

LA PHOTOSYNTHÈSE

La phase photochimique.

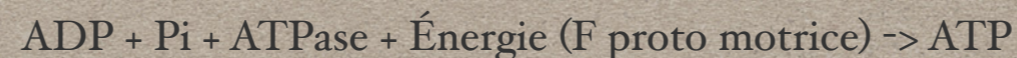
L'énergie lumineuse des photons excite la chlorophylle qui transfère ses électrons via une chaîne d'accepteurs localisés dans la membrane des thylakoïdes vers un accepteur final R oxydant qui se trouve alors réduit en RH_2 . Il s'agit d'un couplage entre l'oxydation de la chlorophylle et la réduction de l'accepteur final:

- Oxydation de la chlorophylle: $4 \text{ Chl réduites} \rightarrow 4 \text{ Chl}^* \text{ oxydées} + 4 e^-$
- Réduction de l'accepteur final: $2 R + 4 H^+ + 4 e^- \rightarrow 2 RH_2$

Les chlorophylles ayant perdu un électron se retrouvent oxydées (photo-excitation). Il y a eu conversion de l'énergie lumineuse en énergie chimique (RH_2) grâce aux propriétés des pigments chlorophylliens. Pour pouvoir absorber à nouveau des photons, les chlorophylles oxydées doivent revenir à leur état initial (état fondamental) en étant réduites; pour cela elles acceptent (elles arrachent) des électrons de l'eau provoquant ainsi l'oxydation de l'eau dans le lumen et la libération de dioxygène. Il s'agit d'un couplage entre la réduction de la chlorophylle et l'oxydation de l'eau:

- Réduction de la chlorophylle: $4 \text{ Chl}^* \text{ oxydées} + 4 e^- \rightarrow 4 \text{ Chl réduites}$
- Oxydation de l'eau: $2 H_2O \rightarrow O_2 + 4H^+ + 4e^-$

L'oxydation de l'eau dans le lumen crée un gradient de proton (lumen fortement concentré en proton / stroma faiblement concentré). Cette force proto-motrice active une enzyme: l'ATP synthétase située sur la membrane du thylakoïde qui catalyse la phosphorylation de l'ADP adénosine diphosphate en ATP adénosine triphosphate, molécule qui stocke de l'énergie chimique.



La phase photochimique se déroule dans les thylakoïdes. Les photons induisent, à partir de l'excitation de la chlorophylle, des réactions d'oxydoréductions au niveau de la membrane des thylakoïdes qui aboutissent à la synthèse d'ATP et à la réduction d'un accepteur final R en RH_2 . L'énergie des photons est ainsi convertie en énergie chimique sous forme d'ATP (dont l'hydrolyse peut libérer une grande quantité d'énergie) et de RH_2 (possédant un fort pouvoir réducteur). Le fonctionnement de ces chaînes d'oxydoréductions nécessite une régénération de chlorophylle à l'état réduit : ceci est permis par l'oxydation de l'eau, à l'origine d'un dégagement de dioxygène. Cette phase est résumée par les deux équations simplifiées qui suivent :

- $2 R + 2 H_2O \rightarrow 2 RH_2 + O_2$
- $ADP + P_i \rightarrow ATP$

La phase non photochimique: Le cycle de Calvin.

Une enzyme: la Rubisco, présente dans le stroma, permet l'incorporation du CO₂ sur une molécule glucidique à 5 atomes de carbone: le RuBP (C₅P₂). Il se forme alors une molécule à 6 atomes de carbone immédiatement scindée en 2 molécules à 3 atomes de carbone: l'APG (l'APG n'est pas un glucide, le CO₂ incorporé dans l'APG n'est pas encore réduit)

Le RH₂ et l'ATP produits lors de la phase photochimique permettent la réduction du CO₂ et la formation de molécules glucidiques à 3 atomes de carbone: les trioses P:

- L'oxydation du RH₂ fournit les électrons nécessaires à la réduction du CO₂
- L'hydrolyse de l'ATP fournit l'énergie nécessaire à la réduction du CO₂

Lors de chaque cycle un des 6 trioses P produits sort du cycle, ce qui permet (après plusieurs cycles) la production de glucose (6 atomes de carbone), puis de saccharose, d'amidon, d'acides aminés...

Lors de chaque cycle, 5 des 6 trioses P produits sont utilisés pour régénérer du RuBP permettant ainsi la continuité du cycle. La régénération du RuBP se fait selon un mécanisme complexe (hors programme) nécessitant de l'ATP

La réduction du carbone proprement dite est couplée avec l'oxydation du RH₂ et nécessite un apport d'énergie (ATP):

- Oxydation du RH₂: $12 \text{ RH}_2 \rightarrow 12 \text{ R} + 24 \text{ H}^+ + 24 \text{ e}^-$
- Réduction du CO₂: $6 \text{ CO}_2 + 24 \text{ H}^+ + 24 \text{ e}^- \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6 \text{ H}_2\text{O}$
- Hydrolyse de l'ATP: $12 \text{ ATP} + 12 \text{ H}_2\text{O} \rightarrow 12 \text{ ADP} + 12 \text{ Pi} + \text{Énergie}$

