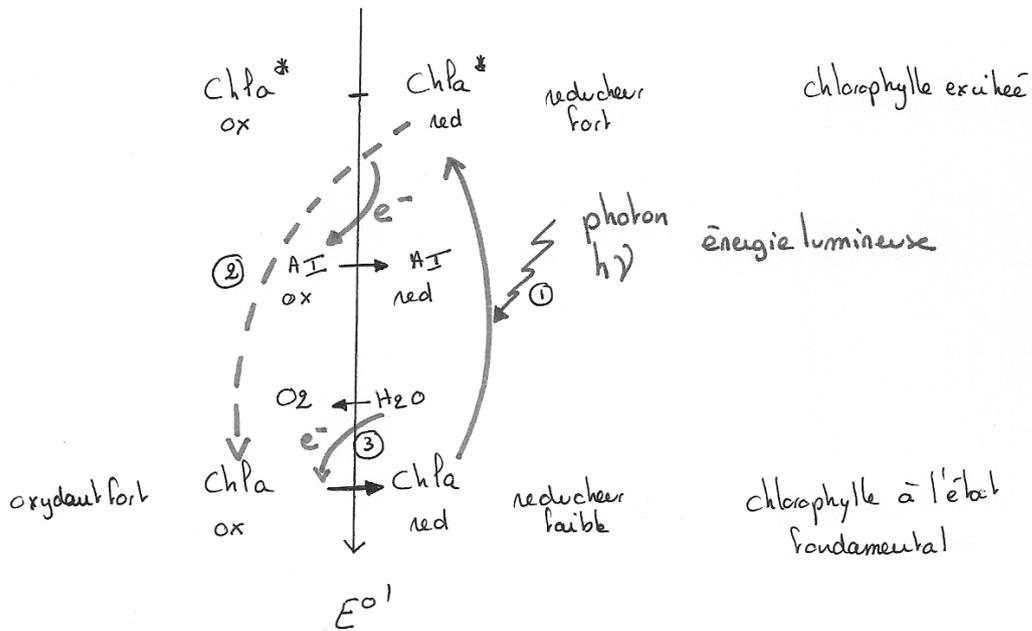
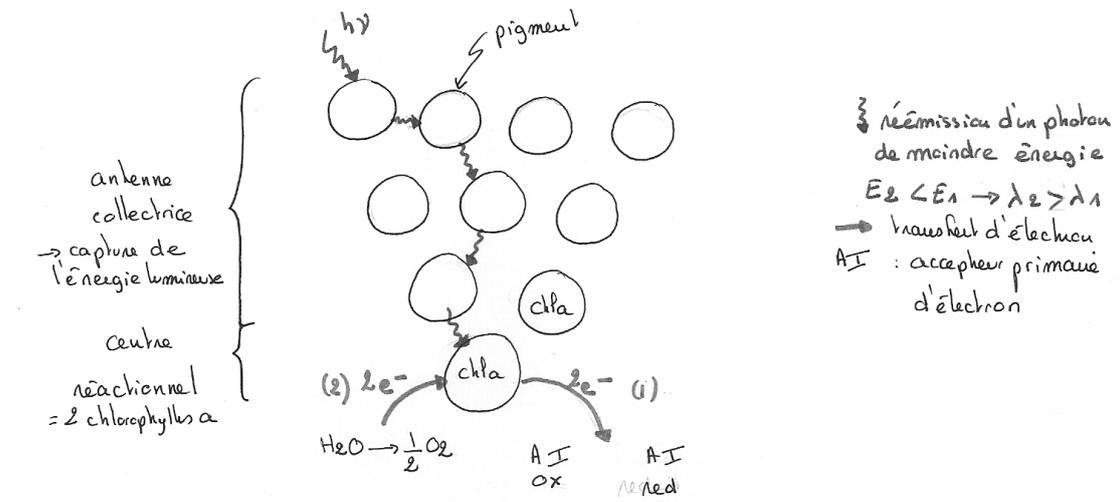


Figure 26 : Expérience d'Emerson : mise en évidence l'existence de deux photosystèmes en série chez les Eucaryotes hors programme

