Chapitre B11
Métabolisme et transfert d'énergie

Edition spéciale coronavirus - avril 2021

BCPST1 – Lycée Châtelet – Douai – Joseph NICOLAS

Plan du cours

I. Diverses formes d'énergie chez les êtres vivants

1. **La lumière, une source d'énergie extérieure**
2. **L'énergie des gradients**
3. **L'énergie chimique**
   a) Les réactions d'oxydoréduction
   b) L'hydrolyse de l'ATP

II. Les chaînes de transport d'électrons couplent des réaction redox à l'établissement d'un gradient de H^+

1. **Le chloroplaste utilise l'énergie lumineuse de façon établir un gradient de H^+**
   a) Les thylakoïdes sont le lieu d'une photo-oxydation de l'eau
   b) Les photosystèmes permettent la conversion d'énergie lumineuse en énergie chimique
      i. L'excitation des pigments et les antennes collectrices
      ii. Deux photosystèmes coopèrent
   c) Les transferts membranaires d'électrons permettent l'établissement d'un gradient de protons
2. **Les organismes chimiotrophes utilisent l'énergie de l'oxydation de molécules pour établir un gradient de H^+**
   a) Structure d'une mitochondrie et d'une bactérie nitratante
   b) Des oxydations fournissent des électrons à une chaîne membranaire
   c) Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons

III. Des protéines membranaires permettent la conversion de l'énergie des gradients en énergie chimique

1. **L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+**
2. **L'énergie des gradients de H^+ permet la réduction $NADP^+$ chez les chimiolithotrophes**

Lien unique vers la foire aux questions :
https://docs.google.com/document/d/1Uf7vnJrEgzQaanDCO_tehXkzoPfeqlXMYtSv0OG_bHY/edit

Introduction

Le terme **énergie** vient du grec ἐνέργεια (/energeia/) qui signifie « apte à produite un travail, une action. » L'énergie peut être vue comme une grandeur capable de produire un travail, un mouvement.

Un des principes fondamentaux de la physique, énoncé sous sa première forme au XVII^{e} siècle par Isaac Newton, et intégré aujourd'hui dans les théories les plus récentes de la physique du XXI^{e} siècle, est celui de la **conservation de l'énergie**. Il nous apprend que l'univers est constitué de diverses formes d'énergie, qui peuvent éventuellement s'interconvertir (se convertir l'une en l'autre), et que la **création d'énergie est totalement impossible**.

Un lapin est un organisme ayant une **température de 37°C**, doué de **mouvements**, et dont la consommation par un renard **libère une énergie** mise à profit par le prédateur. Température, mouvement et énergie chimiques sont quelques unes des formes d'énergie dont dispose un organisme animal. D'où vient cette énergie et comment est-elle convertie par l'organisme en diverses formes ? cette question peut être généralisée à l'ensemble des animaux, mais également à l'ensemble des organismes vivants.

On va voit dans ce chapitre quels sont les processus permettant aux **végétaux verts**, aux **animaux** et à certaines **bactéries** de se **procurer de l'énergie** dans leur environnement, et de la convertir de façon à la rendre utilisable par l'organisme. On verra notamment que cette notion d'échanges énergétiques passe en particulier par des réactions chimiques, et est donc indissociable du **métabolisme.**

I. Diverses formes d’énergie sont converties

Un objet soumis à la lumière solaire s'**échauffe** : **la lumière transporte donc de l'énergie**. Parmi les formes d'énergies courantes chez les êtres vivants, la première – au sens chronologique de l'entrée initiale dans la biosphère – est la **lumière**.

La lumière est une phénomène pouvant être décrit comme une **onde électromagnétique** ou comme une **particule**.

- La nature ondulatoire de la lumière permet de lui attribuer une **longueur d'onde**. Pour la lumière dite visible (i.e. visible *par l'humain*), cette longueur d'onde, notée λ, est comprise **entre 400 nm et 800 nm**. On peut également définir sa **fréquence**, notée **ν**. Elle est égale **c/λ**, avec c la célérité dans le vide.
- La nature corpusculaire de la lumière permet de définir une particule appelée **photon**, qui correspond à un **quantum de lumière**, c'est-à-dire la plus petite quantité de lumière pouvant exister.
- On peut montrer que ce photon a une énergie $e = h\nu = \frac{hc}{\lambda}$, où h est une constante physique, appelée **constante de Planck** (du nom du physicien allemand Max Planck).

On déduit de cette formule que les radiations de petite longueur d'onde (proche du bleu) sont plus énergétiques que celles de grande longueur d'onde (proche du rouge).

L'énergie lumineuse (essentiellement, la lumière solaire) peut être utilisée par les êtres vivants par des **couplages énergétiques**, comme on le verra plus loin.

<u>Exercice</u> : calculez **l'énergie d'un photon bleu**, et **l'énergie d'une mole de photons bleus**, et comparez les deux résultats à l'énergie cinétique d'une particule d'argile de 10 µm (densité d = 2) qui mettrait 6 mois à sédimenter au fond de l'océan (2.10^{-19} J), et à l'énergie solaire reçue par une surface de 1 m² en plein été à Douai pendant 15 min (300 kJ).

On donne $h = 6{,}6.10^{-34}$ m².kg.s^{-1}, et $c = 3{,}0.10^{8}$ m.s^{-1}. On prendra $\lambda = 400$ nm. On rappelle N_A le nombre d'Avogadro : $N_A = 6{,}0.10^{23}$ mol^{-1}.

Exercice : calculez **l'énergie d'un photon bleu**, et **l'énergie d'une mole de photons bleus**, et comparez les deux résultats à l'énergie cinétique d'une particule d'argile de 10 µm (densité d = 2) qui mettrait 6 mois à sédimenter au fond de l'océan (2.10^{-19} J), et à l'énergie solaire reçue par une surface de 1 m² en plein été à Douai pendant 15 min (300 kJ).
On donne h = $6{,}6.10^{-34}$ m².kg.s^{-1}, et c = $3{,}0.10^{8}$ m.s^{-1}. On prendra λ = 400 nm. On rappelle N_A le nombre d'Avogadro : $N_A = 6{,}0.10^{23}$ mol^{-1}.

Correction :

Energie d'un photon :

$$e_{1\,ph.} = \frac{hc}{\lambda}$$

$$AN : e_{1\,ph.} = \frac{6{,}6.10^{-34} \times 3{,}0.10^{8}}{4.10^{-7}}$$

$$e_{1\,ph.} = 4{,}95.10^{-19}\,J$$

C'est approximativement l'énergie cinétique d'une particule d'argile de 10 µm qui mettrait 6 mois à sédimenter au fond de l'océan.

Energie d'une mole de photon :

$$e_{1\,mol\,ph.} = N_A \times e_{1\,ph.}$$

$$AN : e_{1\,mol\,ph.} = 6{,}0.10^{23} \times 4{,}95.10^{-19}$$

$$e_{1\,mol\,ph.} = 297\,000\,J = 297\,kJ\,.\,mol^{-1}$$

C'est approximativement l'énergie solaire reçue par une surface de 1 m² en plein été à Douai pendant 15 min.

♥

La lumière solaire est une forme d'énergie (*hν*) utilisable par les organismes vivants

On a vu dans les chapitres B4 et B5 que les transferts d'ions de part et d'autre d'une membrane, dans le sens spontané, libéraient une énergie fonction du rapport des concentrations entre les deux compartiments et de la différence de potentiel entre les deux compartiments.

L'enthalpie libre (G) est une grandeur qui a la dimension d'une énergie, et qui est **utilisable pour réaliser un travail**. C'est la raison pour laquelle on se concentre sur cette forme d'énergie **utilisable par la cellule**. La variation d'enthalpie libre d'une transformation consistant en le passage d'une mole d'ion I de charge algébrique z d'une compartiment 1 à un compartiment 2 séparés par une membrane, compartiments de concentrations respectives $[I]_1$ et $[I]_2$ avec une différence de potentiel électrique $\Delta E = E_2 - E_1$, est donnée par la loi de Nernst :

$$\Delta\mu = \mu_{final} - \mu_{initial} = \mu_2 - \mu_1 = RT \ln \frac{[I]_2}{[I]_1} + zF\Delta E$$ ♥

avec R la constante des gaz parfaits, T la température absolue et F la constante de Faraday. On rappelle que μ est l'enthalpie libre **molaire**, ce qui en fait une grandeur intensive*. Le passage de μ à G se fait en multipliant μ par la quantité de matière n considérée.

* demander la signification de ce terme à Picpic

En biologie cellulaire, on appelle **gradient électrochimique** (sous-entendu non nul) les conditions de **concentrations** et de **potentiels électrique transmembranaires** associées à un **Δμ non nul**. Dans la mesure où la transformation spontanée qui peut s’opérer à partir d’un gradient préexistant non nul libère de l’enthalpie libre ($\Delta\mu < 0$), **les gradients sont des réservoirs d’énergie potentielle utilisable par la cellule**, par des **couplages énergétiques**.

On verra dans ce chapitre qu’une grande partie de la compréhension du métabolisme des êtres vivants repose sur la compréhension des gradients comme **réservoirs d’énergie potentielle utilisable**.

Exercice : on considère deux compartiments 1 et 2 séparés par une membrane, avec $\Delta E = 0$. Les pH des deux compartiments diffèrent : $pH_1 = 4$ et $pH_2 = 8$.

- Calculez l'énergie (notée ΔG) libérée par le passage dans le sens du gradient d'une quantité de matière $n_1 = 1\ mol$ d'ions H_3O^+.
- Déterminez la quantité de matière n_2 d'ATP pouvant être formé (par phosphorylation d'ADP) à partir de cette énergie ΔG. On rappelle que l'enthalpie libre standard de synthèse de l'ATP est $\Delta_r G^{0'} = +30{,}5\ kJ.mol^{-1}$, et on considèrera que la variation d'enthalpie libre molaire pendant la réaction est égale à $\Delta_r G^{0'}$.

<u>Correction</u> : le pH le plus bas est celui du compartiment 1, c'est donc aussi celui où la concentration en H_3O^+ est la plus grande ; la différence de potentiel électrique est nulle, donc la transformation spontanée est $1 \rightarrow 2$. On applique la formule de Nernst :

$$\Delta G = n_1 \Delta\mu = n_1 \times \left(RT \ln \frac{[H_3O^+]_2}{[H_3O^+]_1} + zF\Delta E \right) = n_1 RT \ln \frac{[H_3O^+]_2}{[H_3O^+]_1} = n_1 RT \left(\ln [H_3O^+]_2 - \ln [H_3O^+]_1 \right)$$

Or $pH = -\log_{10}[H_3O^+] = -\dfrac{\ln[H_3O^+]}{\ln(10)} \Rightarrow \ln[H_3O^+] = -pH \times \ln(10)$

Donc $\Delta G = n_1 RT \ln(10) \times (pH_1 - pH_2)$

AN : $\Delta G = 1 \times 8{,}31 \times 310 \times 2{,}3 \times (4-8) = -23{,}7\,kJ$

La quantité d'ATP pouvant être formée par cette énergie est telle que $\Delta G + n_2 \times \Delta_r G^{0\prime} = 0 \Rightarrow n_2 = -\dfrac{\Delta G}{\Delta_r G^{0\prime}}$

AN : $n_2 = -\dfrac{-23{,}7.10^3}{30{,}5.10^3} = 0{,}78\,mol$. En théorie, on peut donc former un plus 3/4 d'une mole d'ATP en faisant passer une mole de H^+ à travers une membrane pour un ΔpH de 4. **Ce résultat sera repris plus tard (p. 31)**.

♥

Les gradients transmembranaires sont une forme d’énergie potentielle, dont la valeur se calcule par la loi de Nernst. Cette énergie est utilisable par la cellule.

De même que les gradients sont à l'origine de transformation spontanées libérant de l'enthalpie libre (donc de l'énergie utilisable par la cellule), les réactions chimiques, on l'a vu, peuvent libérer de l'enthalpie libre. On a vu dans le chapitre B9 qu'une relation lie la **constante d'équilibre** à l'**enthalpie libre standard** :

$$\Delta_r G^{0\prime} = -RT \ln K$$ ♥

Les molécules contiennent donc de l'énergie potentielle, qui peut être **libérée** (sous forme d'enthalpie libre notamment) lors des réactions chimiques. Cette énergie est présente sous la forme d'**énergie de liaison** entre les atomes d'une molécule, et c'est la rupture de liaisons et la formation de nouvelles liaisons qui provoque la libération de cette énergie.

Ceci est tout à fait général (pour toute réaction chimique), mais deux types de réactions sont particulièrement importantes en termes de transfert énergétique chez les êtres vivants :

- les réactions d'**oxydoréduction**
- les réactions de **transferts de phosphate**, notamment **l'hydrolyse et la synthèse d'ATP**

Nous allons voir en détail ces deux types de réaction et apprendre à les manier de façon à les utiliser dans une optique énergétique dans les systèmes vivants.

Une réaction d'**oxydoréduction** (parfois appelée plus simplement réaction redox) est une réaction chimique dans laquelle sont échangés des **électrons**. Cette définition peut surprendre, dans la mesure où les molécules sont toutes constituées d'électrons. L'origine de la compréhension de l'oxydoréduction réside dans la possibilité de construire des piles à partir de réactions redox, c'est-à-dire d'isoler la libération ou le captage d'électrons (*cf.* cours de Picpic).

Attention : il est courant de confondre réaction **redox** et réaction **acido-basique**, notamment parce que le bilan et/ou les demi-équations redox font parfois intervenir des ions H^+. Une réaction redox équilibrée avec des molécule d'eau ou des protons H^+ n'en est pas moins une réaction redox ! On rappelle qu'une réaction acido-basique est une réaction consistant en un échange de H^+ entre deux molécules appelées acide et base, **sans échange d'électrons**.

Toute réaction redox peut être séparée en **deux demi-équations**, impliquant chacune un **couple redox**. Le **réducteur** est le donneur d'électrons, et l'**oxydant** est l'accepteur d'électrons. On rappelle que, par convention, on écrit toujours les couples dans le sens oxydant/réducteur (et non réducteur/oxydant). Une demi-équation s'écrit : réducteur = oxydant + n e^-, avec n le nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction.

Quelques demi-équations très classiques en métabolisme doivent être absolument connues (ou retrouvées rapidement).

Exercice : déterminez les demi-équations des couples redox suivants.

- couple O_2/H_2O
- couple $NAD^+/NADH,H^+$
- couple $FAD/FADH_2$
- couple NO_3^-/NO_2^-
- couple CO_2/glucose
- couple carbonyle/hydroxyle
- couple carboxyle/carbonyle

Quelques demi-équations très classiques en métabolisme doivent être absolument connues (ou retrouvées rapidement).

Exercice : déterminez les demi-équations des couples redox suivants.

Correction :

- couple O_2/H_2O : $O_2 + 4\ H^+ + 4\ e^- = 2\ H_2O$
- couple $NAD^+/NADH,H^+$: $NAD^+ + 2\ e^- + H^+ = NADH$ (aussi écrite : $NAD^+ + 2\ e^- + 2\ H^+ = NADH,H^+$, qui ne correspond à aucune réalité chimique mais qui a le mérite de ne pas se poser la question du nombre de H^+ échangés par la réaction)
- couple $FAD/FADH_2$: $FAD + 2\ e^- + 2\ H^+ = FADH_2$
- couple NO_3^-/NO_2^- : $NO_3^- + 2\ e^- + 2\ H^+ = NO_2^- + H_2O$
- couple CO_2/glucose : $6\ CO_2 + 24\ H^+ + 24\ e^- = C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O$
- couple carbonyle/hydroxyle : $R\text{-}CH{=}O + 2\ e^- + 2\ H^+ = R{-}CH_2{-}OH$
- couple carboxyle/carbonyle : $R\text{-}COOH + 2\ e^- + 2\ H^+ = R{-}CH{=}O + H_2O$

On cherche à savoir si les réactions d'oxydoréduction se déroulent **dans un sens ou dans l'autre**. On pourrait tout à fait calculer ou mesurer un $\Delta_r G^{0'}$ pour les réaction redox : il est cependant plus simple de caractériser les réaction redox par les **potentiels redox** des deux couples mis en jeu. Ces potentiels sont en effet facilement mesurés grâce à la mesure de la tension électrique (différence de potentiel électrique) aux bornes d'une pile impliquant le couple considéré et le couple dont le potentiel standard est considéré arbitrairement comme étant nul (le couple H^+/H_2). Pour chaque couple, le potentiel standard est noté E^0 ; comme pour les enthalpies standard, les conditions standard utilisées en chimie (T = 25°C et $[H_3O^+] = 1$ mol.L^{-1}) ne sont pas adaptées aux conditions régnant dans les cellules vivantes. On adapte donc les valeurs aux standard biologiques (T = 37°C et $[H_3O^+] = 1.10^{-7}$ mol.L^{-1}), et on note les potentiels standards $\mathbf{E^{0'}}$.