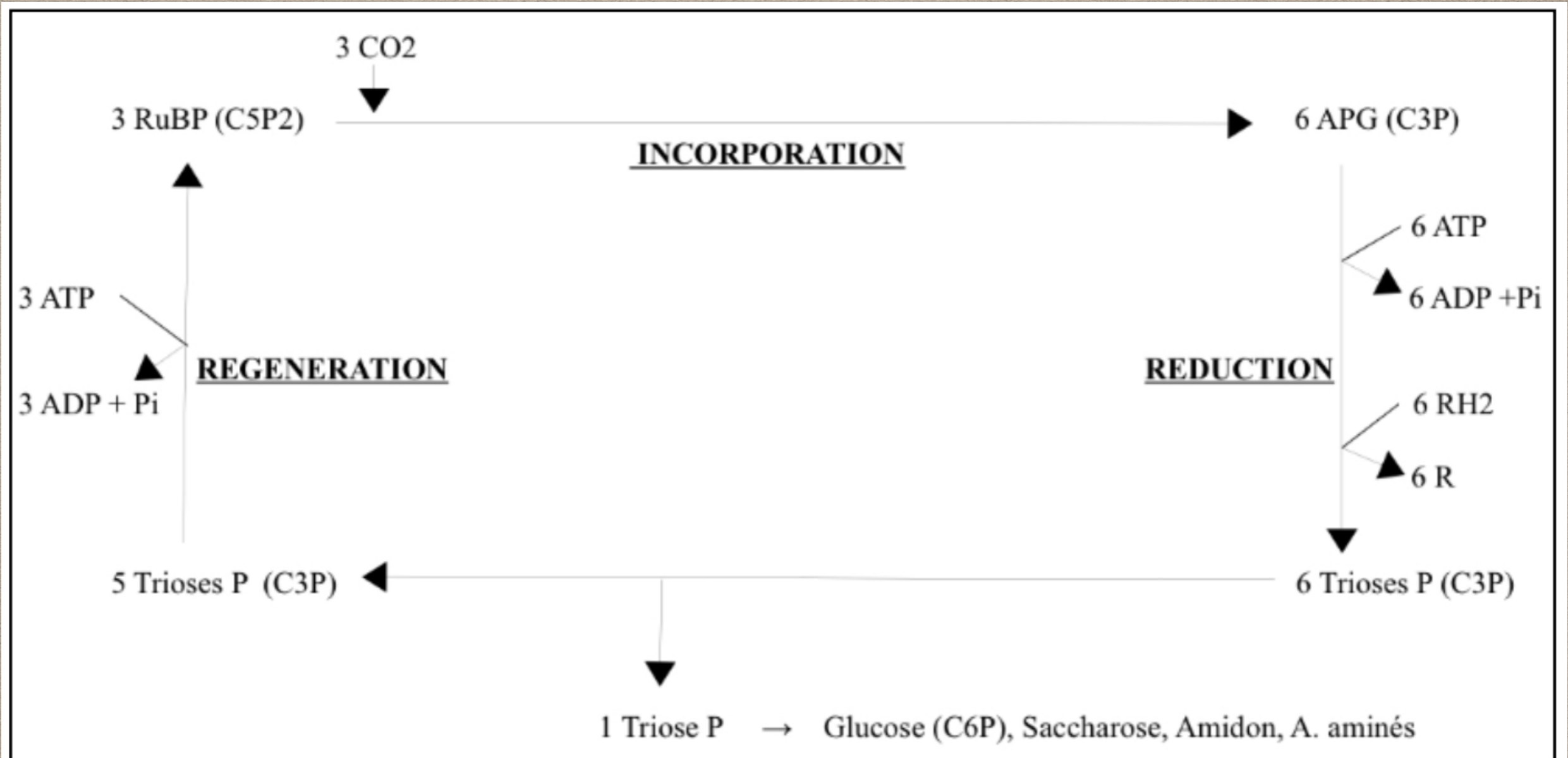
Les nombreuses et complexes réactions du cycle de Calvin se résument par l'équation bilan suivante :



Les deux phases de la photosynthèse sont couplées:

- Les produits formés lors de la phase photochimique: ATP et RH₂, permettent la réduction du dioxyde de carbone dans des molécules glucidiques lors de la phase non photochimique
- L'utilisation de l'énergie chimique (hydrolyse de l'ATP et oxydation du RH₂) lors de la phase non photochimique permet la régénération d'ADP + Pi et de R utilisés lors de la phase photochimique

Le cycle de Calvin



Bilan

La réduction du dioxyde de carbone au cours de la photosynthèse est assurée dans les chloroplastes en deux phases étroitement couplées.

La phase photochimique correspond à la conversion de l'énergie des photons en énergie chimique sous forme d'ATP et de RH_2 : la chlorophylle a, excitée par les photons, devient un puissant réducteur qui alimente une chaîne d'oxydoréductions localisée dans la membrane des thylakoïdes.

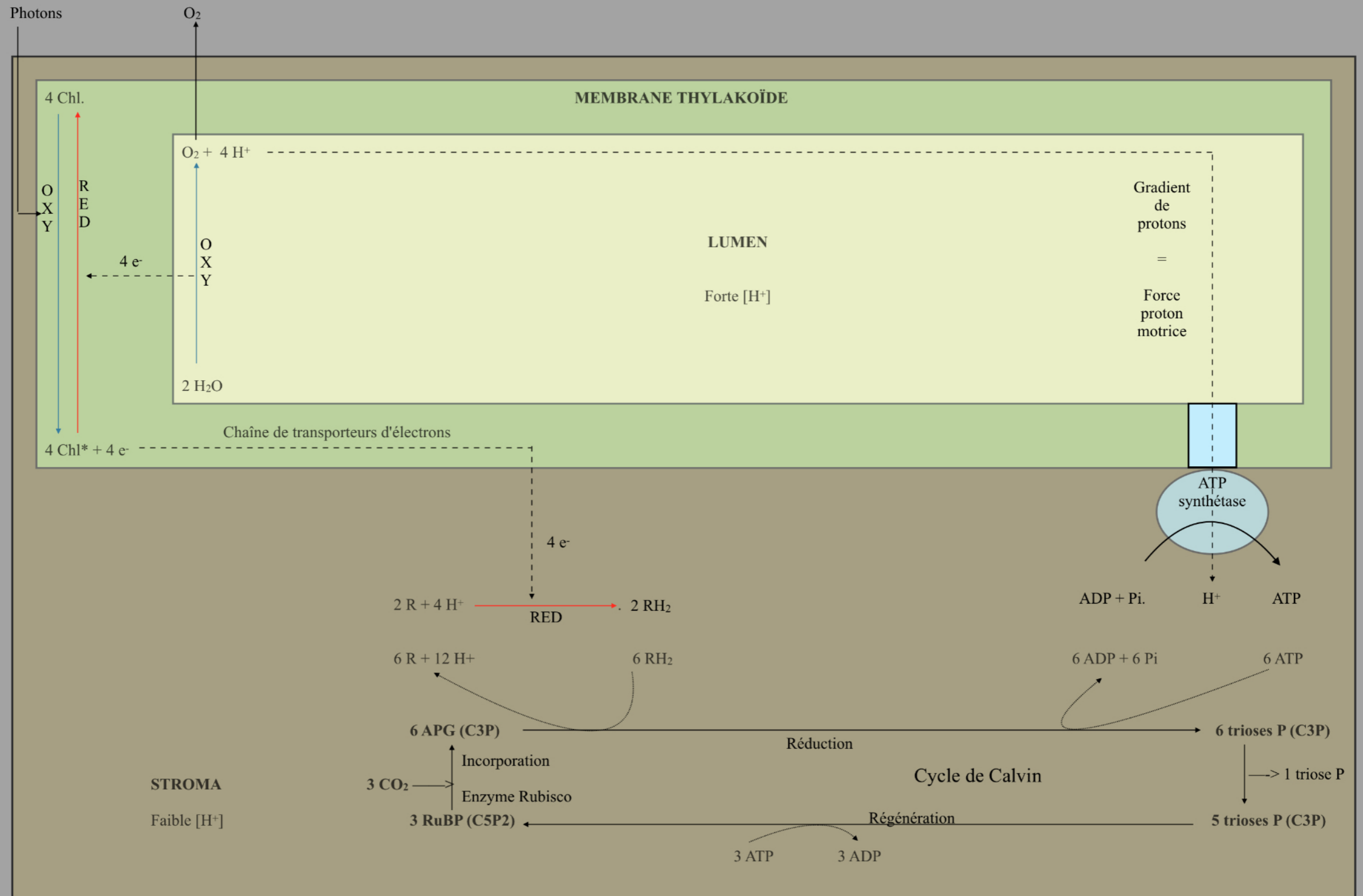
Les électrons et protons nécessaires à la régénération de la chlorophylle a oxydée sont fournis par l'eau, l'oxydation de cette dernière étant à l'origine du dioxygène libéré.