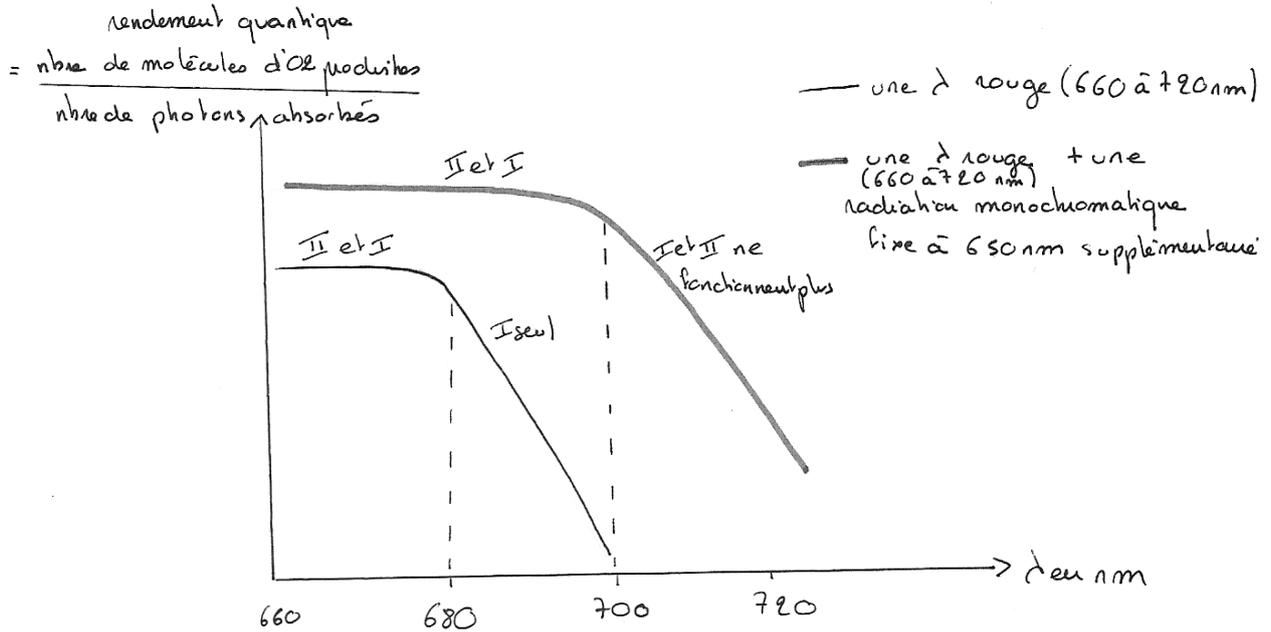


Figure 27 : Insertion dans la membrane du thylakoïde
 (in Lehninger et al., WH Freeman and Company, 2008)

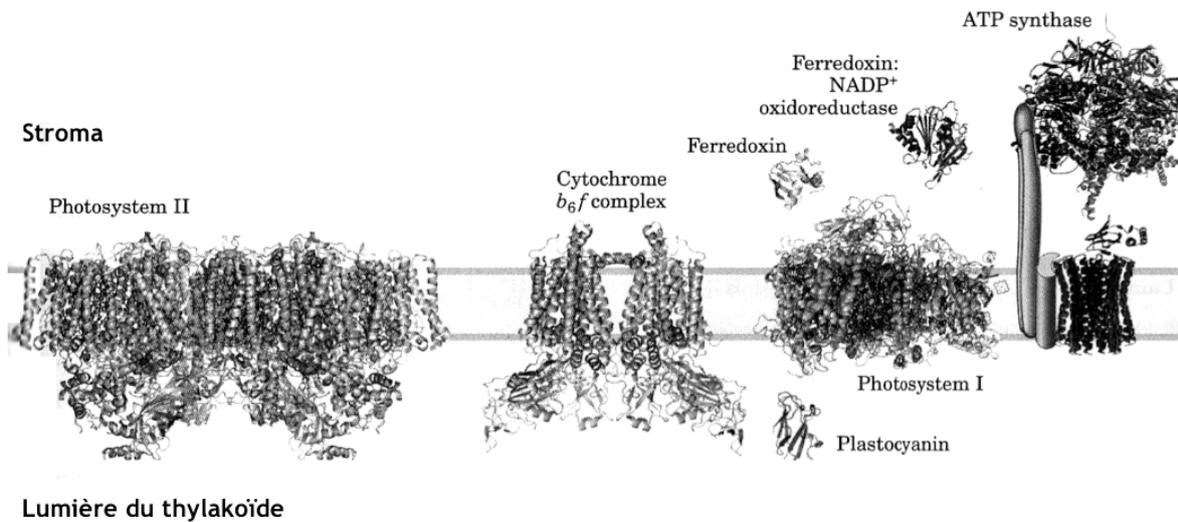


Figure 28 : Potentiel rédox standard apparent des couples oxydant-réducteur de la chaîne photosynthétique

Couple redox	E°' (V)
O ₂ / H ₂ O	+ 0,82
P ₆₈₀ ⁺ / P ₆₈₀	+ 0,9
P ₆₈₀ ⁺⁺ / P ₆₈₀ [*]	-0,8
Plastoquinone (ox/red)	0
Complexe b6-f (ox/red)	+ 0,2
P ₇₀₀ ⁺ / P ₇₀₀	+ 0,4
P ₇₀₀ ⁺⁺ / P ₇₀₀ [*]	-1,3
Ferredoxine (ox/red)	-0,42
NADP ⁺ / NADPH, H ⁺	-0,32