Cette nuance est importante dans la mesure où vous serez amenés à rencontrer des valeurs qui, si on n'y prête pas attention, sont incohérentes entre le cours de chimie et le cours de biologie !

Exemple pour le couple O_2/H_2O :

- $\mathbf{E^0 (O_2/H_2O) = 1,23\ V}$ (chez Picpic)
- $\mathbf{E^{0'} (O_2/H_2O) = 0,815\ V}$ (chez les biologistes)

Il existe un lien entre les $\mathbf{E^{0'}}$ et le $\mathbf{\Delta_r G^{0'}}$ (et donc la constante d'équilibre K). Soient deux couples $\mathbf{ox_1/red_1}$ et $\mathbf{ox_2/red_2}$ caractérisés par des potentiels redox standards $\mathbf{E^{0'}_1}$ et $\mathbf{E^{0'}_2}$. La réaction $\mathbf{ox_2 + red_1 \rightarrow ox_1 + red_2}$ mettant en jeu **n électrons** a une enthalpie standard : $\mathbf{\Delta_r G^{0'} = - nF (E_2^{0'} - E_1^{0'})}$. La réaction est donc spontanée si et seulement si $\mathbf{- nF (E_2^{0'} - E_1^{0'}) < 0}$, donc si et seulement si $\mathbf{E_2^{0'} > E_1^{0'}}$ (c'est à dire que le $E^{0'}$ du réactif oxydant est plus grand que le $E^{0'}$ du réactif réducteur).

Cette dernière relation doit être connue **impérativement** : elle permet de connaître le sens d'évolution d'une réaction redox, et les potentiels standard sont très souvent donnés, et sont de façon générale faciles à déterminer.

Il existe heureusement plusieurs moyens de retenir cette relation (et surtout, le **sens** de l'inégalité).

Premier moyen : on pourra retenir que, de façon analogue aux couples acido-basiques, **le potentiel standard mesure la force de l'oxydant et du réducteur** :

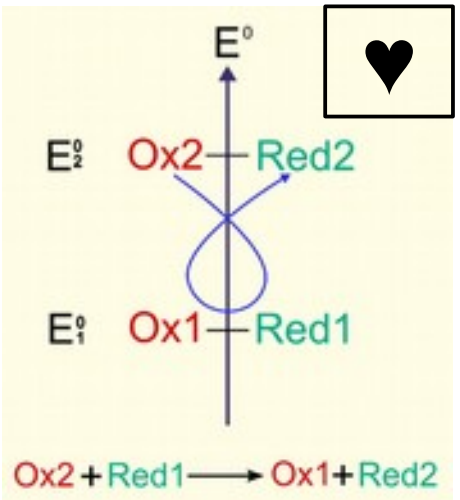
- Dans un couple avec un $E^{0'}$ très positif, l'oxydant est un **bon oxydant** et le réducteur est un **mauvais réducteur**.
- Dans un couple avec un $E^{0'}$ très négatif, l'oxydant est un **mauvais oxydant** et le réducteur est un **bon réducteur**.

Les réactions spontanées sont des réactions entre un bon oxydant et un bon réducteur.

Deuxième moyen : la méthode graphique, dite du « **gamma**. »

On place sur une échelle verticale les deux potentiels standard ; cette échelle est orientée vers le haut. Pour chaque couple, on place l'oxydant à gauche et le réducteur à droite. On peut alors représenter la réaction $\mathbf{ox_2 + red_1 \rightarrow ox_1 + red_2}$ par une flèche qui passe par les 4 pôles, en partant de ox2. Si cette flèche s'écrit dans le bon sens (c'est-à-dire de gauche à droite comme dans le schéma du document 1), la réaction est spontanée. Sinon, elle est non spontanée.

Nous ne sommes pas en cours de chimie : on vous demandera seulement de savoir retrouver le sens d'évolution d'une réaction redox, quel qu'en soit le moyen.



Document 1 : la détermination du sens d'une réaction redox par la méthode du gamma.

<u>Exercice d'application</u> : on cherche à savoir si le NADH peut réagir spontanément avec l'O_2. On donne les $E^{0'}$ des deux couples : couple 1 (O_2/H_2O ; $E_1^{0'} = +1{,}23$ V) et couple 2 ($NAD^+/NADH,H^+$: $E_2^{0'} = -0{,}32$ V).

Exercice d'application : on cherche à savoir si le NADH peut réagir spontanément avec l'O_2. On donne les $E^{0'}$ des deux couples : couple 1 (O_2/H_2O ; $E_1^{0'} = +1{,}23$ V) et couple 2 ($NAD^+/NADH,H^+$: $E_2^{0'} = -0{,}32$ V).

Correction :
On peut, même si ce n'est pas obligatoire, écrire le bilan. On commence par écrire les demi-équations :

- couple 1 : $O_2 + 4\ H^+ + 4\ e^- = 2\ H_2O$
- couple 2 : $NAD^+ + 2\ e^- + 2\ H^+ = NADH,H^+$

Afin d'éliminer les électrons dans le bilan, on multiplie la demi-équation 2 par 2. Le nombre d'électrons mis en jeu est alors n = 4. Le bilan est donc : $O_2 + 2\ NADH,H^+ \rightarrow 2\ H_2O + 2\ NAD^+$.

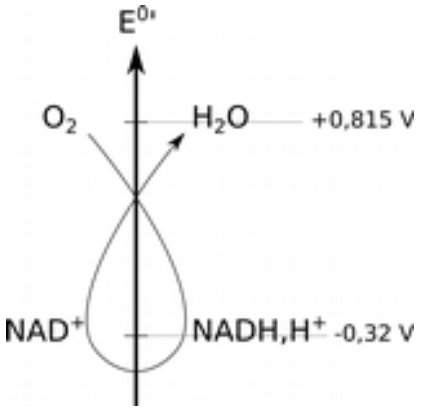
On compare les $E^{0'}$: le $E^{0'}$ de l'oxydant ($E_1^{0'}$) est plus grand que le $E^{0'}$ du réducteur ($E_2^{0'}$), donc la réaction est **spontanée**.

On peut aussi calculer l'enthalpie standard de réaction : $\Delta_r G^{0'} = -nF\left(E_1^{0'} - E_2^{0'}\right)$

AN : $\Delta_r G^{0'} = -4 \times 96500\left(1{,}23 - \left(-0{,}32\right)\right) = -438\,kJ\,.\,mol^{-1} < 0$

Donc la réaction est **spontanée**.

Enfin, on peut aussi vérifier que le gamma est dans le bon sens (schéma ci-contre).
Donc la réaction est **spontanée**.



Faut-il connaître des valeurs de potentiels standard de couples redox ?

Le programme ne spécifie pas qu'il faille connaître des valeurs de potentiels standard. Toutefois, la connaissance de **trois valeurs** est vivement conseillée. Il s'agit des couples

- couple $\mathbf{O_2/H_2O}$: $\mathbf{E^{0'} = +0{,}815\ V}$ (l'O_2 est un très fort oxydant, l'eau un très mauvais réducteur).
- couple $\mathbf{NAD^+/NADH,H^+}$: $\mathbf{E^{0'} = -0{,}32\ V}$ (le NAD+ est un assez mauvais oxydant, le NADH est un assez bon réducteur). On notera que le $E^{0'}$ du couple $\mathbf{NADP^+/NADPH,H^+}$ a exactement la même valeur de **–0,32 V**.
- couple $\mathbf{NO_3^-/NO_2^-}$: $\mathbf{E^{0'} = +0{,}40\ V}$ (le nitrate NO_3^- est un assez bon oxydant, le nitrite NO_2^- est un assez mauvais réducteur).

On rappelle que des valeurs désignent les potentiels standard dans les conditions biologiques, et que les valeurs trouvées en cours de chimie peuvent différer.

Au cas où, à ce stade, vous ne verriez plus trop le fil de ce cours, on rappelle qu'on essaie de montrer depuis le début de ce chapitre que des processus (ici les réactions redox) permettent de **libérer de l'énergie utilisable par la cellule**. On a donc bien vu ici que **les réaction redox**, lorsqu'elles se déroulent spontanément, **libéraient une énergie $\Delta_r G^{0'}$**, qui se calcule grâce à la **différence des potentiels redox $E_2^{0'} - E_1^{0'}$**.

Pourquoi se focalise-t-on sur les réactions redox plutôt que sur d'autres réactions ?

Depuis que les scientifiques se posent la question de la dualité vivant/non vivant, on a cherché à isoler des caractéristiques de la vie. Une caractéristique chimique des êtres vivants est, on le sait, sa richesse en carbone. Le carbone peut, en revanche, être présent sous plusieurs états plus ou moins oxydé. **Les molécules organiques constituent une forme très réduite de carbone**, par rapport aux formes les plus courantes dans l'environnement (le CO_2 et ses dérivés via des réaction acido-basiques que sont le HCO_3^- et le CO_3^{2-}).

Pour toute molécule organique X, **on peut écrire un couple redox de la forme CO_2/X**, où le CO_2 est l'oxydant et X le réducteur. **Comprendre la chimie de la vie revient donc à comprendre quels sont les processus qui permettent aux êtres vivants de posséder une matière carbonée réduite, pourtant rare dans l'environnement**.

Nous évoquerons cette question dans ce chapitre B11, mais nous la développerons bien plus dans le chapitre B12.

Quelques mots sur les **antioxydants** (hors programme) : on entend souvent parler, dans des médias plus ou moins racoleurs, des fameux **antioxydants**, aux propriétés prétendument extraordinaires. Le document 2 présente de façon humoristique la notion d'oxydoréduction, et notamment la notion d'antioxydant.

Les molécules des êtres vivants sont pour la plupart relativement **réduites** (c'est le cas de toute la **matière organique**) ; ce sont les molécules notées « non oxydé » sur le schéma. De nombreuses molécules, notamment dans l'environnement, sont **oxydantes**, c'est-à-dire susceptible de **voler des électrons** à d'autres molécules, notamment aux molécules organiques. Les **antioxydants**, souvent évoqués dans divers médias plus ou moins sérieux, sont des **molécules sacrificielles** qui sont attaquées par les oxydant, et qui sont **oxydées à la place des molécules réduites** constituant la matière organique.

Les antioxydants sont donc bien des molécules essentielles, mais ils sont habituellement présents en quantités suffisantes dans l'alimentation (vitamine C, anthocyanes…) et le battage médiatique autour de ces molécules est probablement largement motivé par un intérêt commercial plutôt que diététique ou scientifique.

Document 2 : modèle analogique de la notion de réaction d'oxydoréduction, et en particulier d'antioxydant.

♥

Les réactions redox sont un transfert d’électrons entre un donneur (réducteur) et un accepteur (oxydant).

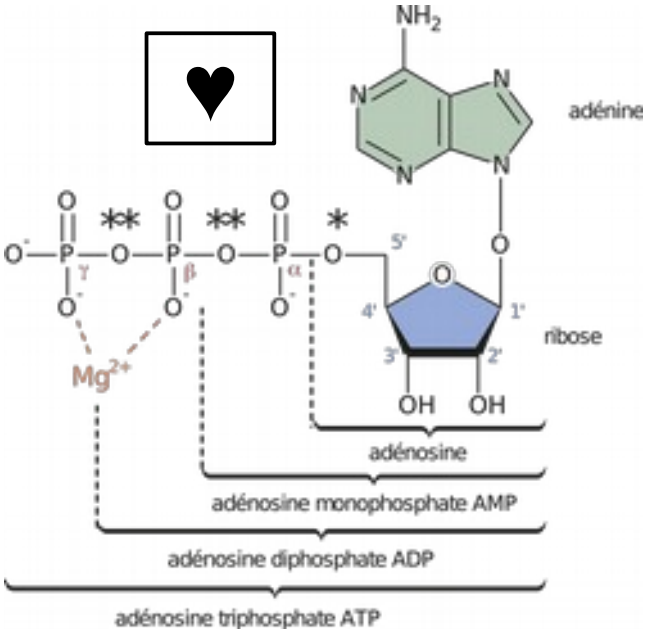
La spontanéité d’une réaction redox est connue par la comparaison des potentiels redox standard ($E^{0'}$) des deux couples ox/red.

L’énergie libérée par une réaction redox est utilisable par la cellule.

Parmi les réactions chimiques fondamentales chez les être vivants se trouve l'**hydrolyse de l'ATP**. On rappelle que cette molécule est un **ribonucléotide triphosphate à adénine** (voir schéma ci-contre). L'hydrolyse de la liaison entre le 2e et le 3e phosphate libère une quantité d'énergie appréciable. **D'où vient cette énergie ?**

Les oxygènes chargés négativement des 2e et 3e phosphates exercent l'un sur l'autre une forte répulsion, ce qui rend la molécule d'ATP très instable (c'est-à-dire, avec un niveau d'énergie important). Lorsque l'ATP n'est pas complexé à une enzyme (voir la notion de coenzyme dans le chapitre B10), il est présent dans la cellule lié à un ion Mg^{2+}, qui réalise une interaction avec les oxygènes chargés portés par le 2e et le 3e phosphore. Cette interaction stabilise l'ATP, et empêche son hydrolyse spontanée.

L'enthalpie libre standard de l'hydrolyse de l'ATP en ADP + Pi est, on l'a vu, de – 30,5 $kJ.mol^{-1}$. Est-ce une valeur très élevée ? si on la compare à l'énergie libérée par l'oxydation du glucose (2880 $kJ.mol^{-1}$), c'est très peu. Si on la compare à l'énergie moyenne d'une liaison hydrogène (de l'ordre de 10 $kJ.mol^{-1}$), c'est beaucoup. L'hydrolyse de l'ATP libère une **énergie moyenne**, utilisable pour la de très nombreux travaux cellulaires.



Document 3 : La molécule d'ATP. L'astérisque simple indiquent la liaison phosphoester stable entre le ribose et le 1er phosphate. Les doubles astérisques indiquent les deux liaisons (dites phosphoanhydre) instables.

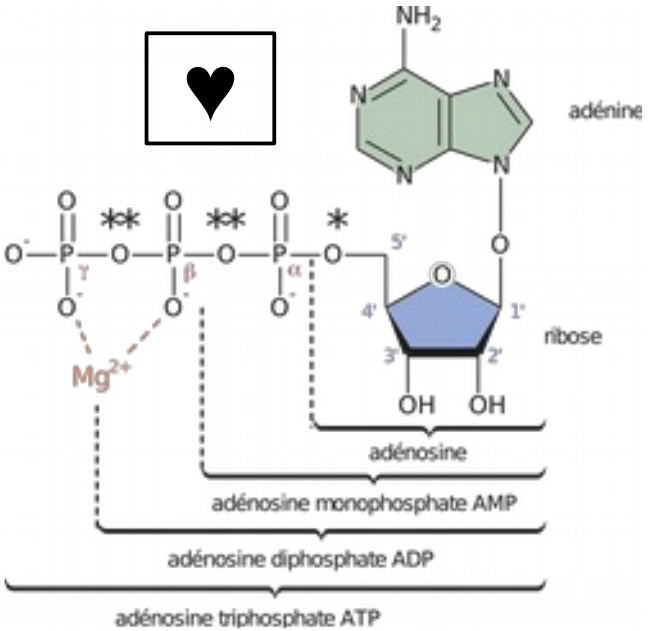
L'ATP est-il une **réserve énergétique** ?