La phase non photochimique utilise l'ATP et le RH_2 produits lors de la phase photochimique pour permettre la réduction du dioxyde de carbone dans le stroma ; celui-ci est incorporé dans des molécules organiques grâce à l'activité de la RuBP-carboxylase (Rubisco).

C'est ainsi que le carbone minéral est intégré dans la matière organique des végétaux photo-autotrophes, eux-mêmes à la base de la majeure partie des chaînes alimentaires, les organismes hétérotrophes consommant, directement ou indirectement, cette matière organique qui leur fournit les constituants et l'énergie nécessaires à leur métabolisme.

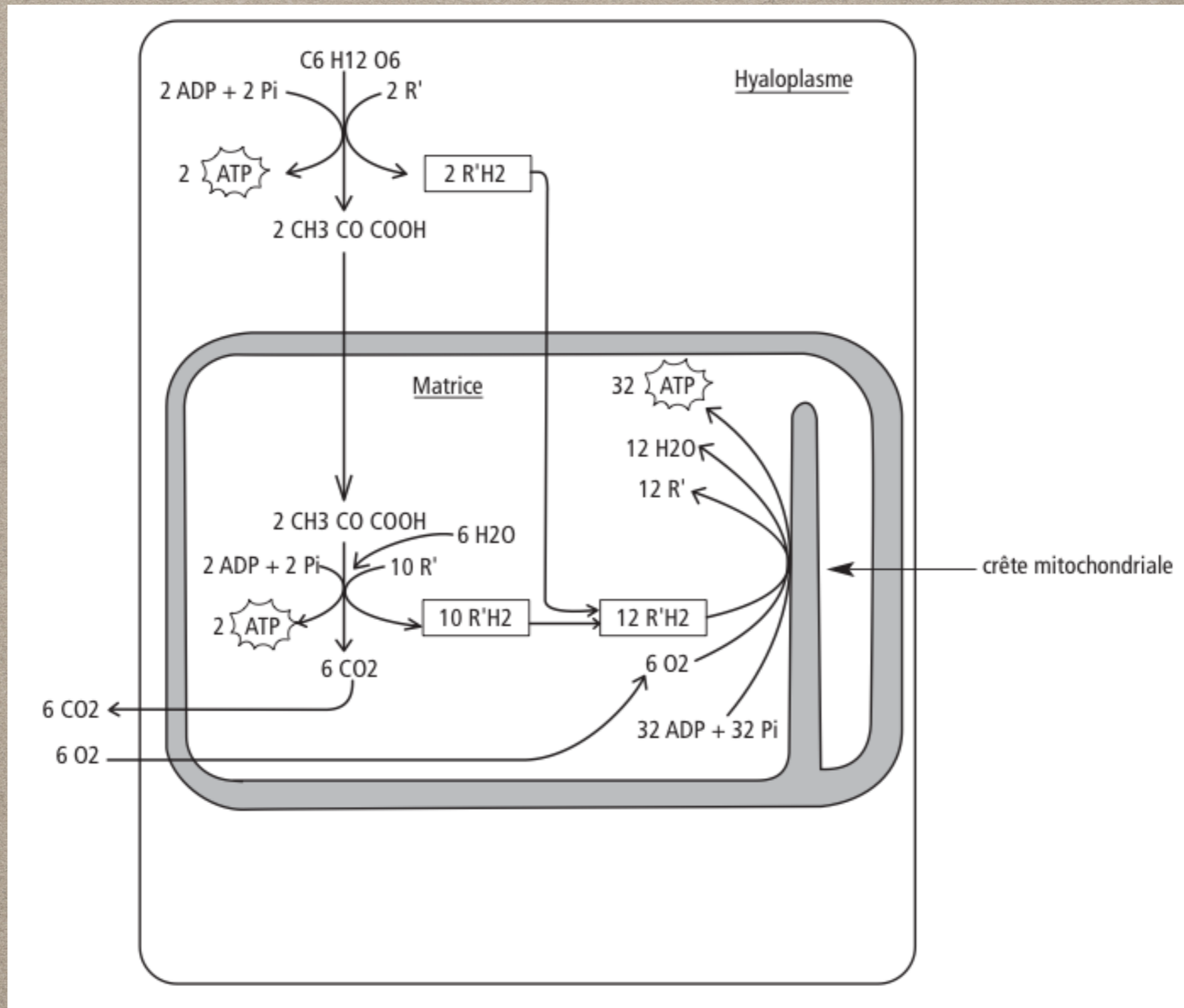


Schéma bilan de la photosynthèse



LA RESPIRATION

Schéma bilan de la respiration



Sachant qu'une oxydation est une perte d'électrons et que une réduction est un gain d'électrons, et qu'il y'a autant de proton H^+ échangés que d'électrons, vous pouvez à partir des mémos suivants retrouver les équations de tous les couplages des réactions d'oxydo-réduction ainsi que les équations bilans.

Mémo: Photosynthèse

Phases	Couplages		Commentaires
	Oxydation	Réduction	
<u>Photochimique</u>	4 chlorophylles (Membrane thylakoides)	2 R (Stroma)	<p align="center"><u>Photo-excitation de la chlorophylle A</u></p> Il faut 1 photon pour exciter 1 molécule de chlorophylle A Conversion énergie lumineuse en énergie chimique : $RH_2 = \ll \text{pouvoir réducteur} \gg$ Électrons pris en charge par une chaîne de transporteurs dans la membrane des thylakoides jusqu'au stroma.
	2 H₂O (Lumen)	4 chlorophylles * (Membrane thylakoides)	<p align="center"><u>Photolyse de l'eau</u></p> Concentration H^+ augmente dans lumen -> gradient H^+ : lumen fortement concentré / stroma faiblement concentré. Gradient H^+ -> force proto motrice -> énergie permettant phosphorylation ADP ($ADP + P_i \rightarrow ATP$) grâce à ATP synthétase située dans la membrane des thylakoides. Les chlorophylles retournent à leur état fondamental (réduites)
<u>Chimique</u>	12 RH₂ (Stroma)	6 CO₂ (Stroma)	<p align="center"><u>Cycle de Calvin: réduction du carbone</u></p> Nécessite RuBP et enzyme: Rubisco Nécessite un apport d'énergie: hydrolyse de 18 ATP pour 1 glucose produit. Conversion énergie chimique issue de la phase photochimique (RH_2 et ATP) en énergie chimique (glucose: $C_6H_{12}O_6$). Régénération ADP et R nécessaires à la phase photochimique.