Figure 28a : modèle de la chaîne photosynthétique

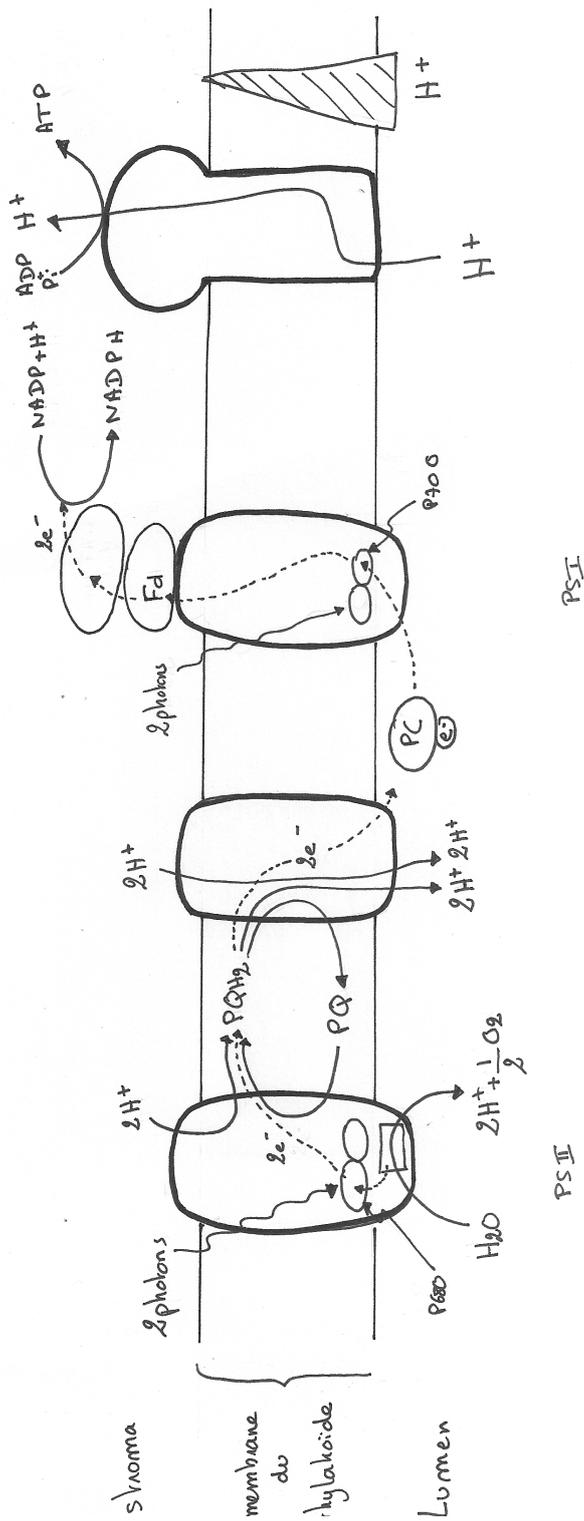


Figure 28b : Bilan des conversions énergétiques dans le thylakoïde

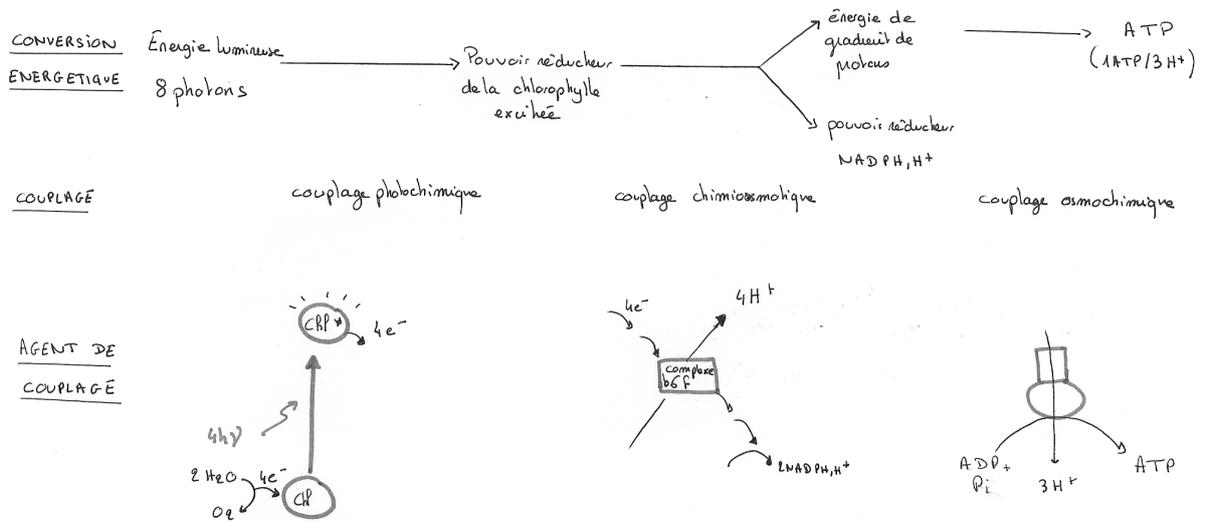


Figure 29 : Transferts d'électrons le long de la chaîne photosynthétique : schéma en Z