Un organisme humain consomme en moyenne **40 kg d'ATP par jour**, mais la quantité d'ATP dans l'organisme à un instant donné est seulement de **45 g**, soit à peine plus de 0,1 % de la quantité totale consommée. Comment expliquer ce paradoxe ?

La réponse réside dans le ***turnover*** (ou renouvellement) : l'ATP est continuellement renouvelé par les cellules au fur et à mesure qu'il est consommé. Dans cette mesure, il est appelé **monnaie* énergétique**, le stock d'énergie étant constitué par les molécules de **réserve*** (glucides de réserves, lipides de réserve, *cf*. chapitre B2).

La réponse est donc ***non*** : l'ATP **n'est pas** une réserve énergétique, c'est une monnaie énergétique, qui permet de nombreux transferts de petite valeur énergétique.

* Dans le langage courant, la **monnaie** est utilisée pour de nombreux achats de faible valeur, si bien qu'un individu ne possède sur lui qu'une petite quantité de monnaie, régulièrement renouvelée par des retraits en distributeur. En revanche, ses **réserves** (le compte en banque) peuvent être très importantes.



Document 3 : La molécule d'ATP. L'astérisque simple indiquent la liaison phosphoester stable entre le ribose et le 1er phosphate. Les doubles astérisques indiquent les deux liaisons (dites phosphoanhydre) instables.

Comme on l’a vu, l’hydrolyse de l’ATP est exergonique, et cet ATP est renouvelé en continu au fur et à mesure qu’il est consommé. **L’enthalpie libre d’hydrolyse de l’ATP est l’opposé de l’enthalpie libre de synthèse de l’ATP**, donc **la synthèse d’ATP est endergonique**.

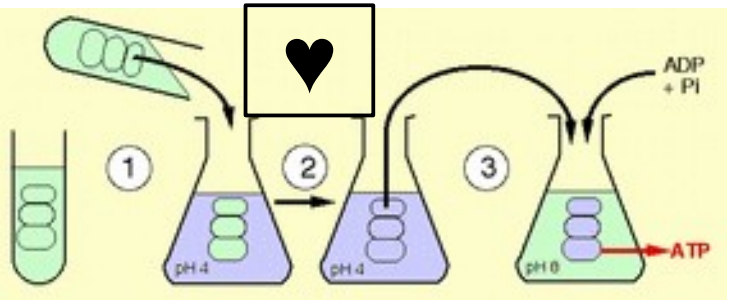
Nécessairement, on doit envisager un **couplage énergétique** pour expliquer qu’il y ait synthèse d’ATP.

On peut montrer qu’il existe deux modes de synthèse de l’ATP dans les cellules vivantes :
- La synthèse par **utilisation de l’énergie des gradients**
- La synthèse par **transphosphorylation**

On va voir chacun de ces deux modes.

Les **thylakoïdes** sont des compartiments, entourés par une membrane, qui se trouvent à l'intérieur des chloroplastes. En 1965, le biologiste américain **André Jagendorf** réalise l'expérience suivante (document 4).

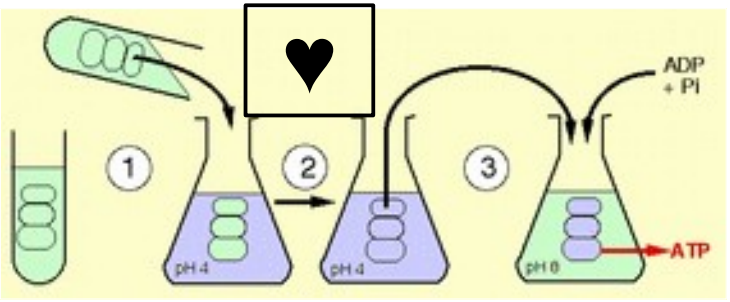
- Il isole des thylakoïdes, puis il les place dans une solution à pH 4.
- Malgré la relative imperméabilité de la membrane, la concentration en H^+ à l'intérieur et à l'extérieur du thylakoïde s'équilibre, si bien qu'au bout de plusieurs heures, le pH de l'intérieur des thylakoïdes est de 4.
- Enfin, il place les thylakoïdes dans un milieu à pH 8 contenant de l'ADP et du Pi. Il constate une **production d'ATP dans ce milieu**.



Document 4 :L'expérience de Jagendorf/ Voir le texte pour les détails.

Des témoins adéquats ont montré qu'il n'y avait pas de production d'ATP dans le milieu 1 ni dans le milieu 2, et que des thylakoïdes placés directement dans un milieu à pH8 ne produisent pas d'ATP. **Que s'est-il passé dans le tube 3 ?**

Dans le tube 3, l'intérieur du thylakoïde a un pH de 4, et l'extérieur a un pH de 8 (on rappelle que le pH mesure la concentration en ions H^+). Il existe donc un **gradient de H^+** entre l'intérieur et l'extérieur du tube. **C'est la seule forme d'énergie existant dans le tube 3 et absente dans le tube 2**. Jagendorf interprète que **l'énergie de ce gradient** (qui a été calculée dans l'exercice p. 11-12) **est à l'origine de la synthèse d'ATP**. Il s'agit donc d'un **couplage** entre une énergie d'un gradient et une énergie chimique : c'est un **couplage osmo-chimique**. Ce raisonnement doit pouvoir être refait en colle, y compris avec application numérique (exercice p 11-12).

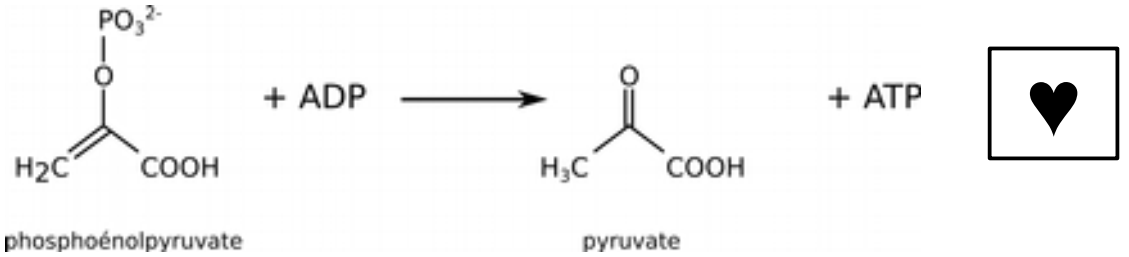


Document 4 :L'expérience de Jagendorf/ Voir le texte pour les détails.

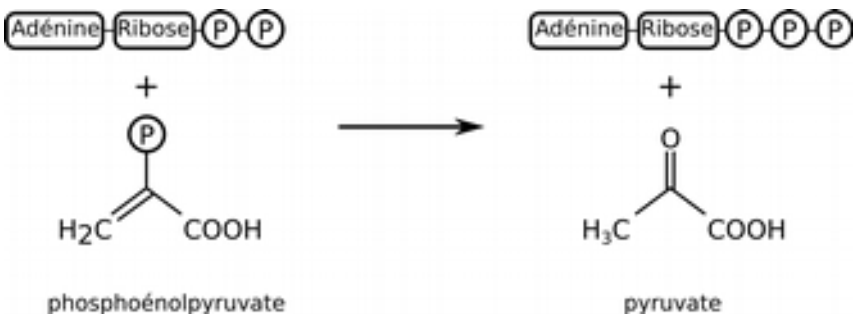
On peut se demander pour quelle raison il n'y a pas de production d'ATP dans le tube 1. Il faut noter que le gradient est inverse dans le tube 1 par rapport au tube 3 : la synthèse d'ATP se fait, on le verra, par des protéines qui ont une répartition particulière sur le thylakoïde, avec une orientation particulière.

On a montré par la suite que ce mode de synthèse d'ATP, mis en évidence ici chez les végétaux, est en réalité un des principaux modes de synthèse d'ATP chez les êtres vivants. On verra dans ce chapitre les modalités moléculaires de cette production d'ATP.

On a déjà évoqué dans des chapitres précédents une voie métabolique importante chez tous les êtres vivants : la glycolyse. Elle consiste en 10 réactions chimiques, qui ont toutes été élucidées. La dernière réaction de la glycolyse est la suivante :



Elle peut également être écrite de la façon suivante :



On constate qu'un groupement phosphate porté par le carbone 2 du phosphoénolpyruvate (PEP) a été **transféré à l'ADP**, de façon à **former de l'ATP**. Il s'agit d'une transphophorylation, ou **phosphorylation au niveau du substrat**. Plusieurs questions se posent alors :

- Comment cela est-il possible du point de vue énergétique ?
- Par quel mécanisme ce phosphate est-il transféré ?

Pour répondre à la première question (aspect énergétique), il faut se poser la question du couplage. On sait que le synthèse d'ATP est endergonique. Il faudrait pouvoir décomposer la réaction de la page précédente en deux réactions couplées.

On note (1) la réaction ADP + Pi → ATP + H_2O ($\Delta_rG^{0'}_1$ = + 30,5 kJ.mol^{-1}).

On note (2) la réaction PEP + H_2O → pyruvate + Pi (on peut montrer que $\Delta_rG^{0'}_2$ = – 62 kJ.mol^{-1}).

La réaction vue à la page précédente est la somme de (1) et (2), **donc le $\Delta_rG^{0'}$ global de cette réaction est $\Delta_rG^{0'} = \Delta_rG^{0'}_1 + \Delta_rG^{0'}_2 = 30,5 - 62 = -31,5$ kJ.mol^{-1} < 0**.

C'est donc bien un **couplage énergétique** entre une réaction chimique endergonique (la réaction 1) et une réaction chimique exergonique (la réaction 2) qui a permis le bilan vu à la page précédente. Il s'agit donc d'un **couplage chimio-chimique**.

Pour répondre à la deuxième question (par quel mécanisme le phosphate est transféré), il faut se remémorer le chapitre B10 et la notion de coenzyme. L'ADP est un coenzyme de nombreuses enzymes. Comme toute réaction chimique chez les êtres vivants, la production d'ATP par transphosphorylation à partir du PEP est catalysée par une **enzyme** (la mal-nommée pyruate kinase). Au niveau du site actif de cette enzyme, les deux substrats (l'ADP, qui est aussi coenzyme, et le PEP) sont intimement liés, ce qui permet le transfert de phosphate du PEP vers l'ADP, et, par là même, le transfert de l'énergie : les enzymes sont les **agents du couplage énergétique**.

Ce mode de formation d'ATP par **phosphorylation au niveau du substrat** est un peu moins important quantitativement que le mode de formation d'ATP par récupération de l'**énergie des gradients**, vu plus haut. On en verra d'autres occurrences, notamment dans le chapitre B12, au niveau de la **glycolyse** et du **cycle de Krebs**, deux voies métaboliques du catabolisme oxydatif.

♥

L’hydrolyse de l’ATP est spontanée et libère une énergie utilisable par la cellule.

La synthèse d’ATP nécessite de l’énergie qui peut venir d’une réaction chimique (phosphorylation au niveau du substrat) ou de l’énergie d’un gradient.

II. Les chaînes de transport d'électrons couplent des réaction redox à l'établissement d'un gradient de H^+

Dans cette partie, nous allons nous concentrer sur les modalités de prélèvement d'énergie dans l'environnement par des organismes ayant des métabolismes très différents, et nous verrons que l'ensemble des ces êtres vivants utilisent un mode de conversion particulier appelé **chaînes de transport d'électrons**.

Ces organismes sont les suivants :

- Les végétaux verts, dits **photolithotrophes***, qui pratiquent la **photosynthèse**, avec un organite essentiel : le **chloroplaste**.
- Les animaux, mais également de nombreux autres Eucaryotes dits **chimioorganotrophes***, qui utilisent la **mitochondrie**.
- ***Nitrobacter***, un genre d'Eubactéries du sol, dit **chimiolithotrophe***.

Nous commencerons par les **végétaux**, à la fois pour des raisons historiques (c'est la première chaîne de transport d'électrons élucidée) et pour des raisons de préséance écologique (la photosynthèse est la première voie d'entrée d'énergie dans la biosphère).

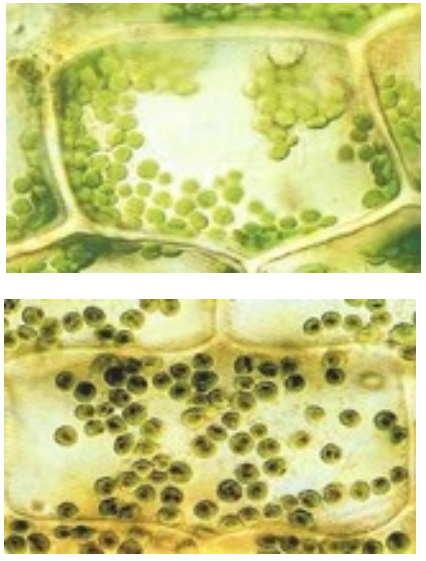
*Ces termes seront explicité au cours des deux chapitres B11 et B12.

Les **végétaux verts**, auxquels on s'intéresse dans cette partie, correspondent aux **Chlorobiontes**, c'est-à-dire les plantes terrestres (mousses, Filicophytes, Pinophytes, Angiospermes…) et les algues vertes. Ce groupe est **monophylétique**, et l'ensemble de ses individus partage le point commun de disposer d'un organite appelé **chloroplaste**.

Réalisons une expérience simple sur une élodée du Canada (une Angiosperme aquatique) :

- On place un plant d'élodée à l'obscurité pendant 12 h puis on prélève une feuille que l'on observe au microscope en présence d'eau iodée (lugol) : on n'observe pas d'amidon.
- On place un plant d'élodée à la lumière pendant 12 h puis on prélève une feuille que l'on observe au microscope en présence d'eau iodée (lugol) : on observe de l'amidon, qui est présent **dans les chloroplastes**.

Le chloroplaste est donc l'organite impliqué dans la synthèse de matière organique par la plante : c'est le lieu de la **photosynthèse***. On dit que les plantes sont **autotrophes pour le carbone**, c'est-à-dire qu'elles sont capables de **synthétiser leur matière organique à partir de CO_2 comme seule source de carbone**.



Document 5 : observation au microscope d'une cellule d'élodée non éclairée (haut) ou éclairée (bas) pendant 12 h dans du lugol.

*En toute rigueur, cette seule expérience ne permet pas de le démontrer ; de nombreuses autres expériences ont permis de montrer que c'était bien le chloroplaste qui permettait la photosynthèse.

La **photosynthèse** est une **voie métabolique** dont le bilan est le suivant :

$$\mathbf{6\ CO_2 + 6\ H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6\ (glucose) + 6\ O_2}$$

Exercice : montrer que le bilan de la photosynthèse correspond à une réaction d'oxydoréduction impliquant deux couples, que l'on précisera.

La **photosynthèse** est une **voie métabolique** dont le bilan est le suivant :

$$\mathbf{6\ CO_2 + 6\ H_2O \rightarrow C_6H_{12}O_6\ (glucose) + 6\ O_2}$$

Exercice : montrer que le bilan de la photosynthèse correspond à une réaction d'oxydoréduction impliquant deux couples, que l'on précisera. On précisera le nombre d'électrons échangés.

