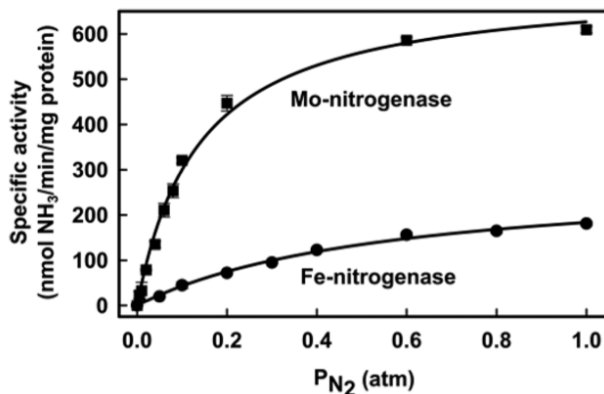


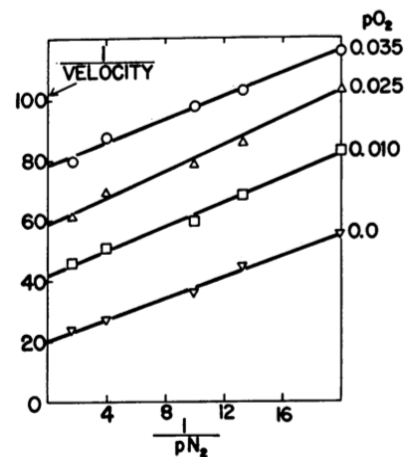
Sujet avec documents

Les **cyanobactéries** sont un taxon d'eubactéries autotrophes pour le carbone et l'azote. Elles sont courantes dans l'environnement. Ce sont des bactéries coloniales, c'est à dire formant des structures pluricellulaire, souvent filamenteuses. On peut, dans certaines conditions, observer deux types de cellules au sein d'un même filament : les cellules végétatives (les plus nombreuses), et les hétérocystes. On cherche ici à comprendre le métabolisme de ces bactéries et l'intérêt de ces hétérocystes.

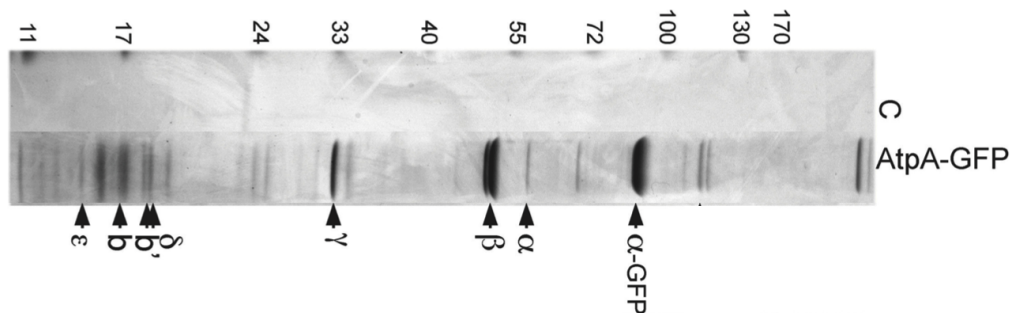
Document 1: On a extrait deux enzymes, appelées nitrogénases, à partir d'hétérocystes de cyanobactéries cultivées dans un milieu dépourvu d'azote ionique. Ces enzymes contiennent respectivement un atome de fer (Fe) ou de molybdène (Mo). On place chacune de ces enzymes dans un milieu contenant les principales molécules d'un cytoplasme de cyanobactérie, et dont on contrôle la pression partielle en diazote (N_2). On mesure au cours du temps la vitesse de production de NH_3 (l'ammoniac), en $nmol \cdot min^{-1}$ par mg d'enzyme. On notera que les cellules végétatives ne possèdent pas ces enzymes.



Document 2: Dans un milieu dont les pressions partielles en N_2 et en O_2 sont contrôlées, on mesure la vitesse (velocity) de la Mo-nitrogénase (définie dans le document précédent) en présence de pressions partielles variables en O_2 . On représente ici $1/vitesse$ (en $\mu mol^{-1} \cdot min$) en fonction de $1/pN_2$ (en bar^{-1}) dans quatre conditions différentes de pO_2 (données à droite du graphe, pO_2 en bar). On rappelle que dans des conditions normales, $pO_2 = 0,21 atm$, et $pN_2 = 0,79 atm$.