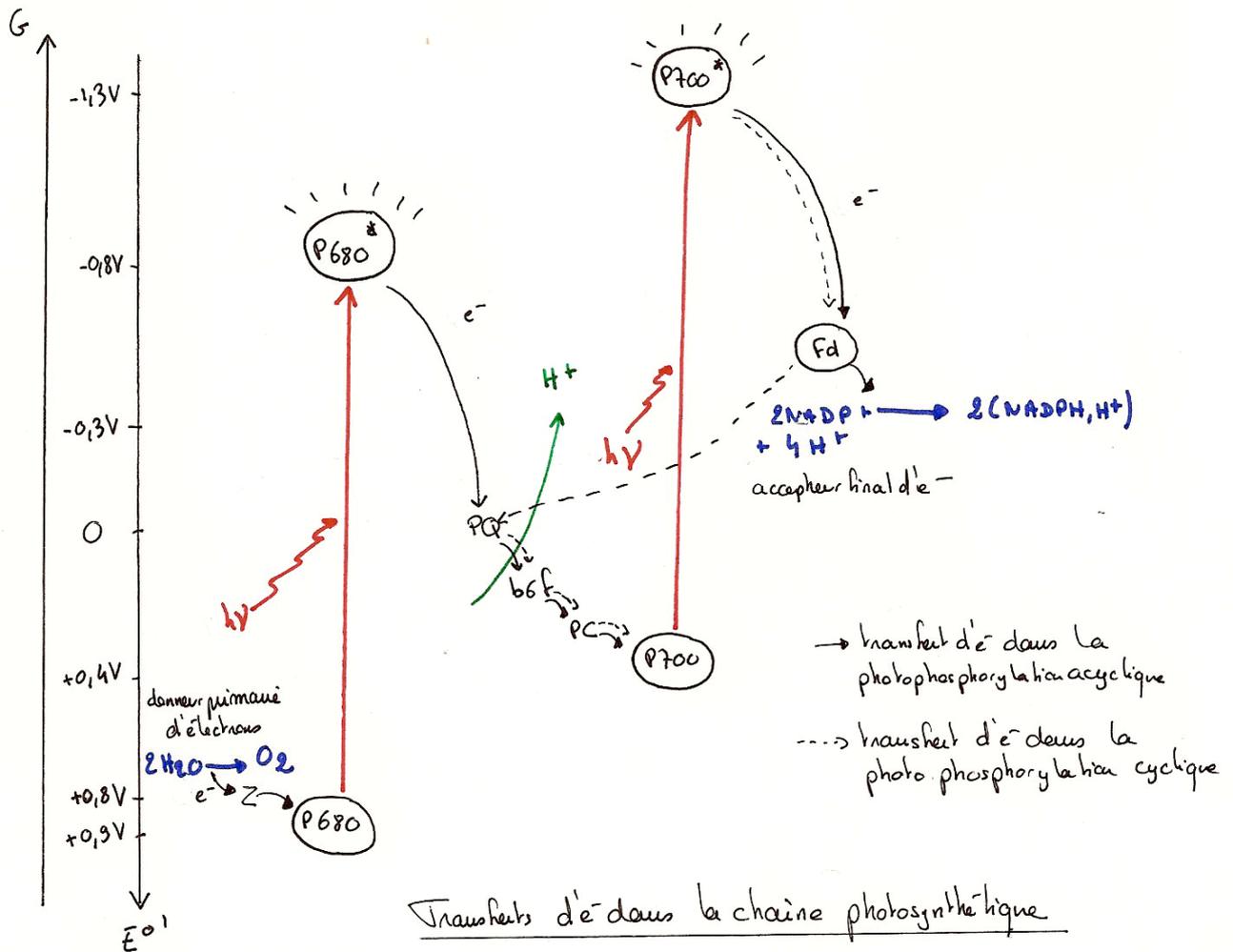


Figure 30 : transfert d'électrons le long de la chaîne respiratoire mitochondriale

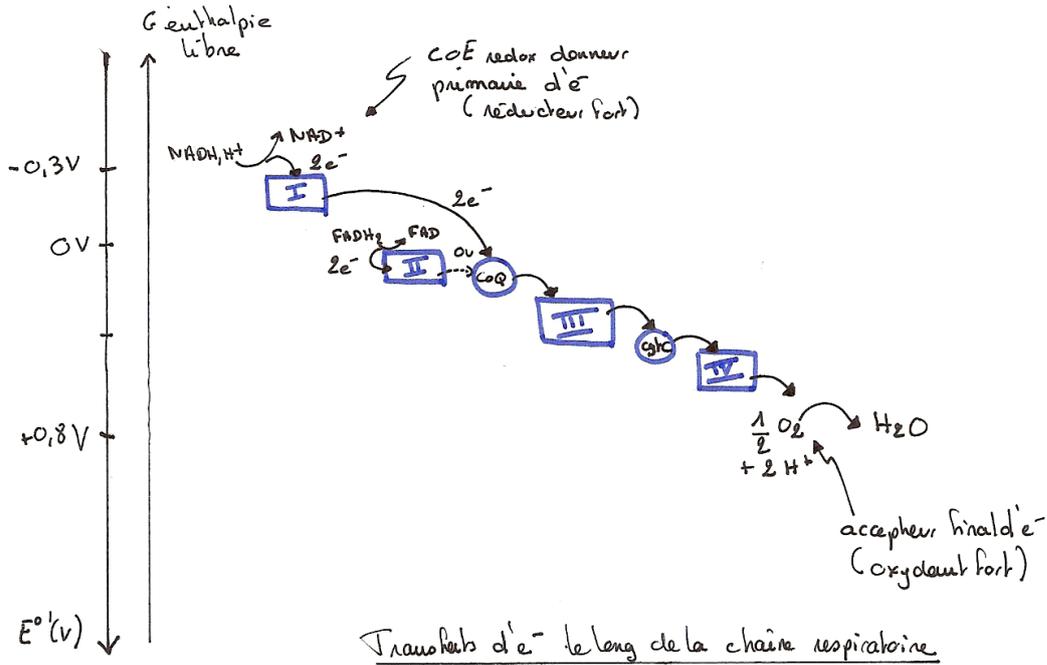


Figure 31 : Modèle de translocation de protons chez le complexe cytochrome *bc*₁ (complexe III de la chaîne respiratoire) (in Dunod et al.)