Correction : on sait que le CO_2 est oxydé, et que l'O_2 est (étymologiquement) un oxydant. Ce sont donc les deux oxydants de la réaction. Le glucose est donc le réducteur correspondant au CO_2, et l'eau est le réducteur correspondant à l'O_2. On a donc les couples et demi-équations :

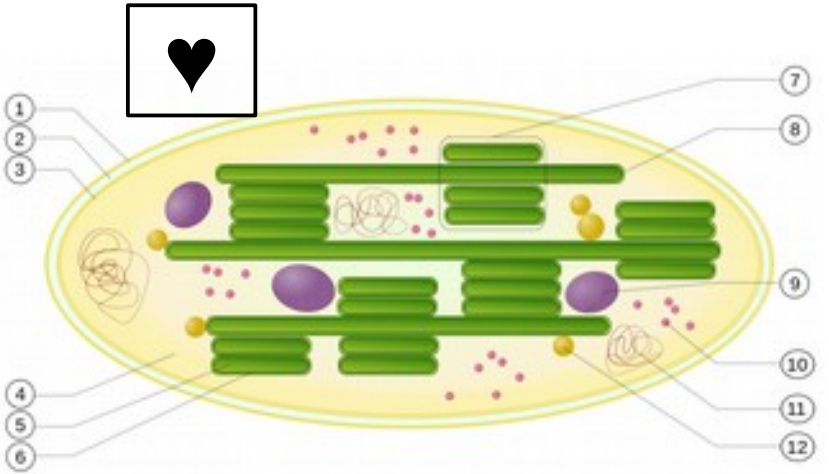
- $CO_2/C_6H_{12}O_6$: $6\ CO_2 + 24\ e^- + 24\ H^+ = C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O$
- O_2/H_2O : $O_2 + 4\ e^- + 4\ H^+ = 2\ H_2O$

Il faut multiplier la 2^e demi-équation par 6, et le bilan fait donc intervenir **24 électrons**. Ce nombre doit être mémorisé : sera un fil directeur des deux chapitres B11 et B12.

On retiendra que la photosynthèse consiste en une **réduction du CO_2 par l'eau**, permettant la **synthèse de glucose**, et le rejet d'un **déchet : le O_2**.

Les chloroplastes de toutes les espèces au sein des chlorobiontes ont une structure fondamentale semblable (document 6). Il est constitué de **deux membranes** (formant une enveloppe) dont l'origine a été vue dans le chapitre B6 (origine endosymbiotique des plastes). L'intérieur du chloroplaste contient des dizaines de compartiments appelés **thylakoïdes** (de θύλακος /thilakos/ : le sac). On verra que ces thylakoïdes sont essentiels dans la photosynthèse.

On ne reviendra pas sur les aspects génétiques du chloroplaste, qui ont été vus dans le chapitre B6. On va plutôt se concentrer sur l'aspect énergétique : **quels sont les mécanismes qui permettent la photosynthèse au sein du chloroplaste ?**



Document 6 : Structure d'un chloroplaste. 1. Membrane externe ; 2. Espace intermembranaire ; 3. Membrane interne ; 4. Stroma ; 5. Lumière d'un thylakoïde. 6. Membrane d'un thylakoïde ; 7. Granum ; 8. Thylakoïde agranaire. 9. Grain d'amidon. 10. Ribosome. 11. ADN. D'après Wikimedia Commons.

♥

Les végétaux sont autotrophes pour le carbone.

Le chloroplaste est l'organite où a lieu la photosynthèse. C'est un organite endosymbiotique, et il contient des thylakoïdes.

La photosynthèse est une réduction de CO_2 en glucose, libérant un déchet (le O_2).

Nous avons vu, dans l'exercice précédent, que la photosynthèse était *a priori* une réaction redox. Ecrire une réaction possible n'est cependant pas la démonstration qu'elle se produit réellement. Dans la réaction que nous avons écrite, on voit que l'O_2 produit par la photosynthèse provient de l'oxydation de l'eau.

En 1941, **Sam Ruben** de **Martin Kamen**, deux chimistes américains, réalisent l'expérience suivante. Ils cultivent des plantes dans deux milieux différents :

- **Milieu 1** : l'air est enrichi en $C^{18}O_2$, un CO_2 dont l'oxygène est l'isotope 18, plus lourd et détectable ; l'eau d'arrosage est une eau normale, non enrichie en $H_2{}^{18}O$, donc riche en $H_2{}^{16}O$.
- **Milieu 2** : l'air n'est pas enrichi en $C^{18}O_2$, et contient donc du $C^{16}O_2$; l'eau d'arrosage est enrichie en $H_2{}^{18}O$.

On analyse alors l'O_2 produit par les plantes lors de la photosynthèse :

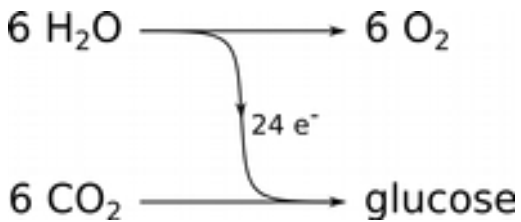
- Milieu 1 : l'O_2 est riche en ^{16}O, c'est-à-dire l'oxygène **provenant de l'eau**.
- Milieu 2 : l'O_2 est riche en ^{18}O, c'est-à-dire l'oxygène **provenant de l'eau**.

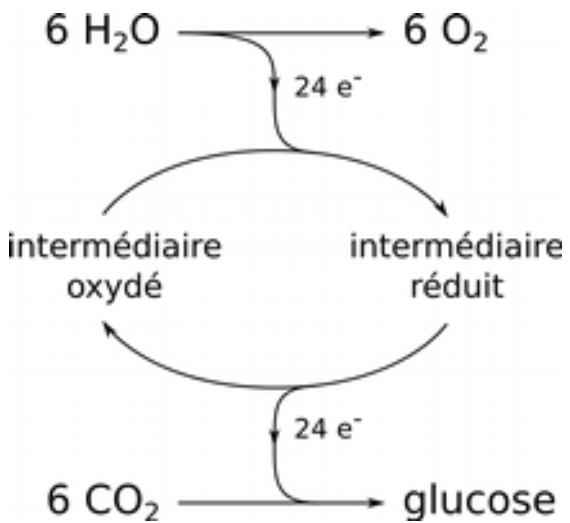
Le dioxygène libéré par la photosynthèse provient donc bien **de l'eau**. On va par la suite chercher à comprendre les modalités énergétiques de cette production.

	Milieu 1	Milieu 2
Source de CO_2	$C^{18}O_2$	$C^{16}O_2$
Source d'eau	$H_2{}^{16}O$	$H_2{}^{18}O$
Produit	$^{16}O_2$	$^{18}O_2$

Document 7 : Résultat de l'expérience de Ruben et Kamen (1941). Des plantes ont été cultivées dans deux milieux : riche en $C^{18}O_2$ ou riche en $H_2{}^{18}O$. On analyse l'eau produite afin de savoir si elle provient de l'eau ou du CO_2.

On sait (par l'expérience de Ruben et Kamen) que **l'eau est oxydée en O_2** lors de la photosynthèse. Le bilan de la photosynthèse (p. 40) montre que c'est le CO_2 qui récupère les électrons libérés par cette oxydation. On s'est posé la question de savoir si le CO_2 récupérait directement ces électrons, ou s'il existait un intermédiaire. On peut schématiser ces deux situations hypothétiques de la façon suivante :



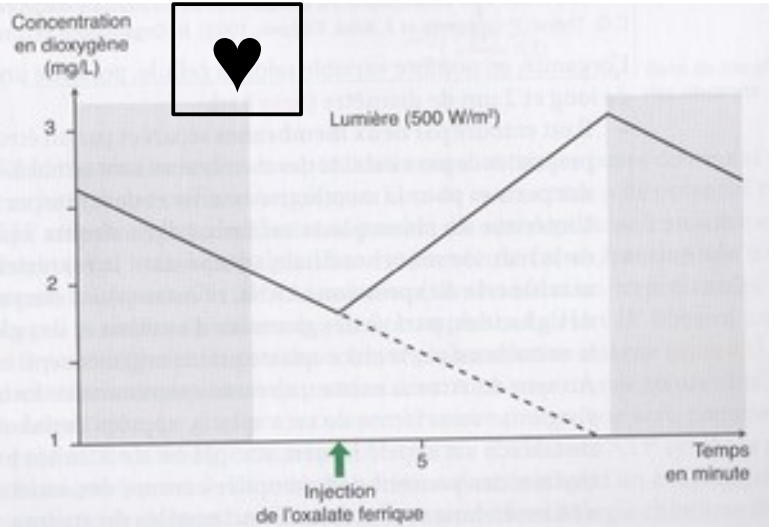


A gauche, les électrons issus de l'eau sont directement transférés au CO_2. A droite, il existe un intermédiaire qui récupère les électrons, et les utilise pour réduire le CO_2 ultérieurement. L'expérience de Hill va permettre de valider une de ces hypothèses.

En 1938, le biochimiste britannique **Robin Hill** extrait des chloroplastes, et les broie finement pour isoler les thylakoïdes. Il mesure pendant toute la durée de l'expérience la concentration en O_2.

L'expérience se déroule en 4 étapes, correspondant à 4 conditions différentes :

1. t = 0 : suspension de thylakoïdes **à l'obscurité**.
2. t = 2 min 30 s : la suspension est **éclairée**.
3. t = 3 min 30 s : on ajoute de l'**oxalate ferrique***, toujours **à la lumière**.
4. t = 7 min 30 s : la lumière est éteinte, la suspension repasse **à l'obscurité**.

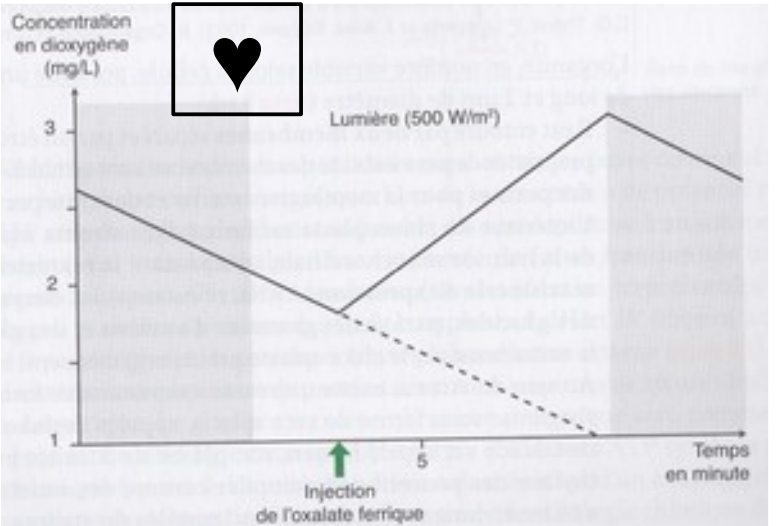


Document 8 : l'expérience de Hill.

*l'oxalate ferrique est une **source de fer oxydé (Fe(III), ou Fe^{3+})**, qui est chélaté par l'oxalate. On retiendra donc que c'est le Fe^{3+} qui est l'élément important de ce réactif, et non l'oxalate. Un réactif alternatif peut être utilisé : le ferricyanure de potassium, qui est, encore une fois, un ion Fe^{3+} chélaté (ici, par l'ion cyanure).

On observe le résultat suivant (document 8 ci-contre) :

- Pendant les deux premières étapes (obscurité ou lumière, mais **sans** ferricyanure), on a une diminution de la concentration en O_2. Elle est due à l'activité des mitochondries extraites en même temps que les thylakoïdes, voire à des bactéries présentes dans le suspension. Cette diminution est un **artéfact** n'a rien à avoir avec l'activité des thylakoïdes ou la photosynthèse.
- Lors qu'on ajoute le Fe^{3+}, on observe une **production d'O_2** (due à l'oxydation de l'eau).
- Lorsqu'on éteint la lumière, on observe **un arrêt de la production d'O_2**.

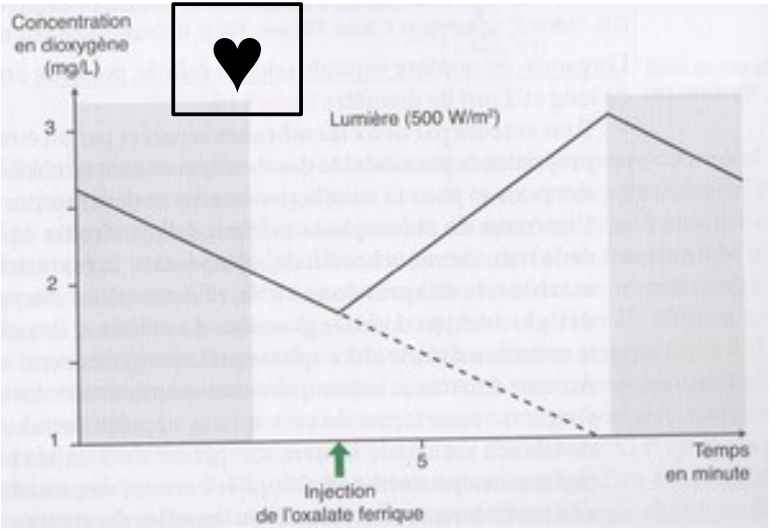


Document 8 : l'expérience de Hill.

On en déduit donc que :

- **Les thylakoïdes sont responsables de l'oxydation de l'eau**.
- Cette oxydation n'a lieu qu'**en présence de lumière**. (**photooxydation**).
- Le Fe^{3+} peut accepter les électrons issus de cette oxydation : il constitue donc un **intermédiaire** entre l'oxydation de l'eau et la réduction du CO_2.

On peut montrer qu'il existe *in vivo* de nombreux intermédiaires, dont le Fe^{3+} qui entre dans la composition d'une protéine à **hème**, appelée **ferredoxine**. Ces intermédiaires sont **dans la membrane des thylakoïdes** ou **associées à la membrane des thylakoïdes** : on parle de **chaîne de transport d'électrons** pour désigner la série de réactions redox depuis la photooxydation de l'eau (entrée des électrons dans le chaîne) jusqu'à l'accepteur final (sortie des électrons de la chaîne). On peut montrer que l'accepteur final d'électrons est le **coenzyme redox $NADP^+$**, qui est donc **réduit en $NADPH,H^+$**.



Document 8 : l'expérience de Hill.

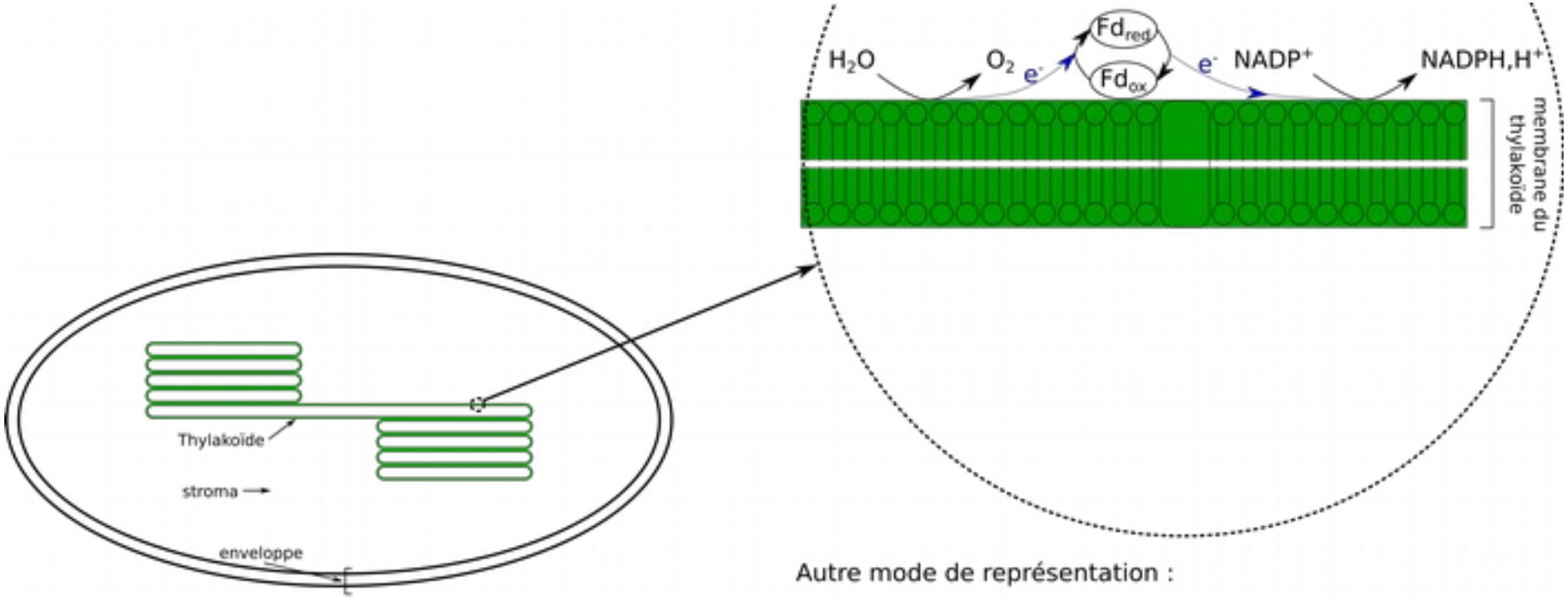
Bilan :

- L'eau est **oxydée en O_2** grâce à la **lumière**.
- Les électrons libérés par cette oxydation sont **récupérés par les molécules de la chaîne de transport d'électrons**.
- L'accepteur final d'électrons est le $NADP^+$, qui est réduit en $NADPH,H^+$.
- On en déduit l'équation bilan : $\mathbf{2\ NADP^+ + 2\ H_2O \rightarrow 2\ NADPH,H^+ + O_2}$

On a déjà vu que le NADPH était un coenzyme (version réduite). Il faut surtout garder en tête que le NADPH est une molécule possédant un **pouvoir réducteur utilisable par la cellule**, et la photosynthèse ne peut pas être comprise si on oublie qu'il s'agit d'une voie métabolique permettant la réduction de CO_2 en glucose : une **réduction** est nécessaire.