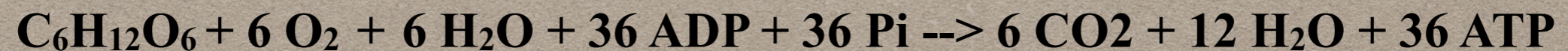
Bilan:



Mémo: respiration cellulaire

Phases	Couplages		Commentaires
	Oxydation	Réduction	
Glycolyse	1 glucose $C_6H_{12}O_6$	2 R'	Localisation: cytoplasme Production de 2 pyruvates ($CH_3 CO COOH$) et 2 ATP et 2 R'H ₂
Cycle de Krebs	2 pyruvates 2 $CH_3 CO COOH$ + 6 H ₂ O	10 R'	Oxydation complète du pyruvate dans la matrice des mitochondries Localisation: matrice mitochondriale Production de 6 CO ₂ , 10 R'H ₂ et 2 ATP
Ré oxydation des composés réduits	12 R'H ₂	6 O ₂	Localisation: matrice mitochondriale / membrane interne des crêtes mitochondriales Production de 32 ATP, 12 R', 12 H ₂ O

Bilan:



La fermentation éthylique

(Levures)

Phases	Couplages		Commentaires
	Oxydation	Réduction	
Glycolyse	1 glucose $C_6H_{12}O_6$	2 R'	Localisation: cytoplasme Production de 2 pyruvates ($CH_3 CO COOH$) et 2 ATP et 2 R'H ₂
Décarboxylation du pyruvate	2 pyruvates ($CH_3 CO COOH$) --> 2 éthanal (CH_3CHO) + 2 CO ₂		
Régénération des R'	2 R'H ₂	2 éthanal (CH_3CHO)	Localisation:: cytoplasme Production de 2 éthanol (CH_3CH_2OH) et 2 R'

Bilan: 2 pyruvates ($CH_3 CO COOH$) + 2 R'H₂ --> 2 éthanol (CH_3CH_2OH) + 2 CO₂ + 2 R'

La fermentation lactique

(champignons, bactéries)

Phases	Couplages		Commentaires
	Oxydation	Réduction	
Glycolyse	1 glucose $C_6H_{12}O_6$	2 R'	Localisation: cytoplasme Production de 2 pyruvates ($CH_3 CO COOH$) et 2 ATP et 2 R'H ₂
Régénération des R'	2 R'H ₂	2 pyruvates ($CH_3 CO COOH$)	Localisation:: cytoplasme Production de 2 acides lactiques ($CH_3 CHOH COOH$) et 2 R'

Bilan : 2 pyruvates ($CH_3 CO COOH$) + 2 R'H₂ --> 2 acides lactiques ($CH_3 CHOH COOH$) + 2 R'

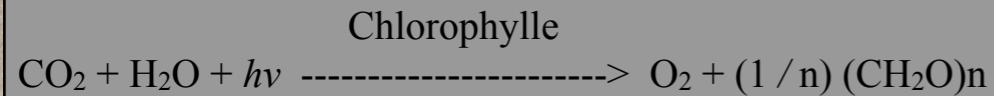
DES EXPÉRIENCES

HISTORIQUES À CONNAÎTRE

...

L'expérience de Ruben et Kamen (1941)

Il est généralement admis que le bilan de la photosynthèse chez les plantes vertes peut être représenté par cette équation :



... et également que nous savons peu de choses du mécanisme-même. Il serait intéressant de savoir comment et à partir de quelle substance l'oxygène est produit. [...]. L'eau à oxygène lourd (H_2^{18}O) utilisée dans ces expériences a été préparée [...]. La quantité d'oxygène isotopique (^{18}O) a été déterminée par la méthode de Cohn et Urey [...] Du carbonate à oxygène lourd (C^{18}O) a été préparé [...]. L'analyse isotopique de ce carbonate seul ou en solution a été effectuée [...]

De jeunes cellules vivantes de *Chlorelles* sont mises en suspension dans l'eau à oxygène lourd (0,85 % de ^{18}O), contenant du bicarbonate de potassium (source de CO_2 : $2 \text{KHCO}_3 \rightarrow \text{K}_2\text{CO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$) ordinaire. Le pourcentage isotopique de l'oxygène dégagé est mesuré avec un spectromètre de masse. (—> 2 premiers résultats du tableau)

Dans d'autres expériences les algues sont amenées à effectuer la photosynthèse dans de l'eau ordinaire contenant du bicarbonate de potassium à oxygène lourd (source de C^{18}O_2). Les résultats de ces expériences sont résumés dans le tableau I. (—> 2 derniers résultats du tableau)

O ₂ présent dans l'espace gazeux au début (ml)	O ₂ produit lors de la photosynthèse par 200 mm ³ d'algues (ml)
2.29 (¹⁸ O = 0,20 %)	1.55 (¹⁸ O = 0,85 %)
3.64 (¹⁸ O = 0,20 %)	1.18 (¹⁸ O = 0,85 %)
1.44 (¹⁸ O = 0,85 %)	0.73 (¹⁸ O = 0,20 %)
4.81 (¹⁸ O = 0,85 %)	1.22 (¹⁸ O = 0,20 %)

TABLEAU I: Pourcentage d'isotope dans l'oxygène produit lors de la photosynthèse par *Chlorella*

Modifié, d'après SAMUEL RUBEN, MERLE RANDALL, MARTIN KAMEN ET JAMES LOGAN HYDE

Traduction de l'article paru dans le *Journal of the American chemical society* (mars 1941), pp. 877-879