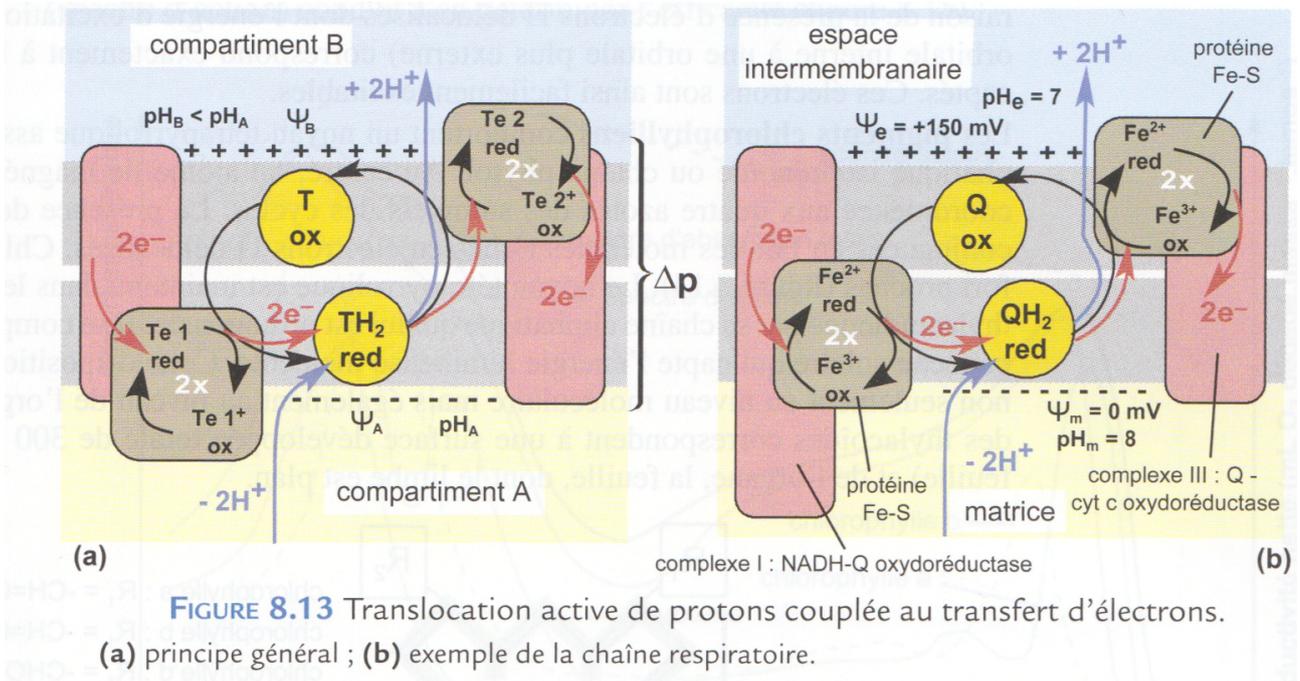


FIGURE 8.13 Translocation active de protons couplée au transfert d'électrons. (a) principe général ; (b) exemple de la chaîne respiratoire.

Figure 32 : mise en évidence d'un couplage osmo-chimique au niveau de la mitochondrie