De même que l'ATP est une **monnaie énergétique pour la cellule**, le NADPH peut être vu comme une **monnaie réductrice** (bien que ce terme ne soit pas utilisé). On parlera pour le NADPH de **pouvoir réducteur**.

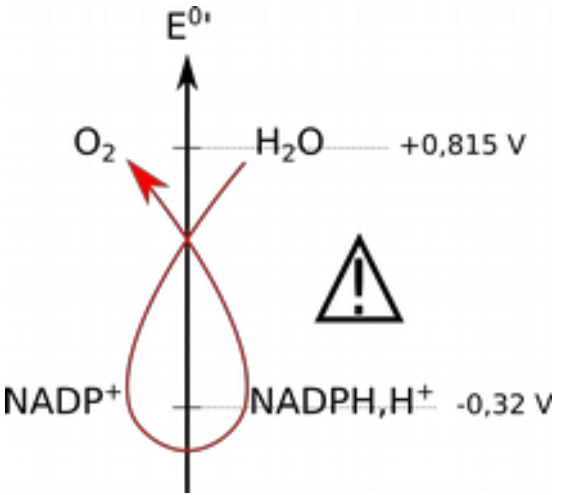
Le schéma de la page suivante rend compte de l'état des connaissances à ce stade du chapitre.



Document 9 : les premiers éléments de la chaîne de transport d'électrons du chloroplaste. Les deux côtés de la membrane sont volontairement non orientés, dans la mesure où on n'a pas encore vu quels étaient les compartiments impliqués dans telle ou telle étape. La couleur verte choisie pour la membrane permet de rappeler qu'elle contient des pigments, et notamment de la chlorophylle. On verra par la suite que la chlorophylle n'est pas répartie de façon homogène dans la membrane des thylakoïdes. Ce schéma est donc une étape préliminaire qui fait un bilan des connaissances à ce stade. Il va être complété par la suite.

Comme on l'a vu dans le I.3.a., on peut prévoir le sens de réalisation des réaction redox en comparant les potentiels redox des deux couples mis en jeu. Les potentiels sont ici :

- Couple O_2/H_2O : $E^{0'}_1 = 0{,}815$ V
- Couple $NADP^+/NADPH,H^+$: $E^{0'}_2 = -0{,}32$ V
- Par calcul du $\Delta_r G^{0'}$ ($\Delta_r G^{0'} = -nF\,(E^{0'}_2 - E^{0'}_1) > \mathbf{0}$, donc **endergonique**) ou par la règle du gamma (ci-dessous), on montre que **cette réaction ne peut pas se produire spontanément**. Il faut donc envisager un apport d'**énergie**. C'est la **lumière qui permet cet apport**. On va voir dans la suite du chapitre **par quelles modalités**.



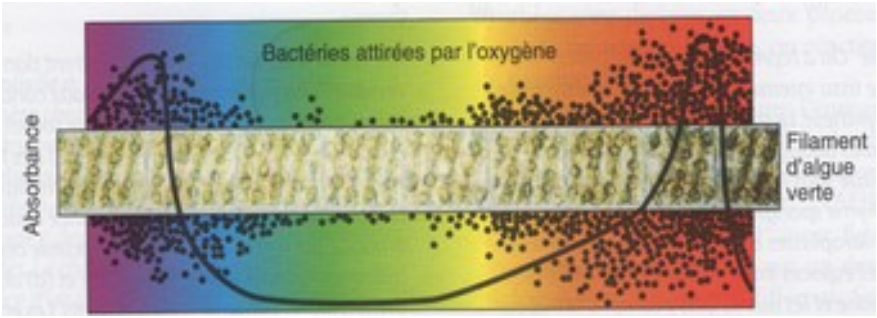
♥

Au niveau des thylakoïdes, l'eau est oxydée en O_2 grâce à la lumière (photooxydation).

Les électrons libérés par cette oxydation ne réduisent pas directement le CO_2 mais sont transférés à diverses molécules dans une chaîne de transport d'électrons.

L'accepteur final d'électrons est le $NADP^+$, qui est réduit en NADPH : c'est un pouvoir réducteur utilisable par la cellule.

Les végétaux verts sont immédiatement reconnaissables à leur **couleur verte**. Très tôt, on a eu l'intuition que cette couleur étaient en lien avec la croissance des végétaux, et que l'efficacité de leur métabolisme dépendait de la longueur d'onde de la lumière. Une des première expériences permettant la mesure de l'efficacité photosynthétique en fonction de la longueur d'onde est due à Theodor Wilhelm Engelman, un biologiste allemand. En 1882, il cultive des **bactéries aérobies** (qui ont besoin de dioxygène) à proximité d'une algue filamenteuse éclairée par une lumière blanche réfractée par un prisme. Les différentes parties de l'algue sont donc éclairées par des longueur d'onde différentes. Engelman mesure l'effectif bactérien à proximité de l'algue : l'effectif bactérien est proportionnel à la quantité d'O_2, donc proportionnel à l'efficacité de la photosynthèse.



Document 10 : L'expérience d'Engelman. Le point correspondent aux bactéries observées, et la courbe correspond à leur effectif. D'après Biologie végétale, Raven, 2012.

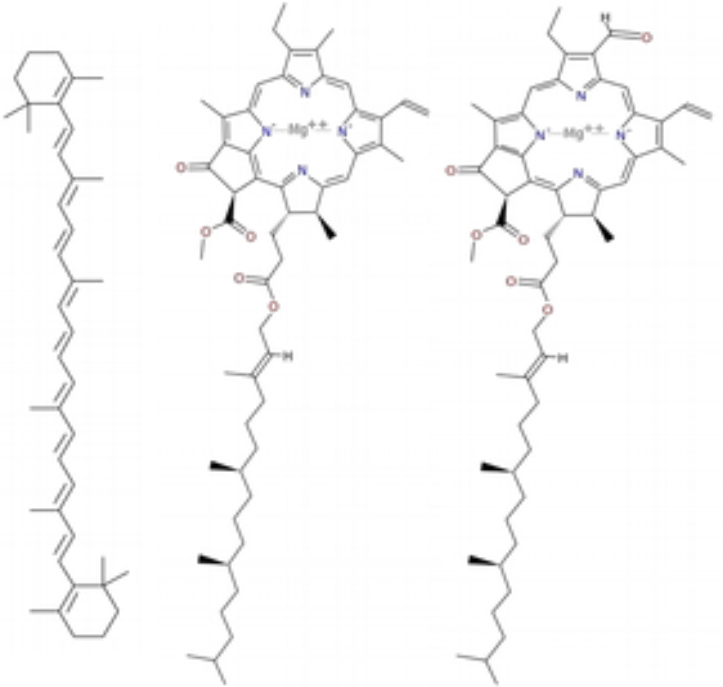
Il constate que **l'efficacité photosynthétique est maximal pour deux gammes de longueur d'onde** : **les petites longueur d'onde (lumière bleue et violette) et les grandes longueur d'onde (lumière rouge)**.

La couleur des végétaux est due à des **pigments**, et en particulier trois pigments : la **chlorophylle *a***, la **chlorophylle *b*** et les **caroténoïdes**. Leur formule est donnée dans le document 11.

Etymologiquement, *chlorophylle* signifie *vert des feuilles*, de χλωρός /chloros/ : *vert*, et φύλλον /phyllon/ : *la feuille*. *Carotène* signifie *alcène de la carotte*, car c'est une molécule riche en groupement alcène, et qu'elle a été décrite chez la carotte, à laquelle elle donne sa couleur orange.

Les propriétés chimiques de ces pigments sont remarquables :

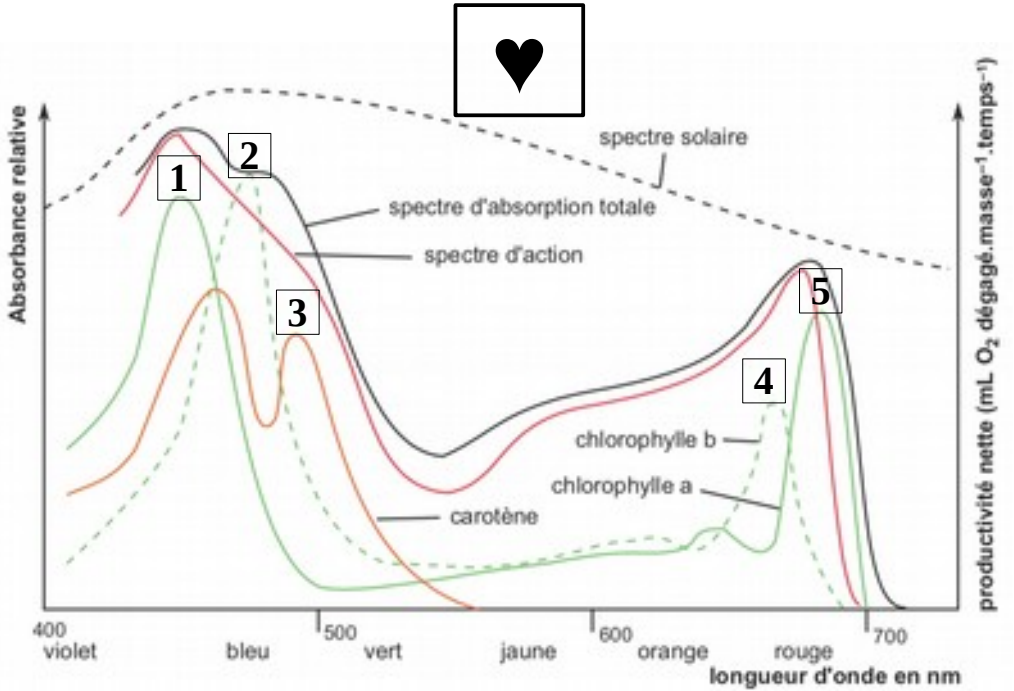
- Elles sont hydrophobes (pour les chlorophylles) à très hydrophobes (pour le carotène). On peut montrer que ces trois molécules, pour cette raison, sont présentes **dans la membrane des thylakoïdes**.
- Elles possèdent de nombreux électrons π délocalisés, qui leur permet d'interagir fortement avec la lumière : on peut prévoir que ces trois molécules **absorbent fortement certaines radiations lumineuses**.
- Les deux chlorophylles possèdent un **noyau chlorine**, qui permet de chélater un **ion Mg^{2+}**. Il est important dans l'absorption de la lumière par les chlorophylles.



Document 11 : Structure du β-carotène (gauche), de la chlorophylle a (milieu) et de la chlorophylle b (droite)

On a déterminé le spectre d'absorption des pigments photosynthétique, c'est-à-dire graphe donnant l'absorbance fonction de la longueur d'onde. Le document 12 présente, sur le même diagramme :

- Le **spectre d'absorption** des deux chlorophylles et du β-carotène.
- Le **spectre d'absorption totale**, qui est le spectre d'absorption d'une solution de pigments totaux ; il prend en compte la quantité relative de chaque pigment.
- Le spectre solaire, c'est à dire l'intensité relative de lumière solaire pour les diverses longueurs d'onde.
- Le **spectre d'action**, qui a déjà été abordé avec l'expérience d'Engelman (document 10).



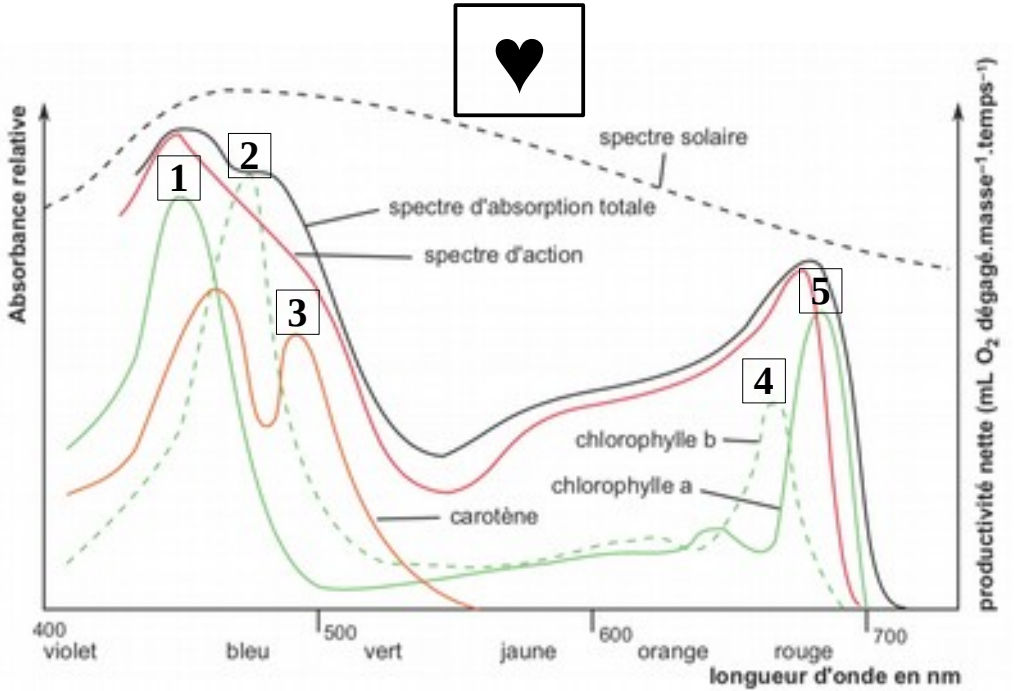
Document 12 : Les spectres d'absorption des chlorophylles a et b et du β-carotène, le spectre d'absorption totale des pigments, le spectre d'action de la photosynthèse et le spectre solaire. Pour les chiffres 1 à 5, voir document 13 page 56. D'après Biologie Tout en Un, BCPST 1ère année, Peycru et al, 2012, Dunod.

On constate plusieurs choses :

- les chlorophylles *a* et *b* ont **deux pics d'absorption**, l'un dans le bleu, l'autre dans le rouge.
- Les caroténoïdes ont deux pics d'absorption tous deux dans le bleu ou le bleu-vert.
- **Le spectre d'action et le spectre d'absorption totale se superposent quasiment parfaitement.**

On en déduit que les divers maxima d'absorption par les trois classes de pigments sont **à l'origine de la récupération d'énergie lumineuse**, qui est transmise au système photosynthétique et permet la photosynthèse.

On notera qu'une part non négligeable du spectre solaire (entre 520 et 630 environ) est associé à une efficacité photosynthétique faible, notamment en raison de la faible absorption des pigments à ces longueurs d'onde.