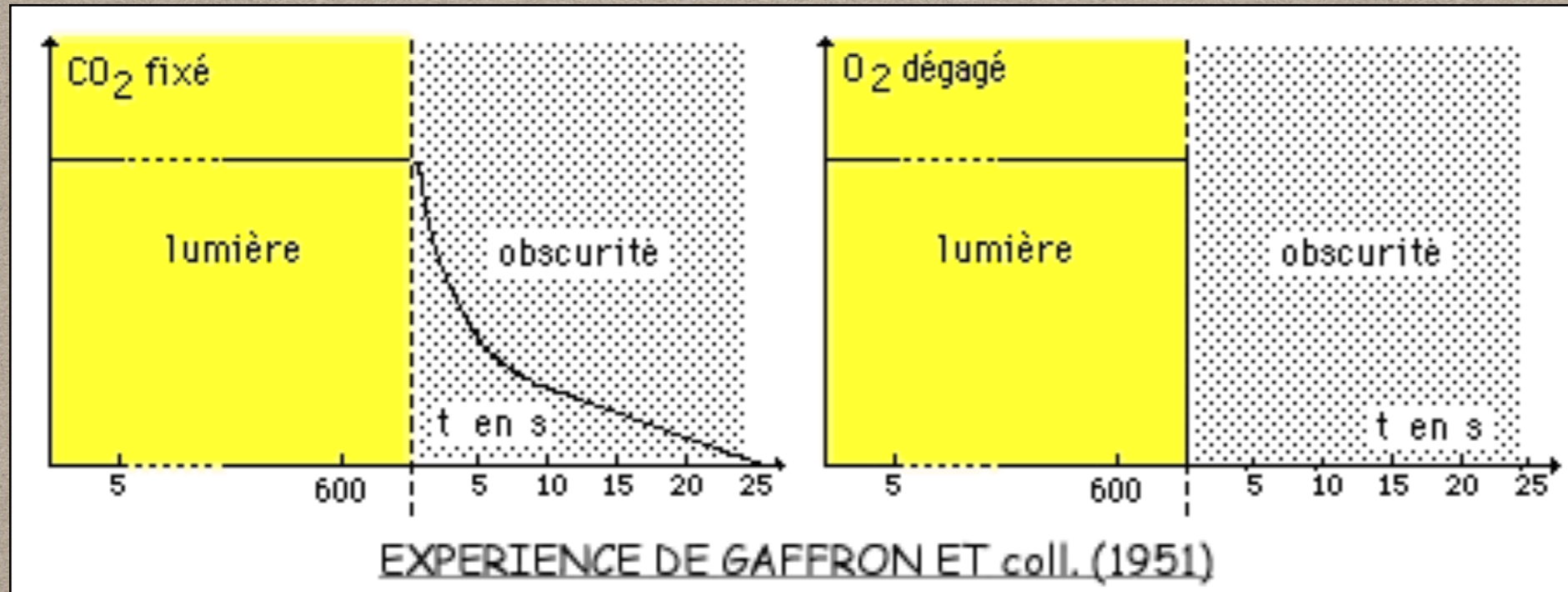
Le di-oxygène libéré lors de la photosynthèse pourrait provenir de l'oxygène de l'eau H_2O ou de l'oxygène du CO_2 .

Les expériences de Ruben et Kamen montrent que:

- En présence de H_2^{18}O (0,85 % ^{18}O), le O_2 libéré par les chlorelles a une concentration en ^{18}O (0,85%) identique à celle de l'eau H_2^{18}O consommée.
- En présence de C^{18}O_2 (0,85 % ^{18}O), le O_2 libéré par les chlorelles a une concentration en ^{18}O (0,20%) différente de celle du C^{18}O_2 consommé.

On en déduit que l' O_2 libéré proviendrait de l'eau. Il y a eu oxydation de l'eau: $2 \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{O}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$

Expérience de Gaffron & coll. (1951)



Du dioxyde de carbone radioactif ($^{14}\text{CO}_2$) est fourni à une suspension d'algues unicellulaires (chlorelles) fortement éclairée pendant 10 minutes puis placée à l'obscurité.

Dans un premier temps, on dose le $^{14}\text{CO}_2$ fixé (graphe de gauche), dans un second temps, on dose le dioxygène dégagé (graphe de droite).

Les expériences de Gaffron & col. montrent que:

- A l'obscurité, la production de O_2 cesse instantanément, la lumière est indispensable pour l'oxydation de l'eau; on parle de photolyse de l'eau ou phase photochimique
- A l'obscurité la fixation (réduction) du CO_2 diminue progressivement. La réduction du carbone ne dépend donc pas directement de la lumière mais requiert la participation d'intermédiaires produits au cours de la phase photochimique. A l'obscurité, ces intermédiaires sont progressivement utilisés (diminution) jusqu'à épuisement.

La réduction du carbone (ou phase non photochimique ou thermochimique) dépend de la phase photochimique (oxydation de l'eau); les deux phases et les deux réactions sont donc couplées.

Expériences d'Arnon (1958)

Arnon sépare des chloroplastes en une fraction composée uniquement de thylakoïdes et une fraction liquide correspondant au stroma. Il associe ensuite l'une ou l'autre des fractions à différentes molécules présentes dans le chloroplaste en présence de $^{14}\text{CO}_2$. Il mesure l'assimilation du dioxyde de carbone à partir de la radioactivité des molécules organiques produites.

Les conditions expérimentales et les résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous.

	Conditions expérimentales	Quantité de $^{14}\text{CO}_2$ fixé dans les molécules organiques (en coups par minute)
1	Stroma laissé à l'obscurité	4000
2	Stroma laissé à l'obscurité + thylakoïdes préalablement éclairés	96 000
3	Stroma laissé à l'obscurité + ATP + RH_2	97 000

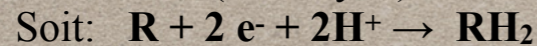
On observe que la quantité de $^{14}\text{CO}_2$ fixé (réduction du carbone) est maximale en présence de thylakoïdes préalablement éclairés ou en présence des produits de la phase photochimique: ATP et RH_2 (phase ayant lieu dans les thylakoïdes éclairés).

On en déduit que les deux phases de la photosynthèse sont couplées: les produits de la phase photochimique sont nécessaires à la réduction du carbone (phase chimique).