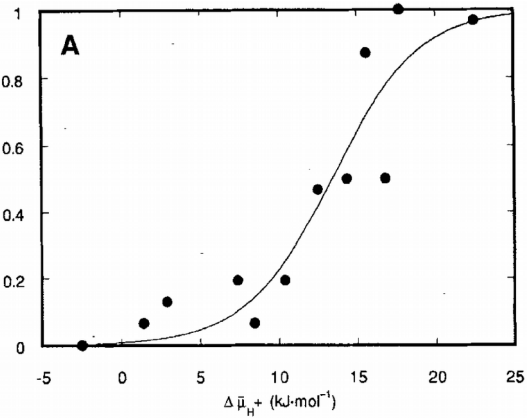


Document 3a: Chez *Anabaena*, on a identifié un gène (noté AtpA) présentant une forte homologie de séquence (= des similitudes de séquence) avec le gène de la sous-unité α de l'ATP synthase des chloroplastes des

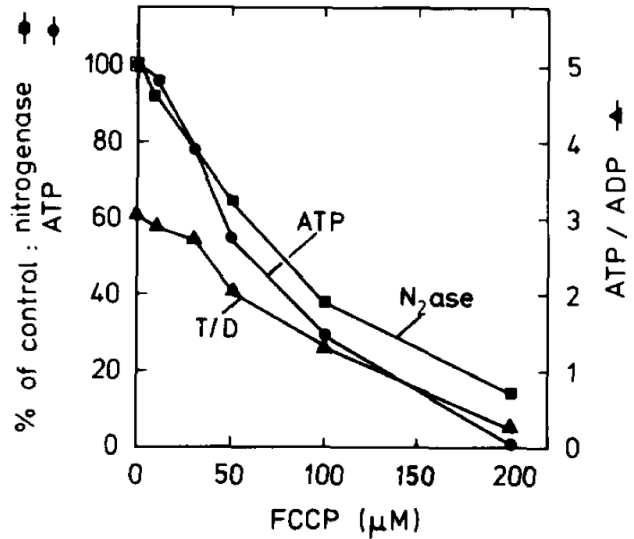


angiospermes. On a engendré un mutant d'*Anabaena* dont le gène AtpA est fusionné avec le gène de la GFP (green fluorescent protein = protéine fluorescente verte) ; ce gène permet donc la synthèse d'une protéine chimère constituée des deux protéines AtpA et GFP liées par une liaison covalente. On a cultivé ces cellules, puis on les a broyées dans un milieu préservant les interactions protéine-protéine ; on les a enfin incubées avec des billes d'acier recouvertes d'un anticorps anti-GFP. On a récupéré les billes avec un aimant, on a détaché les protéines des billes, et on les a fait migrer en électrophorèse dénaturante, et on a ensuite coloré le gel au bleu de Coomassie, un colorant non spécifique des protéines (piste AtpA-GFP). En parallèle, on a réalisé la même expérience avec des *Anabaena* sauvages (piste C). Les nombres au dessus du gel correspondent à un marqueur de poids moléculaire, en kDa. Les lettres en bas du gel correspondent à des sous-unités de l'ATP synthase, identifiées par leur poids moléculaire.

Document 3b: Activité de production d'ATP par des thylakoïdes de cyanobactéries en fonction du gradient transmembranaire de H^+ (imposé par l'expérimentateur, calculé grâce à la loi de Nernst, et exprimé en $kJ \cdot mol^{-1}$). L'activité est donnée en unités arbitraires, 0 correspondant à une activité nulle et 1 à une activité maximale dans les conditions de l'expérience. Les ronds pleins correspondent aux points expérimentaux, et la courbe représente une courbe de tendance.



Document 3c: On mesure l'activité de la nitrogénase ($\blacksquare N_2ase$), la concentration en ATP ($\bullet ATP$) et le rapport ATP/ADP ($\blacktriangle T/D$) dans un système acellulaire de production de NH_3 comparable à celui du document 3, en fonction de la concentration en trifluorométhoxycarbonylcyanurophénylhydrazone (FCCP). Le FCCP est un agent découplant, c'est-à-dire qu'il rend les membranes perméables aux ions H^+ et rend donc impossible la création de gradients de H^+ .



Document 3d: Chez des cyanobactéries, on a mesuré l'activité de la nitrogénase (en μmol de NH_3 produit par heure, symboles pleins $\bullet \blacklozenge \blackstar$ et trait plein —) et la concentration en ATP intracellulaire (en $nmol$ par mg de chlorophylle, symboles vides $\circ \diamond \star$ et trait pointillé ---) en fonction de l'intensité lumineuse, ici exprimée en $\mu Einstein \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$, dans trois conditions : sans FCCP (\circ et \bullet), avec $20 \mu mol \cdot L^{-1}$ (\diamond et \blacklozenge), avec $20 \mu mol \cdot L^{-1}$ (\star et \blackstar).