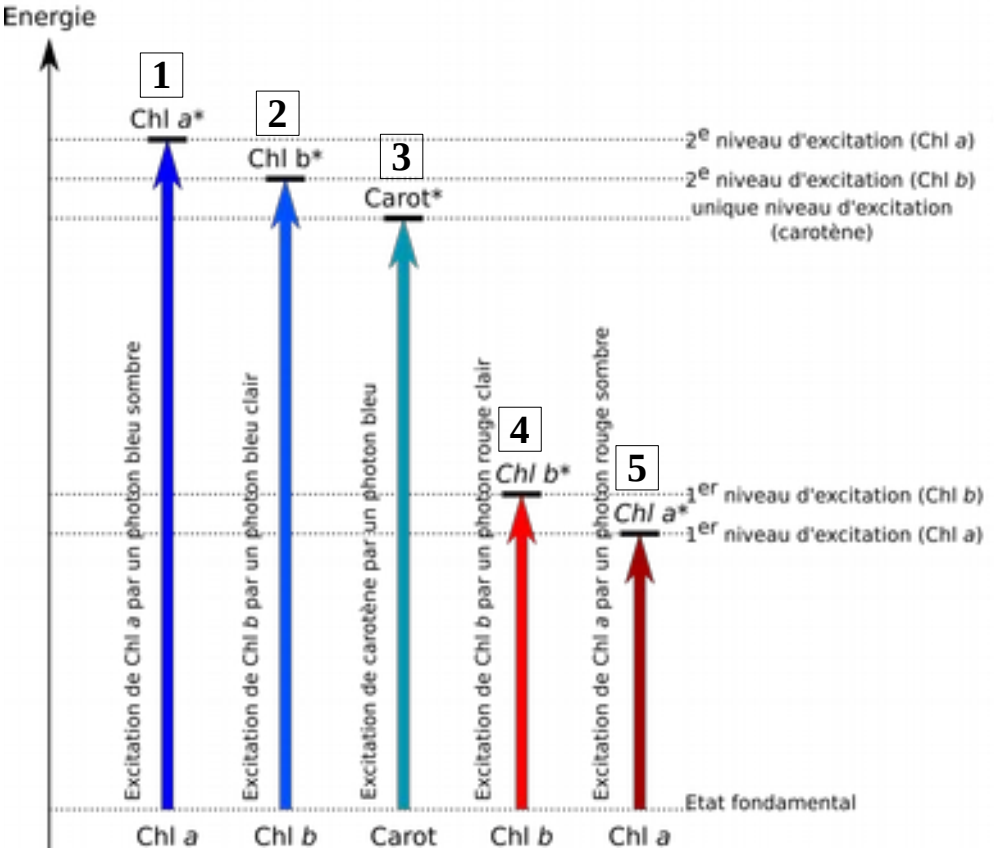


Document 12 : Les spectres d'absorption des chlorophylles a et b et du β-carotène, le spectre d'absorption totale des pigments, le spectre d'action de la photosynthèse et le spectre solaire. Pour les chiffres 1 à 5, voir document 13 page 56. D'après Biologie Tout en Un, BCPST 1ère année, Peycru et al, 2012, Dunod.

Comment fonctionne, **au niveau moléculaire** cette récupération de l'énergie solaire ?

Lorsqu'une chlorophylle ou un caroténoïde absorbe un photon, la molécule passe d'un état dit **fondamental** (de **basse énergie**) à un état dit **excité** (de **haute énergie**). Les états fondamentaux ou excités sont dit **quantifiés** : une molécule ne peut être que dans l'un de ces états, mais pas entre les deux. Le document 13 présente ces états.

- Les **caroténoïdes** ont deux pics d'absorption très proches, et ils ont **un seul état excité**, qui peut être atteint par l'absorption d'un photon bleu ou bleu vert (document 12).
- Les **chlorophylles** ont chacune deux pics d'absorption très différents (document 12), correspondant à **deux états d'énergie différents**. Le premier état d'excitation est atteint par l'absorption d'un photon bleu, de courte longueur d'onde (haute énergie), et le 2e état excité est atteint par l'absorption d'un photon rouge, de grande longueur d'onde (faible énergie).



Document 13 : les états d'excitation des pigments photosynthétiques. Notez les 2 états excités des chlorophylles, correspondant aux deux pics d'absorption. Les couleurs correspondent à la couleur du photon absorbé. On note avec une astérisque les molécules excitées. Les chiffres correspondent aux 5 pics dans le document 12. Production personnelle

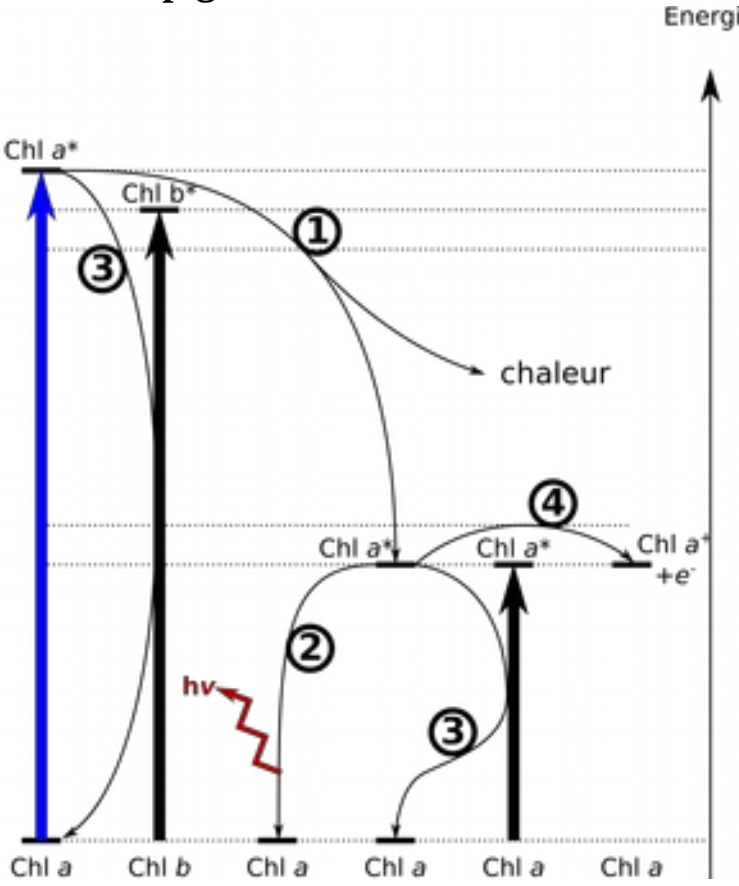
Les 5 niveaux d'énergie des pigments sont les suivants :

Chl *a* (*bleu*) > Chl *b* (*bleu clair*) > Caroténoïde (*bleu-vert*) > Chl *b* (*rouge clair*) > Chl *a* (*rouge sombre*)

On notera que ces niveaux d'énergie décroissante étaient prévisibles dans le diagramme du spectre d'absorption.

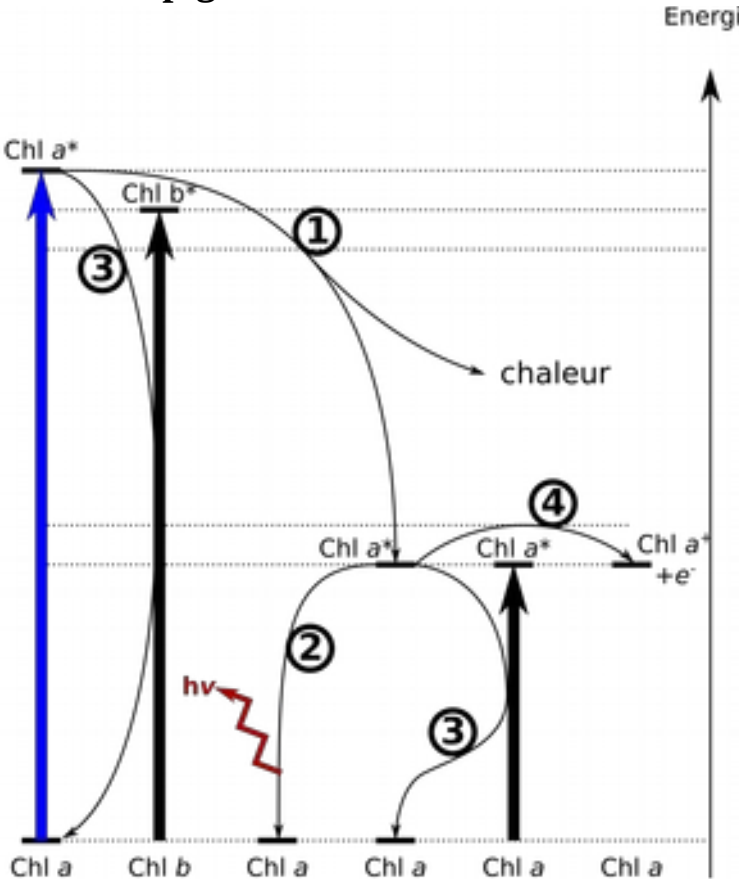
Les molécules excitées sont dans un **état instable**. Elles subissent rapidement un retour vers un état moins excité, qui peut se fait de plusieurs façons (document 14) :

- Par transformation de l'énergie reçue en **chaleur (1)**. L'énergie n'est alors pas utilisable par la plante.
- Par **fluorescence (2)**. Il s'agit de l'**émission d'un photon**. Pour les chlorophylles, c'est un photon rouge qui est émis par transition entre l'état excité 1 et l'état fondamental. On peut voir cette fluorescence sur la vidéo suivante : https://www.youtube.com/watch?v=_qZjKKRNBCU. L'énergie est alors également perdue par la plante



Document 14 : quatre modes de désexcitation des pigments excités. 1 : perte sous forme de chaleur. 2 : fluorescence et émission d'un photon. 3 : résonance. 4 : ionisation (oxydation). Voir détails dans le texte. Production personnelle.

- Par **résonance (3)**. Il s'agit d'un transfert d'énergie d'une molécule donneuse dont le niveau d'excitation est identique ou légèrement supérieur à celui de la molécule receveuse. De tels transferts par résonnance ne sont possible que si les deux molécules sont très proches (distance de quelques nm maximum). Le document 14 présente deux exemples de résonances, cependant non exhaustifs. Ce transfert par résonance permet de conserver l'énergie dans la plante, et on verra qu'il est essentiel pour la compréhension de la photosynthèse.
- Par **ionisation, ou oxydation(4)**. Ce mode ne concerne que la **chlorophylle *a***, qui peut **perdre un électron** (c'est-à-dire s'oxyder), et passer alors de **chlorophylle *a**** à **chlorophylle a^+**. Ce mode de transfert énergétique est essentiel dans la compréhension de la photosynthèse.



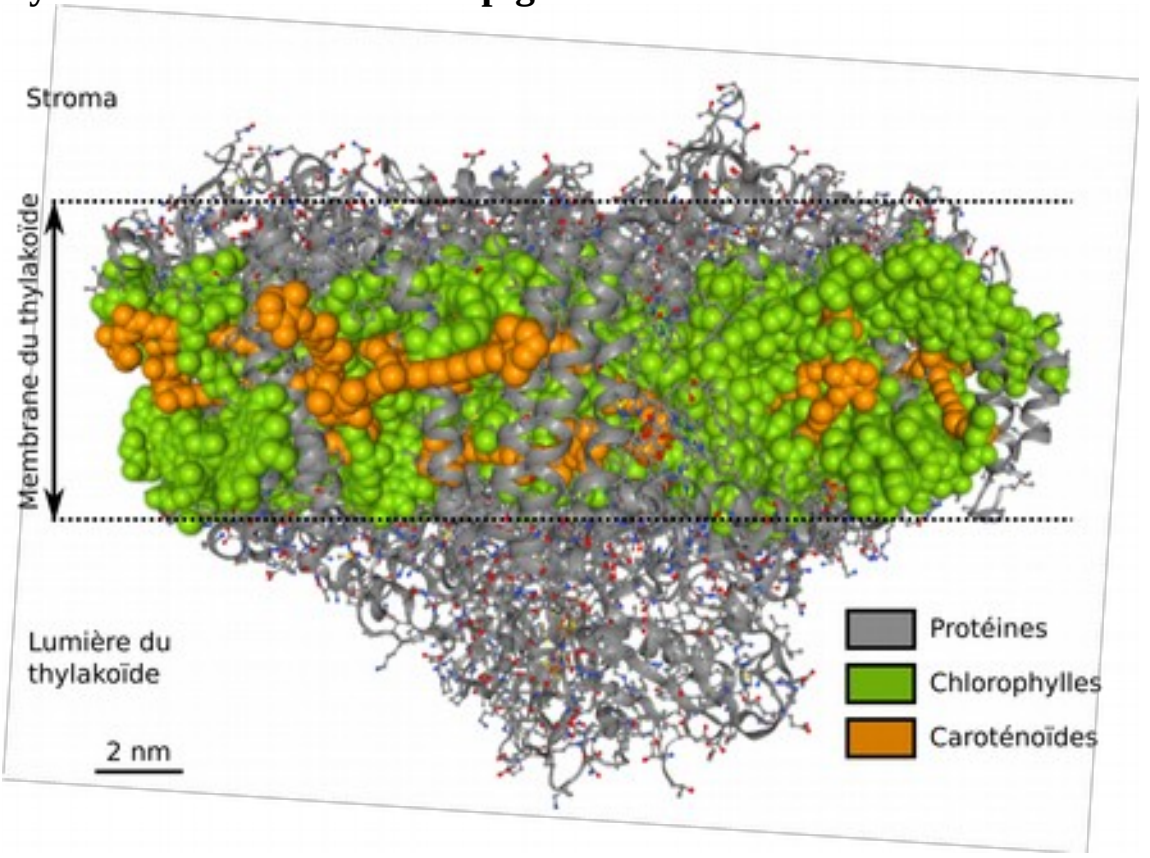
Document 14 : quatre modes de désexcitation des pigments excités. 1 : perte sous forme de chaleur. 2 : fluorescence et émission d'un photon. 3 : résonance. 4 : ionisation (oxydation). Voir détails dans le texte. Production personnelle.

Lien FAQ : https://docs.google.com/document/d/1Uf7vnJrEgzQaanDCO_tehXkzoPfeqlXMYtSv0OG_bHY/edit

II.1.b.i. Les photosystèmes – L'excitation des pigments et les antennes collectrices

Comme nous l'avons vu, les pigments photosynthétiques (chlorophylles et caroténoïdes) sont localisés **dans la membrane des thylakoïdes**. On peut montrer que ces molécules sont associées à des protéines transmembranaires, formant un complexe transmembranaire appelé **photosystème**. Chaque photosystème contient des dizaines de pigments, qui sont très proches les uns des autres, ce qui est propice au **transfert par résonance**.

Le document 15 présente la structure d'un photosystème de cyanobactérie, qui a beaucoup de points communs avec ceux des végétaux verts. On y voit bien la proximité des nombreux pigments.

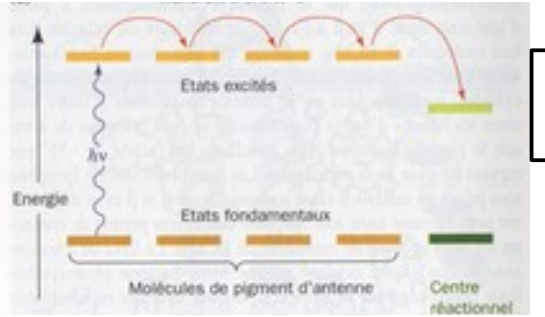


Document 15 : structure d'un photosystème, montrant les protéines et les pigments. Production personnelle. Données : PDB. Traitement : Libmol.

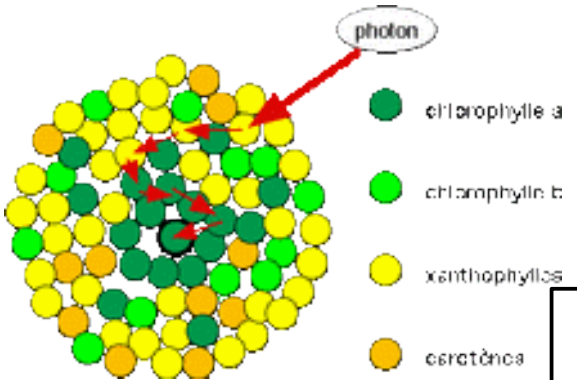
Les pigments présents dans les photosystèmes ont des niveaux d'énergie qui sont légèrement différents de ceux qui existeraient si ces molécules étaient libres, en raison des interactions avec les protéines du photosystème. Parmi ces pigments, **une molécule de chlorophbylle *a***, dite **chlorophylle du centre réactionnel**, a un premier niveau d'énergie **légèrement inférieur** au premier niveau d'énergie des autres pigments. Donc :

- Si cette molécule est excitée, **elle ne pourra donc pas transmettre l'énergie a une autre molécule par résonance**.
- En revanche, **toute autre molécule excitée pourra lui transmettre son énergie** (document 16 ci-contre).