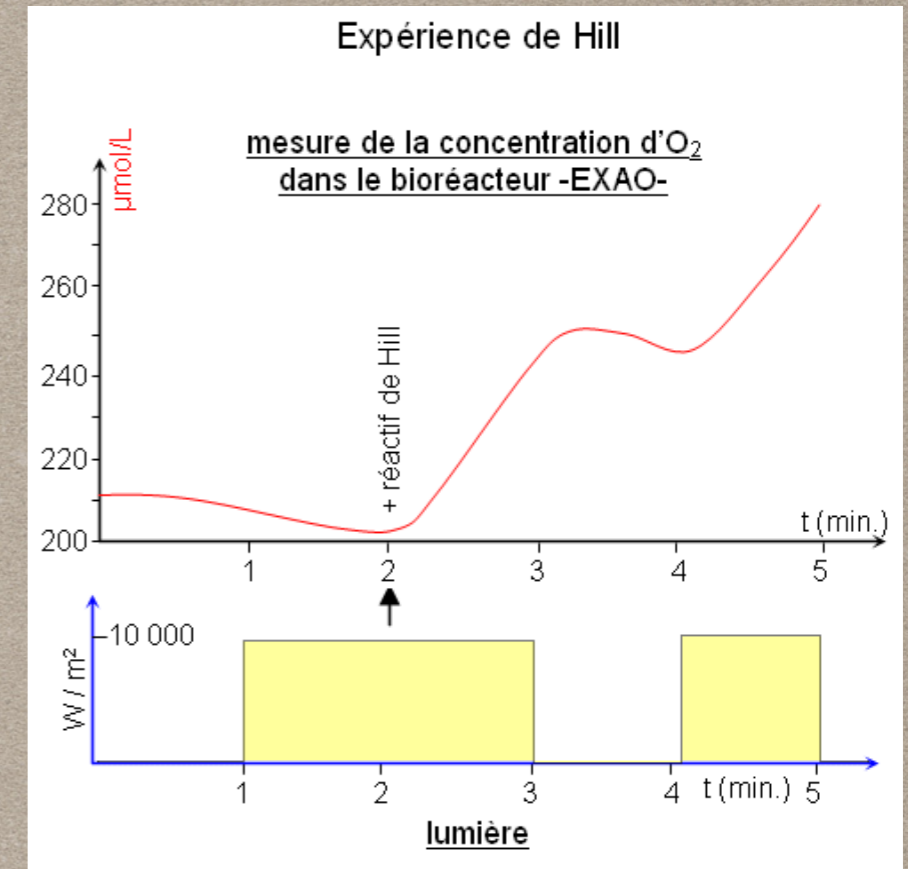
L'expérience de Hill (1937)

Dans la réaction de photosynthèse, l'eau apparaît comme un donneur d'hydrogène et d'électrons alors que le dioxyde de carbone apparaît comme un accepteur d'hydrogène et d'électrons.

En 1937, Hill envisagea l'existence d'un intermédiaire (R) qui accepterait les électrons provenant de l'eau pour les transférer au dioxyde de carbone. Il entreprit de vérifier cette hypothèse en remplaçant cet intermédiaire inconnu par un oxydant artificiel ou accepteur d'électrons (le réactif de Hill) qui serait réduit à la lumière par les électrons provenant de l'eau: Fe^{3+} (Fer oxydé) + $e^- \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ (Fer réduit)



Hill utilise une suspension de chloroplastes lésés, l'enveloppe des chloroplastes est altérée de telle sorte que les thylakoïdes restent intacts mais que les constituants du stroma (dont l'hypothétique intermédiaire) se retrouvent largement dilués dans le milieu ayant servi à l'extraction.

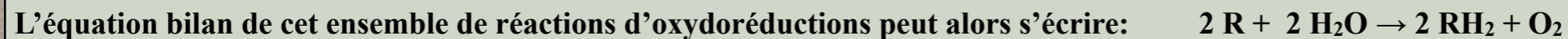
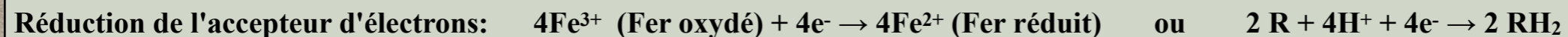


On observe que:

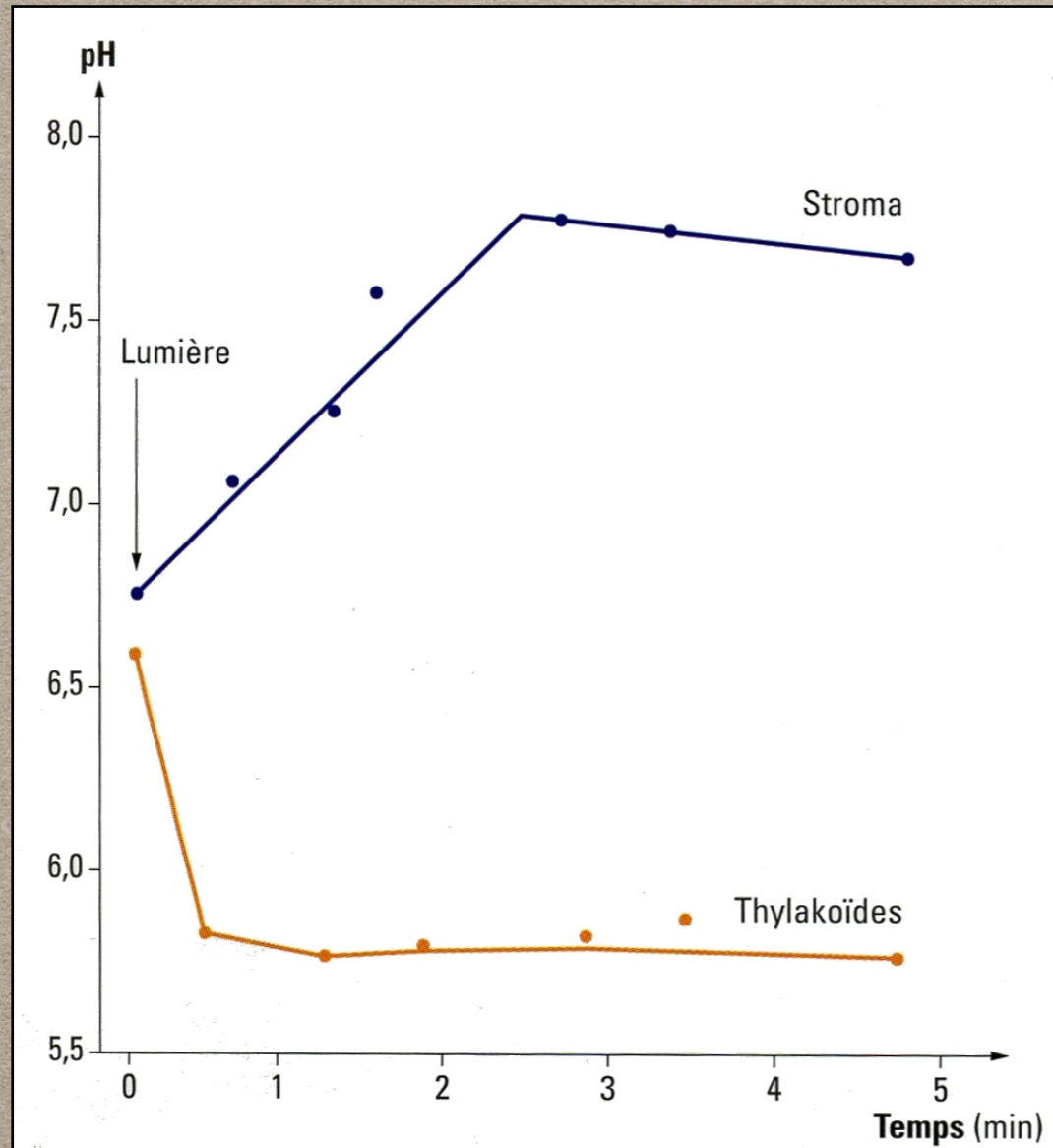
- En l'absence de l'accepteur d'électron, la teneur en O₂ diminue à l'obscurité mais aussi à la lumière.
- En présence de l'accepteur d'électrons et de lumière, les chloroplastes lésés produisent de l'O₂ (oxydation de l'eau). Cette production cesse à l'obscurité et reprend à la lumière.