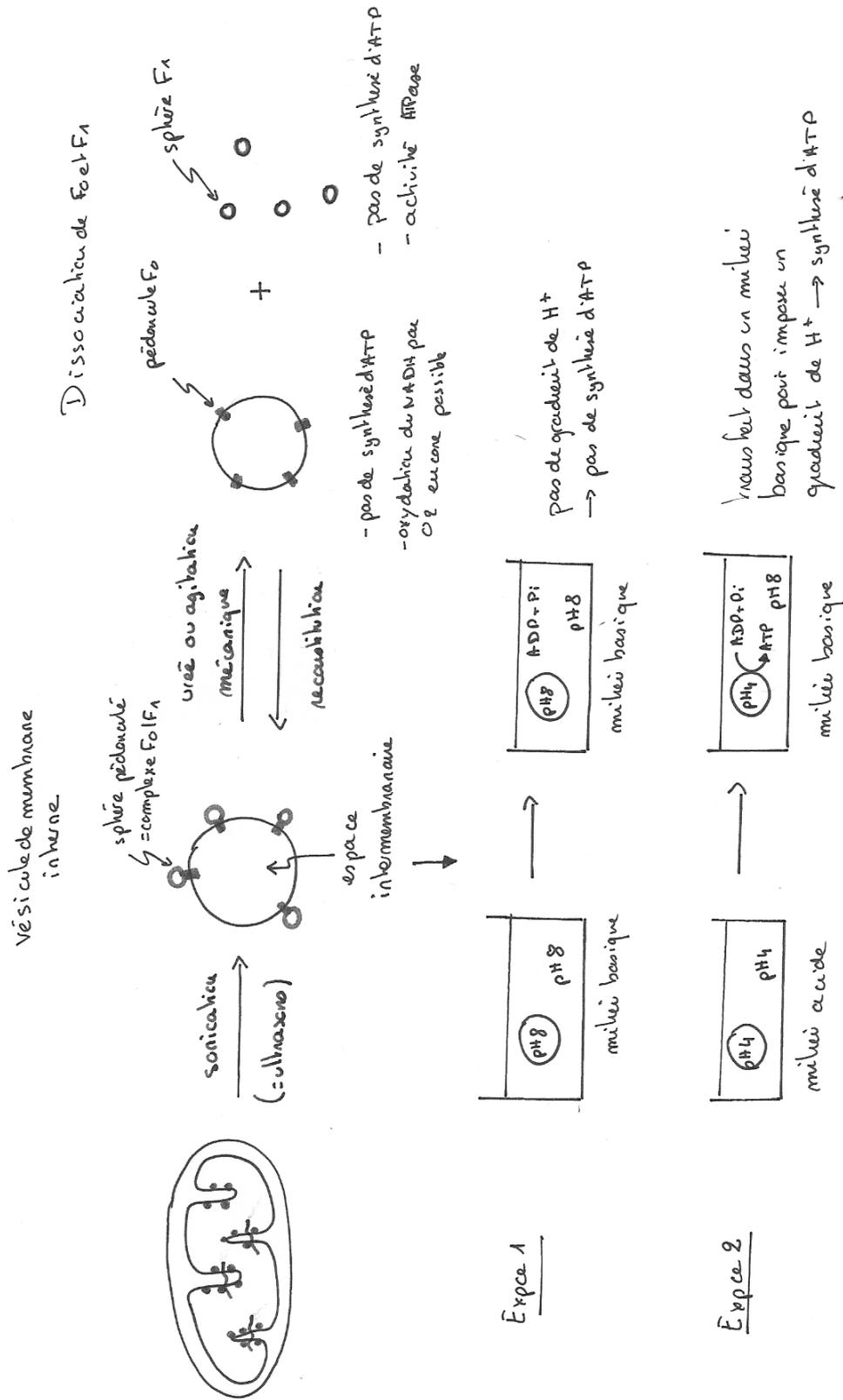
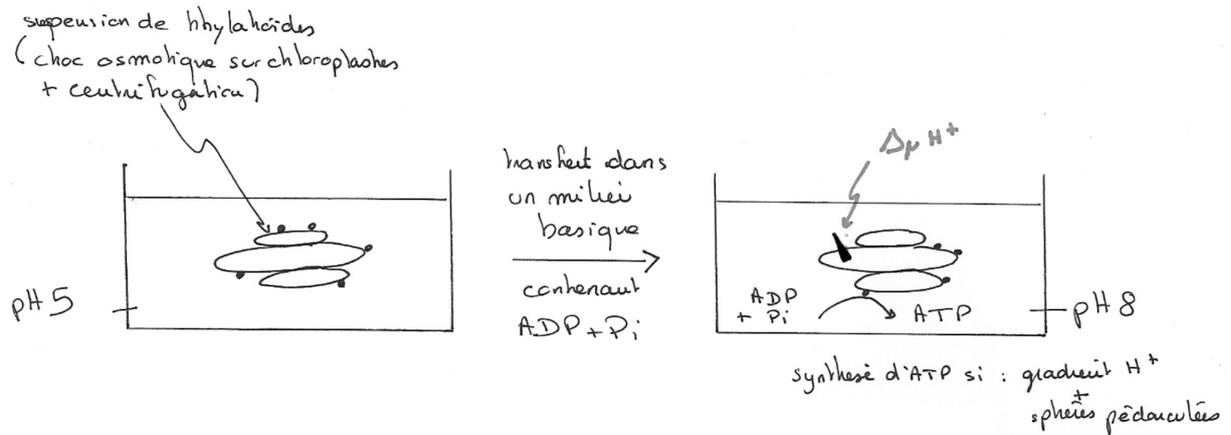
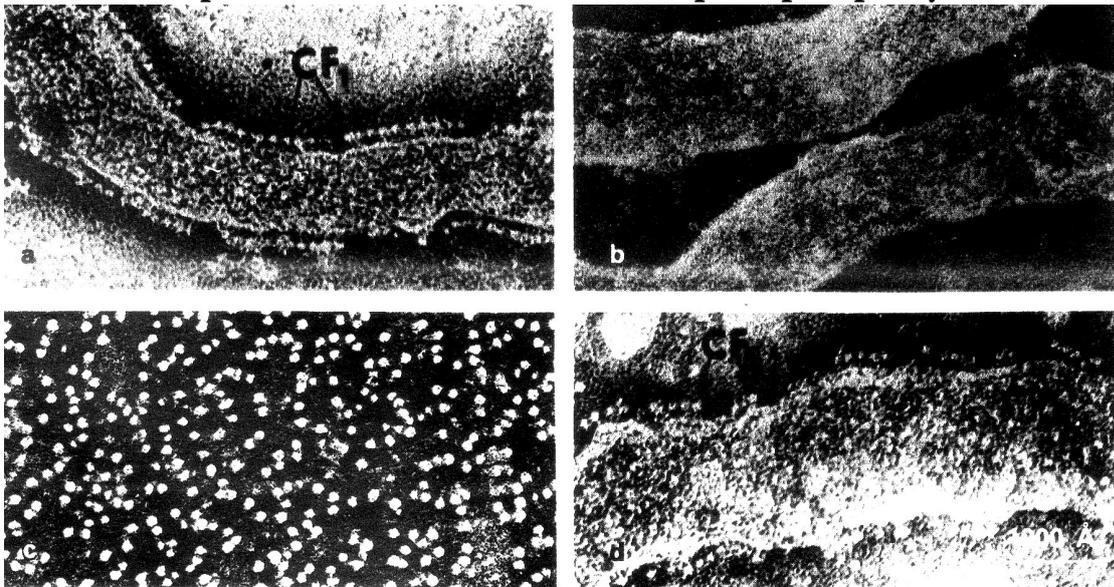


Figure 33 : mise en évidence d'un couplage osmo-chimique au niveau du chloroplaste**Figure 34 : Observation des sphères pédonculées dans des fractions de chloroplastes au MET avec coloration négative.****Capacité des fractions à réaliser la photophosphorylation**

a. Portion de thylakoïde isolé : réalise la photophosphorylation (synthèse d'ATP à partir d'ATDP et P_i en présence de lumière).