La chlorophylle du centre réactionnel peut donc recevoir de l'énergie de dizaines d'autres pigments du photosystème. Pour cette raison, les pigments du photosystème associés à la Chl *a* du centre réactionnel constituent une **antenne collectrice de photons** : chaque pigment peut capter un photon, et l'énergie récupérée a une forte probabilité d'être transférée au centre réactionnel, qui concentre donc l'énergie récupérée par l'ensemble du photosystème.



Document 16 : niveaux d'énergie des pigments de l'antenne collectrice. D'après Biochimie, *Voet et Voet, 2005.*



Document 17 : modèle de transfert de l'excitation de pigment à pigment jusqu'à la Chl a du centre réactionnel (entourée en noir).

Comment est-utilisée l'énergie concentrée par la Chl *a* du centre réactionnel ? Ce qui suit concerne un type de photosystème, appelé photosystème II.

On l'a vu, un des modes de désexcitation d'un pigment est l'**ionisation par oxydation**. La Chl *a* du centre réactionnel peut **perdre un électron**, c'est-à-dire réduire une autre molécule en même temps qu'elle subit une oxydation, que l'on peut représenter ainsi :

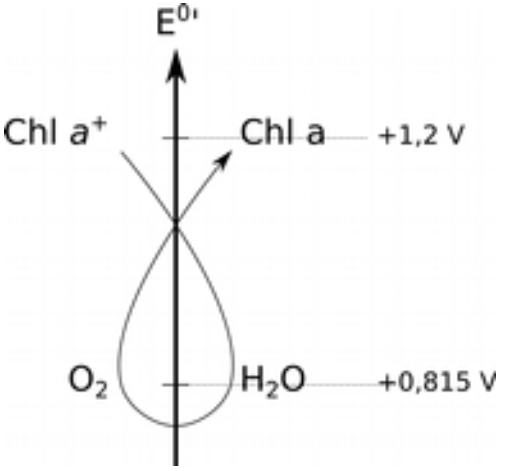
$$\textbf{Chl } \boldsymbol{a}^{*} = \textbf{Chl } \boldsymbol{a}^{+} + \mathbf{e}^{-} \ (\mathbf{E^{0'} = -0{,}6\ V})$$

Avec un tel potentiel redox, la Chl *a** est donc **un bon réducteur** : ce **pouvoir réducteur lui est donné par l'énergie de l'excitation**. On peut montrer qu'*in vivo*, la Chl *a** réduit la **plastoquinone**, un coenzyme redox hydrophobe qui se trouve dans la membrane du thylakoïde ($E^{0'} = 0$ V).

Une fois oxydée, la chlorophylle est très instable, et est susceptible de gagner un électron, tout en revenant à son état fondamental :

Chl a^+ + e^- = Chl *a* ($E^{0'}$ = + 1,2 V)

La Chl a^+ est donc un **excellent oxydant*** : **ce pouvoir oxydant lui est donné par l'énergie de l'excitation**. On rappelle que le potentiel redox du couple O_2/H_2O : $E^{0'}$ = + 0,815 V. La Chl a^+ est elle un suffisamment bon oxydant pour oxyder H_2O en O_2 ? On a représenté le « gamma » correspondant sur le droite : c'est **dans le bon sens !**

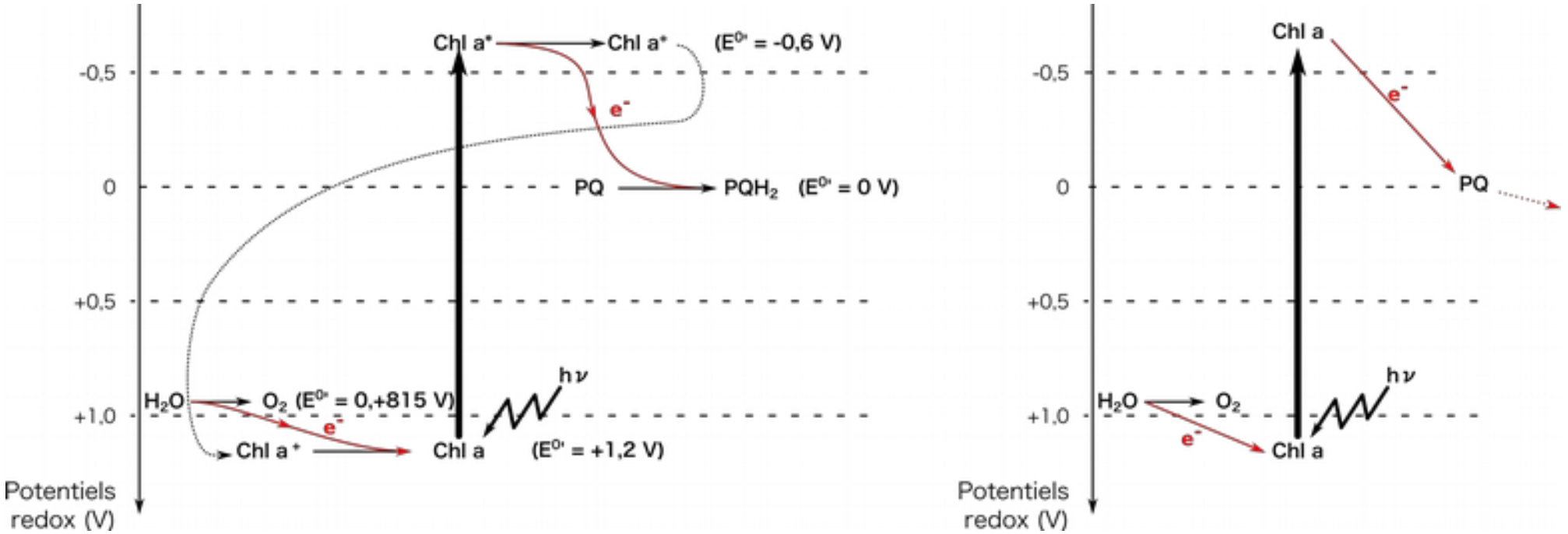


On peut montrer que la Chl a^+ du centre réactionnel oxyde la molécule d'eau en O_2, ce qui explique le dégagement d'O_2 par la photosynthèse.

La chlorophylle est donc une molécule capable de **convertir de l'énergie lumineuse** en **énergie chimique**.

*On peut montrer que la chlorophylle *a* oxydée (Chl a^+) du photosystème II est **le plus fort oxydant produit par les êtres vivants**.

Afin d'effectuer un premier bilan de ce qu'on a appris, on va représenter les principales étapes de ce qui se passe au niveau du photosystème sur un schéma. On représente les potentiels redox **orientés vers le bas**, pour des raisons qu'on détaillera plus tard. A gauche : chaque couple est détaillé. A droite : version simplifiée, où on se concentre sur les transferts d'électrons.



Document 18 : les transferts d'électrons au niveau du photosystème II. En rouge : les transferts d'électrons. PQ : plastoquinone. Pour ne pas surcharger le schéma, les H^+ équilibrateurs ne sont pas représentés, et la stoechiométrie n'est pas respectée.

♥

Des pigments photosynthétiques sont présents dans la membrane des thylakoïde. Ils captent l'énergie lumineuse essentiellement dans le bleu et le rouge, ce qui explique le spectre d'absorption des pigments et le spectre d'action de la photosynthèse.

Les pigments photosynthétiques du photosystème II transfèrent l'énergie à la cholorophylle *a* du centre réactionnel.

L'énergie reçue permet l'oxydation de l'eau et le transfert des électrons, via la chlorophylle *a* du centre réactionnel, à la plastoquinone. La chaîne d'électrons débute alors.

Des expériences, non présentées ici, et très en limite du programme, ont permis de montrer qu'il existait en réalité deux photosystèmes dans la membrane des thylakoïdes : le photosystème II (ou P680), et le photosystème I (ou P700). Le modèle actuel de la chaîne de transport du chloroplaste est le suivant :

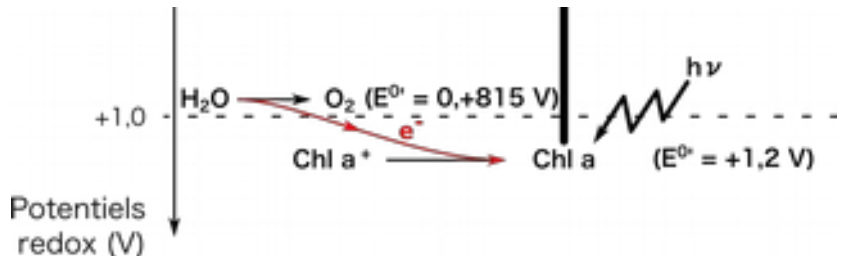
- Le photosystème II (PSII, ou P680) est responsable de la photooxydation de l'eau, et donc de l'entrée des électrons dans le système.
- Les électrons sont transférés de proche en proche à des molécules de la membrane ou proche de la membranes, qui sont successivement réduites (lorsqu'elles reçoivent un électron) ou oxydées (lorsqu'elles le cèdent à un autre acteur de la chaîne)
- Les électrons sont transférés : **PSII → plastoquinone → cytochrome b6/f → plastocyanine → PSI**.
- Le photosystème I (PSI, ou P700) a un fonctionnement proche de celui du PSII, mais **ne permet par la photooxydation de l'eau**. Les pigments qu'il contient permettent, comme pour le PSII, la captation de l'énergie lumineuse et l'acquisition d'un fort pouvoir oxydant* pour **Chl *a*$^+$** (couple **Chl *a*$^+$/Chl *a***) et d'un fort pouvoir réducteur* pour **Chl *a**** (couple **Chl *a*$^+$/Chl *a**)**
- Les électrons sont transférés : **PSI → Ferredoxine → NADP réductase (NADPr) → NADP$^+$**
- L'accepteur final d'électrons de la chaîne de transport d'électrons est donc le **NAD$^+$**, qui est **réduit en NADPH,H$^+$**.

*** Pour le PSI, le couple Chl *a*$^+$/Chl *a*** a un $E^{0'}$ de 0,4 V, et le couple **Chl *a*$^+$/Chl *a**** **a un** $E^{0'}$ de – 1,4 V. Dans cette mesure, la chlorophylle *a* réduite excitée (**Chl *a****) du photosystème I est **le plus fort réducteur produit par les êtres vivants**.

L'ensemble de cette chaîne de transport d'électrons peut être représentée dans un diagramme proche de celui du document 18. On a placé les potentiel redox orientés vers le bas. Pour quelle raison ?

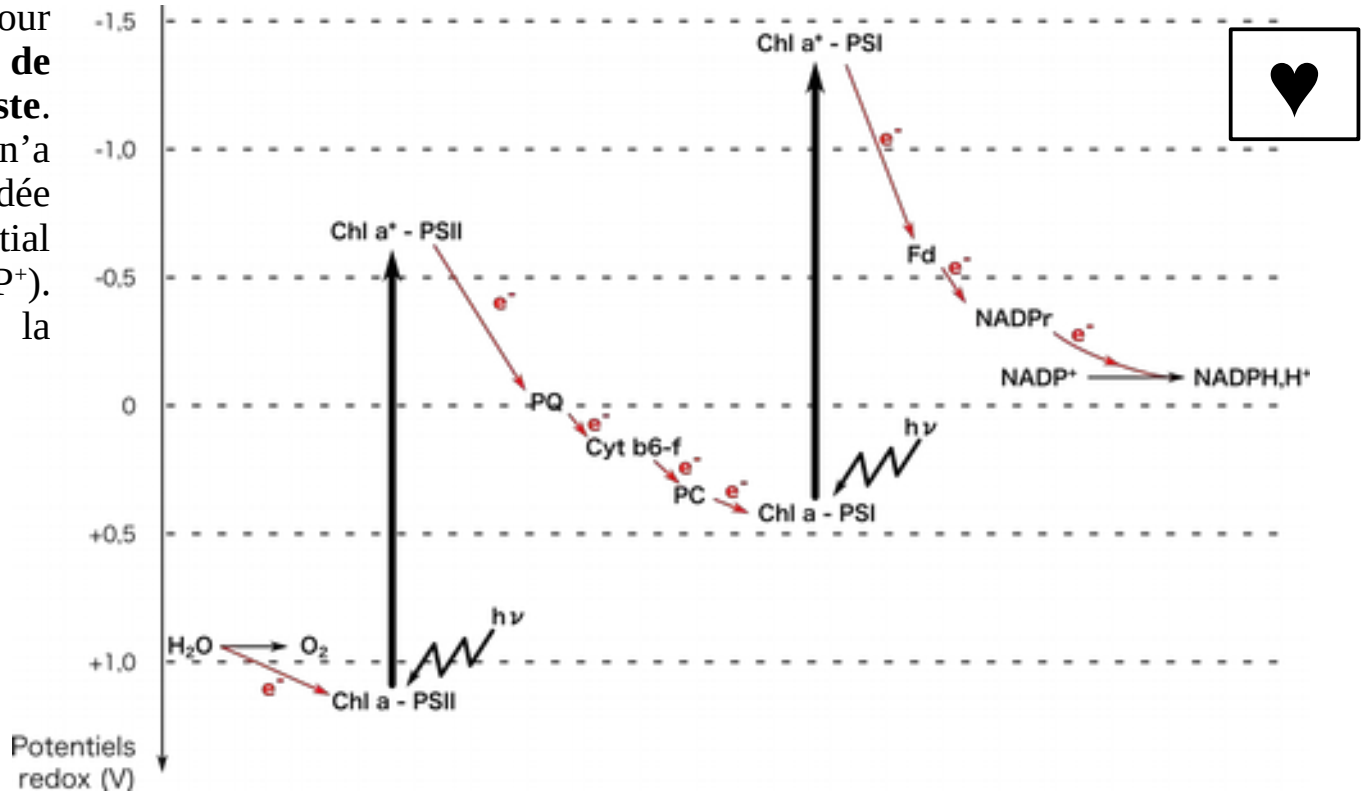
Reprenons le document 18, et zoomons sur la photooxydation de l'eau. Ce diagramme est une façon de représenter les transferts **spontanés d'électrons**, c'est-à-dire les **réactions redox spontanées**, c'est-à-dire les réactions entre un **oxydant fort** et un **réducteur fort**. On sait que les réducteurs forts ont un $E^{0'}$ bas (donc en haut sur le diagramme), et que les oxydants forts ont un $E^{0'}$ élevé (donc en bas sur le diagramme). En les représentant de cette façon, le transfert d'électrons (depuis le réducteur vers l'oxydant) se fait de haut en bas, ce qui, intuitivement est **spontané**.

Donc, intuitivement, dans un diagramme représentant **les transferts d'électrons du haut vers le bas**, donc en représentant le potentiels redox sur une échelle **décroissante**, on sait tout de suite si le transfert est spontané ou non.



Document 18 : les transferts d'électrons au niveau du photosystème II. On a zoomé sur la photooxydation de l'eau.

On a mis à profit cette méthode pour représenter la **totalité de la chaîne de transport d'électrons du chloroplaste**. Dans un souci de simplification, on n'a pas représenté les deux formes (oxydée et réduite) sauf pour le donneur initial (l'eau) et l'accepteur final (le $NADP^+$). On n'a pas non plus respecté la stoechiométrie.



Document 20 : les transferts d'électrons dans la chaîne de transport d'électrons photosynthétique : le « diagramme en Z. » PSI et PSII : photosystèmes I et II. PQ : plastoquinone. Cyt b6/f : cytochrome b6/f. PC : plastocyanine. Fd : ferredoxine. NADPr : $NAPD^+$ réductase.