La présence d'un accepteur d'électron et de lumière est indispensable pour l'oxydation de l'eau. La présence de CO₂ n'est pas forcément nécessaire; n'importe quel accepteur d'électrons peut accepter les électrons de l'eau. Cela suggère que les électrons arrachés à l'eau lors de son oxydation ne seraient pas directement acceptés par le CO₂; il pourrait exister un ou des intermédiaires qui jouent le rôle d'accepteurs d'électrons, et qui seraient présents dans le stroma.

L'oxydation de l'eau semble couplée à la réduction d'un accepteur d'électrons jouant le rôle d'intermédiaire entre l'oxydation de l'eau et la réduction du carbone. En présence de lumière, R est réduit en RH₂ tandis que l'eau est oxydée. Ces deux réactions seraient donc couplées:



L'oxydation de l'eau dans le lumen crée un gradient de protons entre le lumen et le stroma



L'oxydation de l'eau par la lumière s'accompagne d'une libération de protons H^+ .

On suit les variations de la concentration en protons par des mesures du pH, dans le stroma et dans le lumen (à l'intérieur des thylakoïdes) de chloroplastes isolés et éclairés fortement pendant quelques minutes

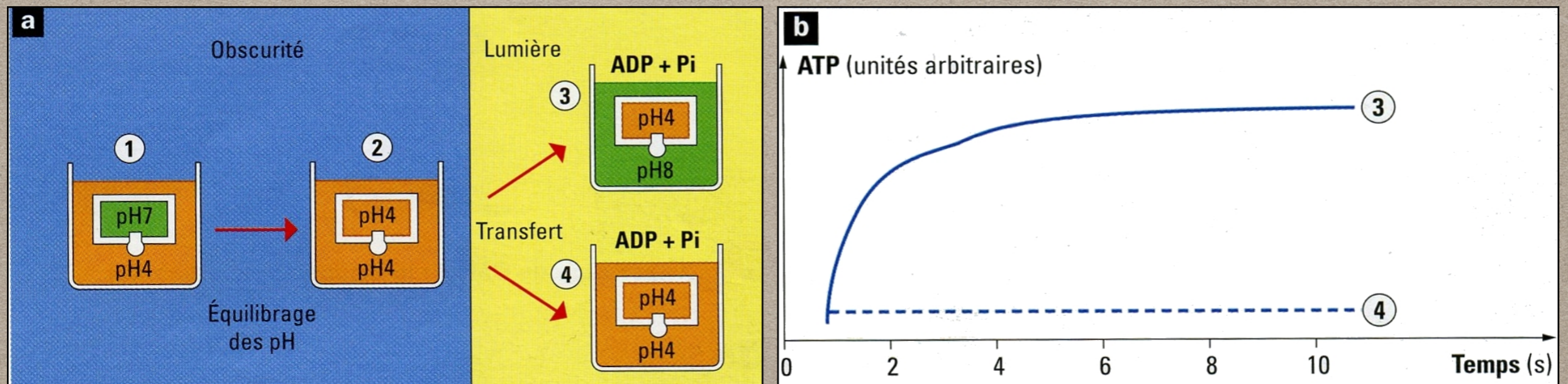
On observe que à la lumière:

- Le pH augmente dans le stroma, donc la concentration en protons diminue, ce qui s'interprète comme la réduction de R
- Le pH diminue dans le lumen, donc la concentration en protons augmente, ce qui s'interprète comme l'oxydation de l'eau (qui serait donc localisée dans le lumen !)

La libération de protons dans le lumen (oxydation de l'eau) et la consommation de protons dans le stroma (réduction de R) créent un gradient de protons entre le lumen fortement concentré et le stroma faiblement concentré.

On observe que après trois minutes, la différence de concentration en protons entre le lumen et le stroma devient constante (puis décroît légèrement). Il s'instaurerait donc après ce délai d'environ trois minutes, un système de transport des protons du lumen vers le stroma qui tendrait à maintenir constante la différence de concentration en protons.

Le gradient de protons entre le lumen et le stroma génère une force proton motrice activant des ATP synthétases situées dans la membrane des thylakoïdes.



On observe que la synthèse d'ATP est conditionnée par l'existence d'un gradient de protons entre le lumen fortement concentré (pH 4) et le stroma faiblement concentré (pH 8). Le gradient de proton ou force proton-motrice apporte l'énergie nécessaire à la phosphorylation de l'ADP en ATP au sein des ATP synthétases de la membrane thylakoidienne.

Expérience de Calvin (1945)