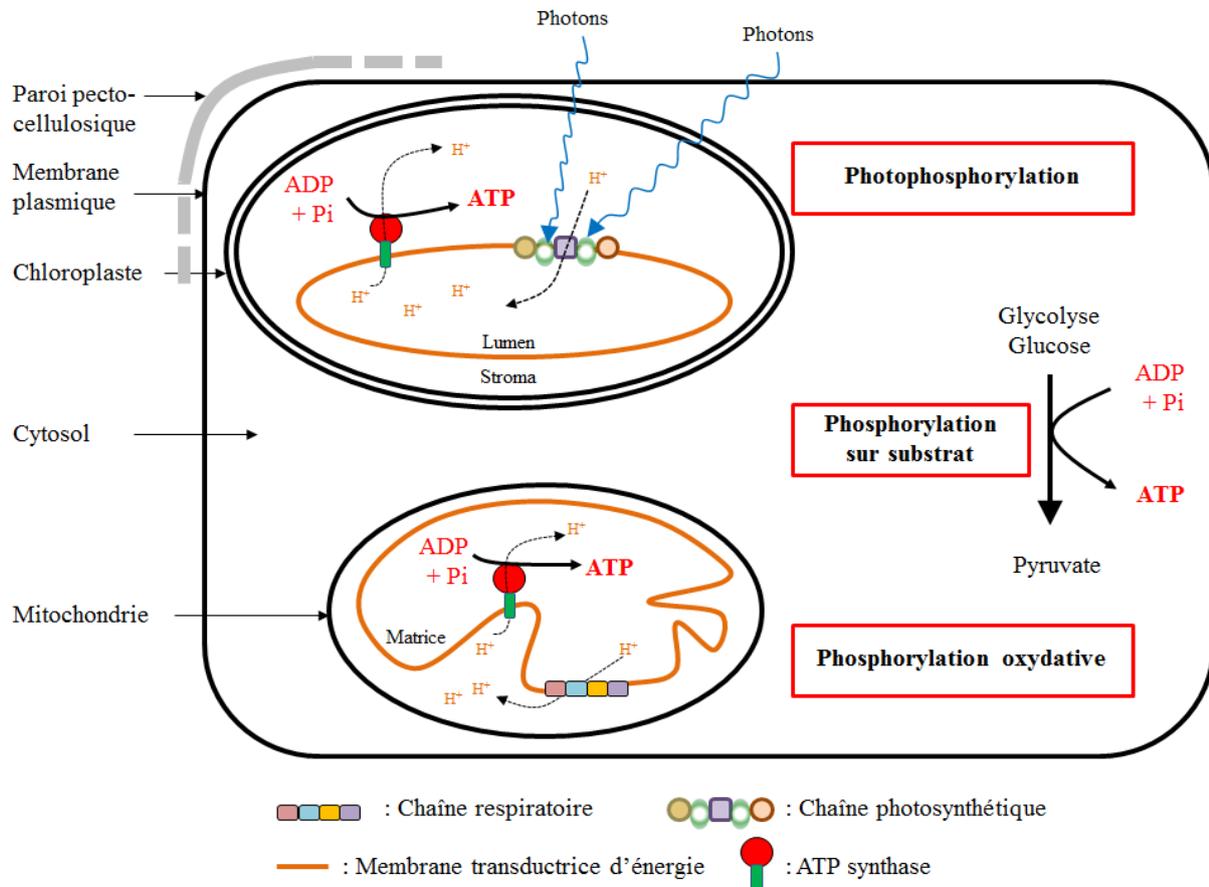
Dissociation des sphères CF1 des thylakoïdes : (par détergent ou traitement mécanique)

b. Thylakoïdes dénudés : pas de photophosphorylation.

c. Sphères CF1 isolées (détachées de la membrane des thylakoïdes).

d. Reconstitution de thylakoïde par addition de CF1 isolées (b) à des thylakoïdes dénudés (c) : photophosphorylation.

Figure 35 : modes de formation de l'ATP dans une cellule végétale chlorophyllienne
(in Segarra et al.)



Type de phosphorylation	Lieu	Origine du gradient de H ⁺	Nombre de H ⁺ déplacés	ATP formé	Types de couplage
Phosphorylation oxydative	Membrane interne mitochondriale	Chaîne respiratoire	10 H ⁺ par NADH, H ⁺ 6 H ⁺ par FADH ₂	3 2	Chimio-osmotique puis osmo-chimique
Photophosphorylation acyclique	Membrane du thylakoïde	Toute la chaîne photosynthétique	12 H ⁺ par O ₂ formé	4	Photo-osmotique puis osmo-chimique
Photophosphorylation cyclique	Membrane du thylakoïde	Une partie de la chaîne photosynthétique	Nombreux	oui	Photo-osmotique puis osmo-chimique
Phosphorylation sur substrat	Cytosol, mitochondrie	-	-	1	Chimio-chimique

Figure 36 : Diversité des types trophiques selon la source d'électrons et d'énergie (les photo-organotrophes ne sont pas au programme)

(in Segarra et al.)