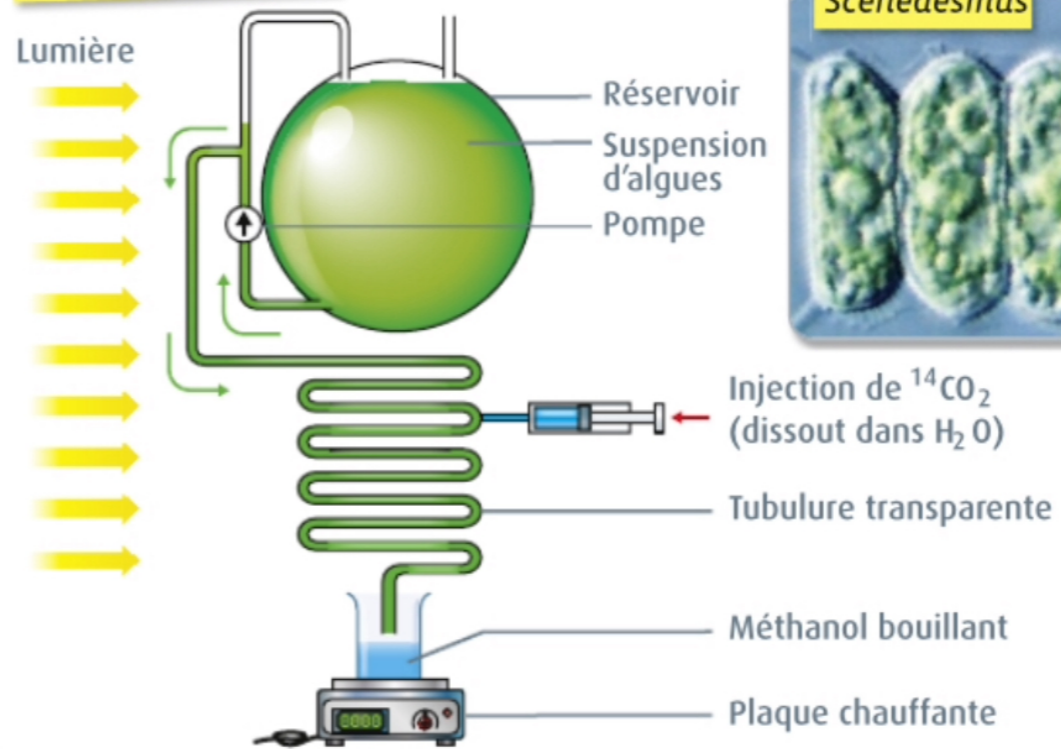
HISTOIRE DES SCIENCES

M. Calvin



Melvin Calvin commence à travailler sur la photosynthèse en 1945. Au sein d'une équipe pluridisciplinaire, il étudie les premières étapes de la fixation du CO_2 lors de la phase chimique. Des algues vertes microscopiques (*Scenedesmus*) sont cultivées dans une cuve reliée à un serpentín (le Lollipop). Pendant l'expérience, la suspension d'algues s'écoule à travers le serpentín et le débit, contrôlé très précisément, détermine le temps de parcours. Du $^{14}\text{CO}_2$ est injecté à un certain niveau du serpentín. À la sortie, les algues sont immédiatement tuées et fixées par du méthanol bouillant. On connaît donc précisément la durée pendant laquelle elles ont été en contact avec le $^{14}\text{CO}_2$ (10 secondes ou 60 secondes dans les résultats présentés). Les molécules organiques sont extraites puis séparées par chromatographie bidimensionnelle. Celles ayant incorporé du ^{14}C sont localisées par autoradiographie. Elles sont identifiées par comparaison avec des chromatographies de substances témoin.

Le Lollipop de Calvin



Scenedesmus



10 sec.

3-phosphoglycérate (APG)

Glucose-P

Ribulose 1,5 bisphosphate (RuBP)

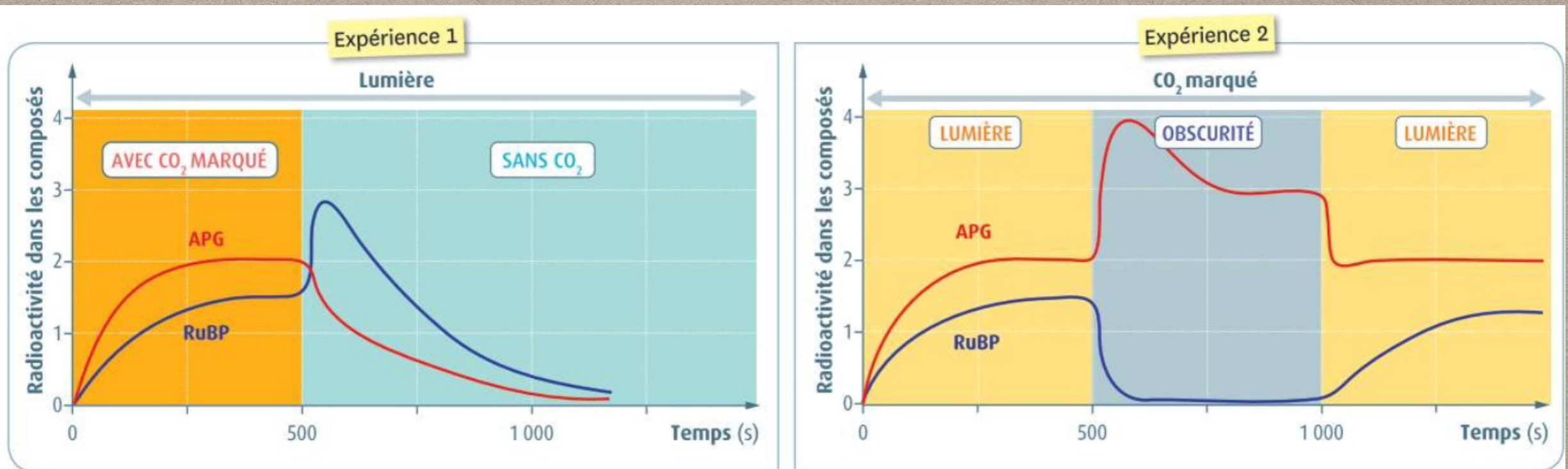
60 sec.

APG

Hexoses-P dont glucose-P

RuBP

Expérience de Calvin & Wilson (1962)



4 Étude des conditions de production des molécules carbonées par photosynthèse. On mesure la quantité d'APG et de RuBP produits (par une mesure de la radioactivité) dans différentes conditions.

Expérience 1:

- En présence de CO₂, les quantités de APG et RuBP augmentent puis restent constantes. Il s'instaure un équilibre entre synthèse et utilisation (transformation) de l'APG et du RuBP
- Lorsque l'apport en CO₂ est interrompu la quantité de RuBP augmente fortement pendant quelques secondes. Le RuBP s'accumule du fait de la continuité de sa synthèse et de l'arrêt de sa transformation en une autre molécule. Son utilisation (transformation) nécessiterait du CO₂; le RuBP serait donc la molécule sur laquelle se réaliserait l'incorporation du CO₂
- Lorsque l'apport en CO₂ est interrompu la quantité d'APG diminue instantanément (sans délai). En l'absence de CO₂ la synthèse d'APG cesse immédiatement alors que son utilisation (transformation) continue jusqu'à épuisement du stock d'APG. L'APG serait donc la première molécule formée après l'incorporation du CO₂
- Lorsque l'apport en CO₂ est interrompu la quantité de RuBP diminue après un délai de quelques secondes. En l'absence de CO₂ la synthèse de RuBP cesse après un délais de quelques secondes alors que son utilisation (transformation) continue jusqu'à épuisement du stock de RuBP. La régénération (synthèse) du RuBP nécessiterait indirectement du CO₂ et se ferait à partir de l'APG selon un mécanisme cyclique.

Expérience 2:

- On observe que à la lumière, les quantités de APG et RuBP augmentent puis restent constantes. Il s'instaure un équilibre entre synthèse et utilisation (transformation) de l'APG et du RuBP
- On observe que à l'obscurité la quantité d'APG augmente fortement pendant quelques secondes. Il y'a accumulation d'APG (arrêt de sa transformation, continuité de sa synthèse) pendant quelques secondes. La transformation de l'APG nécessiterait de la lumière (ou les produits de la phase photochimique).
- On observe que à l'obscurité la quantité de RuBP diminue fortement. Il y'a utilisation (transformation) du RuBP déjà présent et arrêt de sa synthèse. La régénération du RuBP nécessiterait de la lumière (ou les produits de la phase photochimique).

LA SUITE PLUS TARD....