		Source d'énergie		
		Energie lumineuse	Energie chimique	
Source d'électrons	Molécule minérale H ₂ O, H ₂ S, NH ₄ ⁺	Photo-lithotrophes Bactéries, végétaux chlorophylliens	Chimio-lithotrophes Bactéries	Autotrophes pour le carbone
	Molécule organique Glucose ...	Photo-organotrophes Bactéries, eucaryotes unicellulaires	Chimio-organotrophes Bactéries, champignons, animaux	Hétérotrophes pour le carbone

Figure 37 : Photosynthèse chez les bactéries pourpres sulfureuses

(in Segarra et al.)

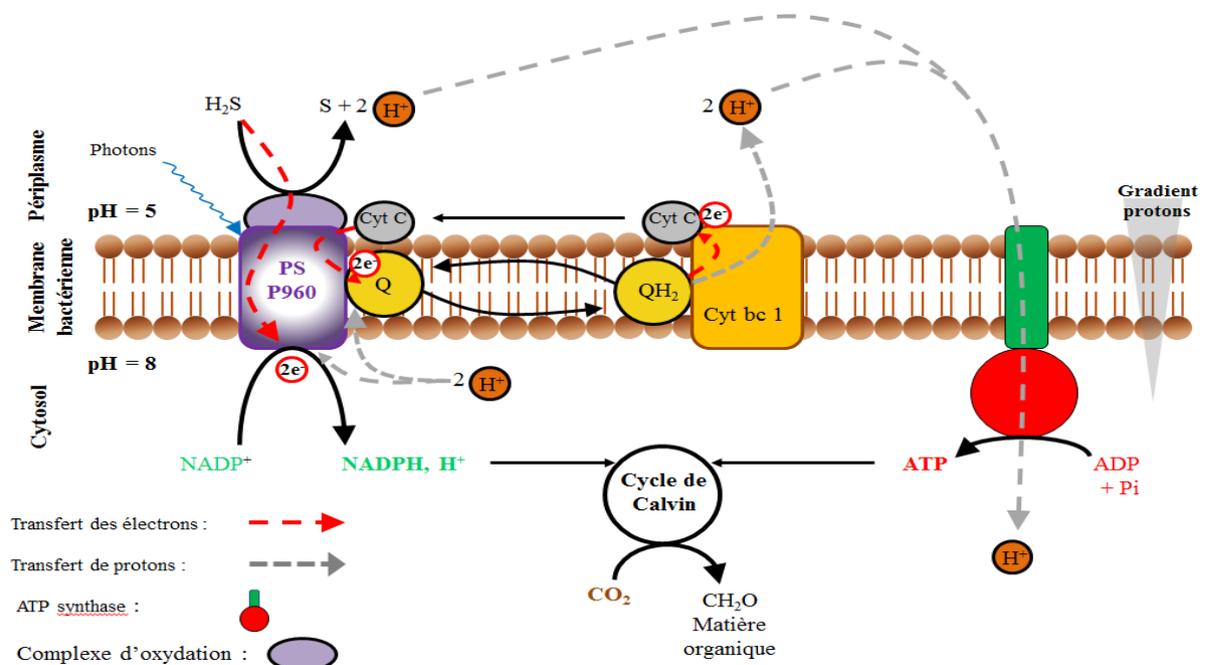


Figure 38 : Arguments en faveur de la théorie endosymbiotique

En 1883, Schimper suggère l'idée que les plastes pouvaient être des microbes à pigments chlorophylliens incorporés par un autre organisme unicellulaire, il vient de jeter les bases de la **théorie endosymbiotique**. Celle-ci considère que plastes et mitochondries seraient, à l'origine, des bactéries ingérées et vivant en symbiose dans une cellule primitive. Depuis les années 1970, divers arguments basés sur la comparaison de ces organites avec les procaryotes tendent à valider cette hypothèse.

Ressemblances structurales

- La **taille** de ces organites est proche de celle des bactéries (1 à quelques micromètres)
- Le **métabolisme** de ces organites fait intervenir une chaîne de transfert d'électrons et des ATP synthases semblables à celles des procaryotes photosynthétiques telles les cyanobactéries ou des procaryotes hétérotrophes.
- Chaque organite possède son **matériel génétique**. Les ADN plastidiaux et mitochondriaux sont circulaires, à double brin et non associés à des histones comme chez les procaryotes.
- Les **ribosomes** de ces organites possèdent comme les procaryotes une sensibilité commune à certains antibiotiques et une taille de 70 Svedberg alors que les ribosomes eucaryotes du cytosol sédimentent à 80 Svedberg.
- Ces organites sont à **double membrane**, la membrane externe correspondrait à une membrane de séquestration.

Ressemblances biochimiques

- La membrane externe de ces organites est une membrane d'eucaryote classique dans sa composition, par contre les membranes internes présentent des phospholipides originaux comme des cardiolipides et des galactolipides qu'on retrouve dans la membrane plasmique de certains procaryotes.
- 800 protéines mitochondriales possèdent une parenté avec les protéines d'une protéobactérie du genre *Rickettsia*.

Ressemblances fonctionnelles

- La **multiplication** de ces organites se réalise, comme chez les bactéries, **par scissiparité** et de façon indépendante du cycle cellulaire.

Tous ces arguments sont en faveur de la théorie. On pense que l'endosymbiose a pu se manifester de différentes façons et à plusieurs reprises au cours de l'évolution. Soit par ingestion d'une bactérie par un eucaryote primitif, on parle d'**endosymbiose primaire** ou bien entre eucaryotes, on évoque une **endosymbiose secondaire**.