Le digramme en Z est représenté ici par analogie. Noter les petits marteaux *hv*, et l'utilisation de l'énergie de gravité par la « turbine. »

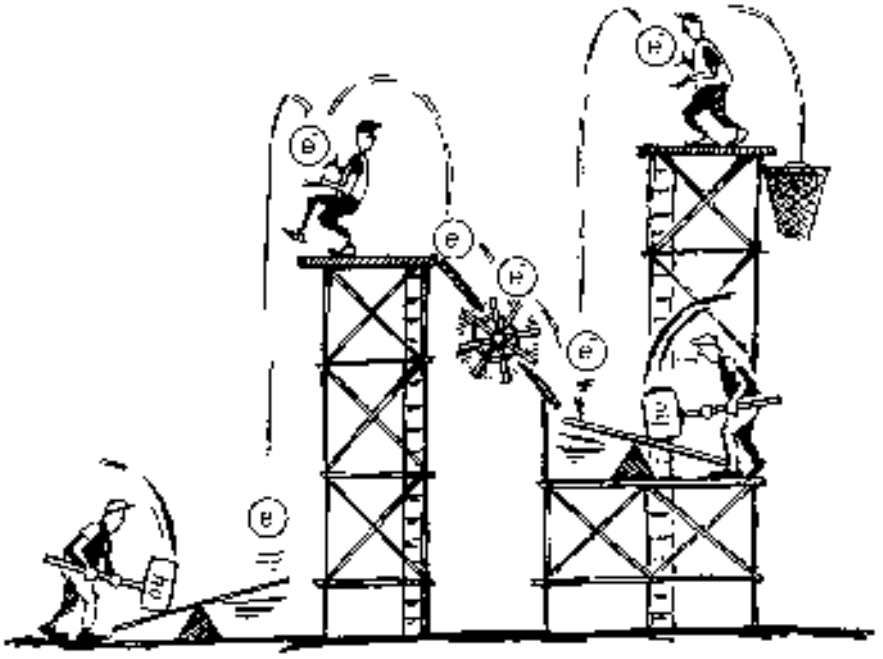


Fig. 4.1 The Z-scheme by analogy.

Document 21 : Document : Le « diagramme en Z » par analogie. Source inconnue, et c'est bien dommage.

♥

Il existe deux photosystèmes : le PSII (P680) est le point d'entrée des électrons dans la chaîne ; le PSI (P700) permet un apport supplémentaire d'énergie lumineuse et augmente le pouvoir réducteur des acteurs de la chaîne.

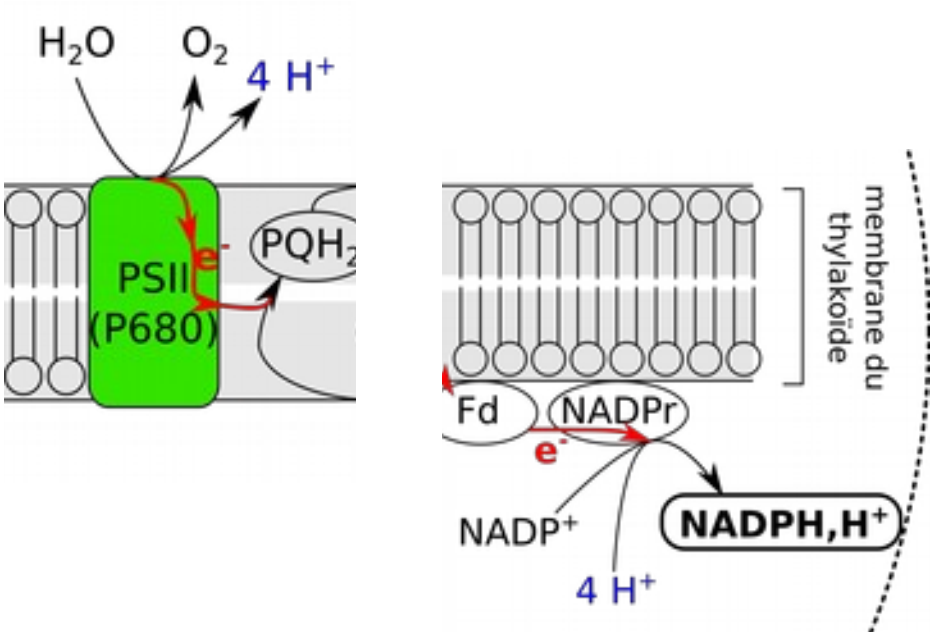
Les transferts d'électrons permis par l'énergie lumineuse permettent la réduction du $NADP^+$ en NADPH.

Une suspension de thylakoïdes éclairée permet de mesurer une augmentation du pH du milieu au cours du temps. On peut montrer que le pH du lumen* des thylakoïdes diminue au cours de cette même expérience. **Les thylakoïde sont donc capables de transférer des ions H^+ depuis le stroma vers le lumen**.

Trois modes permettent la variation du pH de ces compartiment :

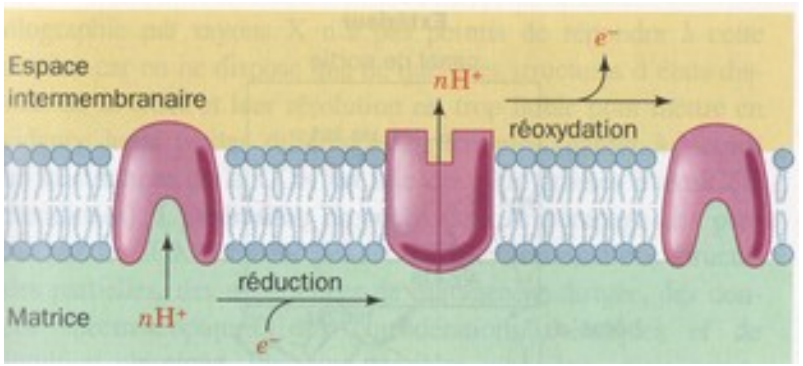
1. Certaines réactions redox qui ont été vues, **consommatrice** ou **productrices** de **H^+** se déroulent **d'un côté ou l'autre de la membrane** du thylakoïde :
   - La **photooxydation de l'eau**, qui produit 4 H^+, a lieu dans le lumen : **baisse du pH du lumen**.
   - La **réduction de $NADP^+$ en NADPH**, qui consomme 1 H^+, a lieu dans le stroma : **augmentation du pH du stroma**.

*Il est courant, quand on s'intéresse à la photosynthèse, de parler de *lumen* (équivalent latin) plutôt que de *lumière* pour l'intérieur d'un tube, afin d'éviter la confusion avec la *lumière* comme onde électromagnétique.

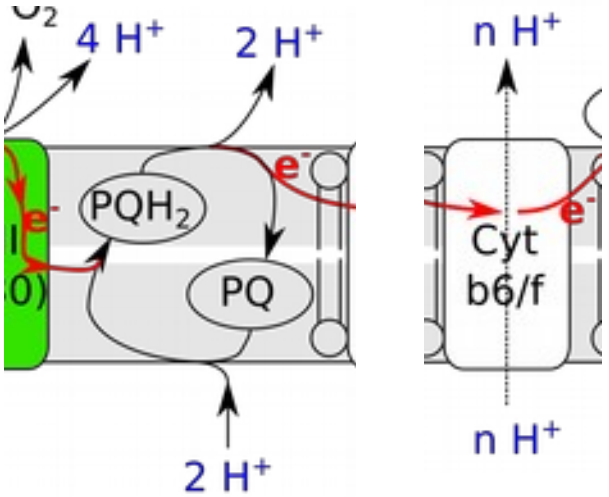


Détails du document 23 (voir page 79 pour le document complet). A gauche : photooxydation et de l'eau dans la lumière des thylakoïdes et production de H^+. A droite : réduction de $NADP^+$ en NADPH dans le stroma, et consommation de H^+. Dans les deux cas, le lumen est en haut et le stroma en bas.

2. La **plastoquinone**, qui est intramembranaire, est **réduite du côté stroma** (consommation de 2 H^+) et **oxydée du côté lumen** (production de 2 H^+) : il y a donc **transfert de H^+ du stroma au lumen**.
3. Le cytochrome b6/f, lorsqu'il alterne entre une forme oxydée et une forme réduite, utilise l'énergie de fournie par ces réactions redox pour transférer un H^+ depuis le stroma vers le lumen. C'est un donc un **transporteur actif**, comme la pompe Na/K, dont l'énergie n'est cependant pas fournie par l'ATP, mais pas des réactions redox (document 22 ci-dessous).



Document 22 : Mécanisme possible de la translocation des H^+ (complexes I, III et IV pour la mitochondrie, cytochrome b6-f pour le chloroplaste). La protéine subit des changements de conformation à chaque réduction et réoxydation (cas du cyt b6-f : réduction par la plastoquinone, réoxydation par transfert des électrons à la plastocyanine), qui permettent la translocation. Le mécanisme a des analogies avec les pompes ionique ATP-dépendantes. D'après Biochimie, *Voet et Voet, 2005.*



Détails du document 23 (voir page 79 pour le document complet). A gauche : transfert de H^+ par la plastoquinone. A droite : transfert de H^+ par le cytochrome b6f. Dans les deux cas, le lumen est en haut et le stroma en bas.

La différence de pH entre le lumen dt le stroma est de l'ordre de 3 à 4 unités de pH (donc un rapport de concentrations de H^+ de l'ordre de 1 000 à 10 000). Est-ce suffisant pour parler de **gradient** ?

En toute rigueur, un gradient est une variation d'un paramètre sur une distance. Donc bien ici un **gradient transmembranaire de pH**. Cependant, le gradient habituellement considéré est le **gradient électrochimique**, c'est-à-dire le déséquilibre entre les deux compartiments, calculé par la loi de Nernst par les **deux composantes** (**chimique** et **électrique**). Pour savoir s'il y a déséquilibre, il faut savoir s'il y a une différence de potentiel électrique transmembranaire au niveau de la membrane du thylakoïde. Cette différence de potentiel a été mesurée, et **elle est non nulle** : $\Delta E = E_{stroma} - E_{thyl} = -20$ mV.

On rappelle la loi de Nernst, appliquée aux ions H^+ :

$$\Delta\mu_{thyl\to stroma} = \mu_{stroma} - \mu_{thyl} = RT\ln\frac{[H^+]_{stroma}}{[H^+]_{thyl}} + zF\left(E_{stroma} - E_{thyl}\right)$$

$$\Rightarrow \Delta\mu_{thyl\to stroma} = RT\ln(10)\left(pH_{thyl} - pH_{stroma}\right) + F\left(E_{stroma} - E_{thyl}\right)$$

Composante chimique *Composante électrique*

Les ions H^+ sont-ils dans une position de **déséquilibre** ? si oui, est-ce dû plutôt à la **composante chimique** ou à la **composante électrique** ?

Exercice d'application :

1. Déterminez si les H^+ sont à l'équilibre de part et d'autre de la membrane du thylakoïde.
2. Déterminez la composante chimique et électrique de ce gradient et comparez-les. On prendra une différence de pH de trois unités, et une température de 20°C.

Exercice d'application :

1. Déterminez si les H^+ sont à l'équilibre de part et d'autre de la membrane du thylakoïde.
2. Déterminez la composante chimique et électrique de ce gradient et comparez-les. On prendra une différence de pH de trois unités, et une température de 20°C.

Correction :

1. La loi de Nernst nous donne : $\Delta\mu_{thyl\rightarrow stroma} = RT\ln(10)(pH_{thyl} - pH_{stroma}) + F(E_{stroma} - E_{thyl})$

Le terme chimique et le terme électrique sont **négatifs tous les deux** : **il y a déséquilibre**, et les H^+ ont tendance à aller **du lumen vers le stroma**.

2. On calcule la valeur de la composante chimique ($\Delta\mu_{chim}$) et de la composante électrique ($\Delta\mu_{élec}$) :

$\Delta\mu_{chim} = RT\ln(10)(pH_{thyl} - pH_{stroma})$ $\qquad$ $\Delta\mu_{élec} = F(E_{stroma} - E_{thyl})$

$A.N. : \Delta\mu_{chim} = 8{,}31\times 293\times\ln(10)\times(-3) = -16{,}9\,kJ.mol^{-1}$ $\qquad$ $A.N. : \Delta\mu_{élec} = 96500\times(-0{,}02) = -1{,}9\,kJ.mol^{-1}$

Ces deux valeurs sont très différentes. Un petit calcul de proportion montre que 89 % du gradient électrochimique total (*18,8 kJ.mol^{-1}*) provient de la composante chimique, et seulement 11 % de la composante électrique.

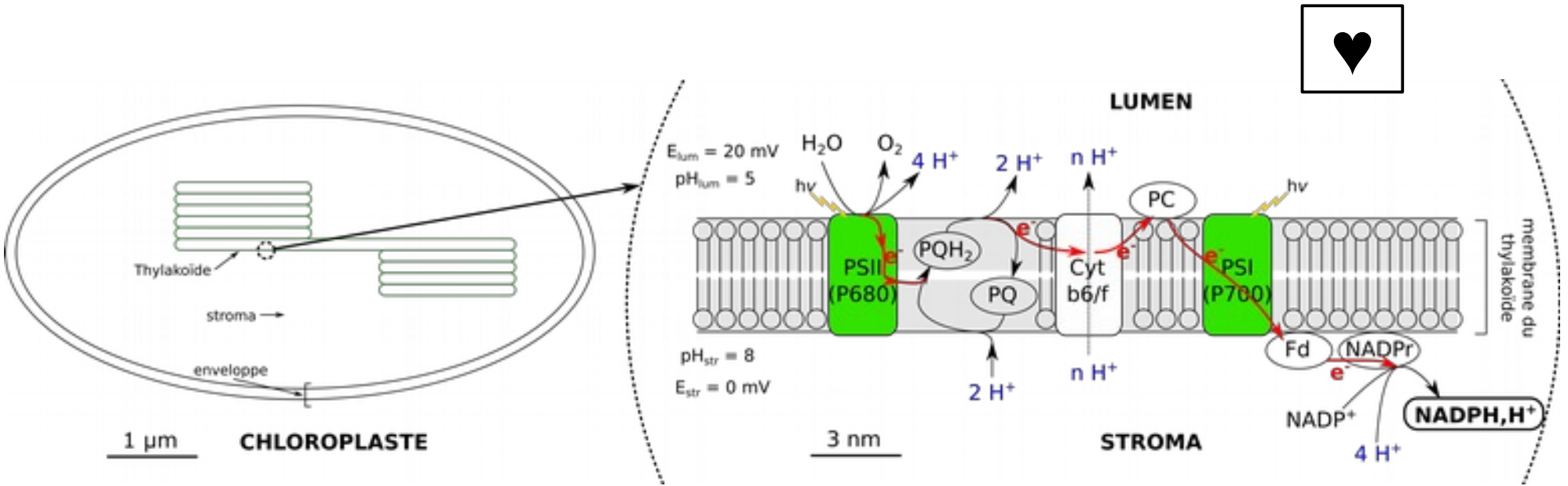
On retiendra plusieurs choses de cette application. Tout d'abord, comme le retour des protons du lumen vers le stroma est spontané, le trajet inverse est non spontané. La formation du gradient de protons (p. 73 et 74) est donc une conversion énergétique, d'une **énergie chimique** (libérée par les réactions redox) vers une **énergie de gradient** : c'est une **conversion chimio-osmotique**.

Ensuite, dans le cas du chloroplaste, le transfert d'ions H^+ (protons) vers la lumière du thylakoïde est responsable d'un gradient électrochimique essentiellement expliqué par la différence de concentrations en H^+. Il confère aux ions H^+ **la tendance à quitter la lumière du thylakoïde**. On verra plus tard l'intérêt de ce déséquilibre (mais vous l'avez peut être compris vu l'expérience de Jagendorf, doc 4 p. 30-31).

On entendra parfois le terme « **force proton-motrice** » pour ce gradient. C'est un terme utilisé dans le programme, qui doit donc être connu, mais qui doit être manié avec précaution : il ne s'agit en aucun cas d'une **force** au sens physique du terme (bien que ce gradient puisse être utilisé comme source d'énergie, susceptible dans certains cas de libérer une énergie mécanique pouvant occasionner des mouvements à l'origine de forces).

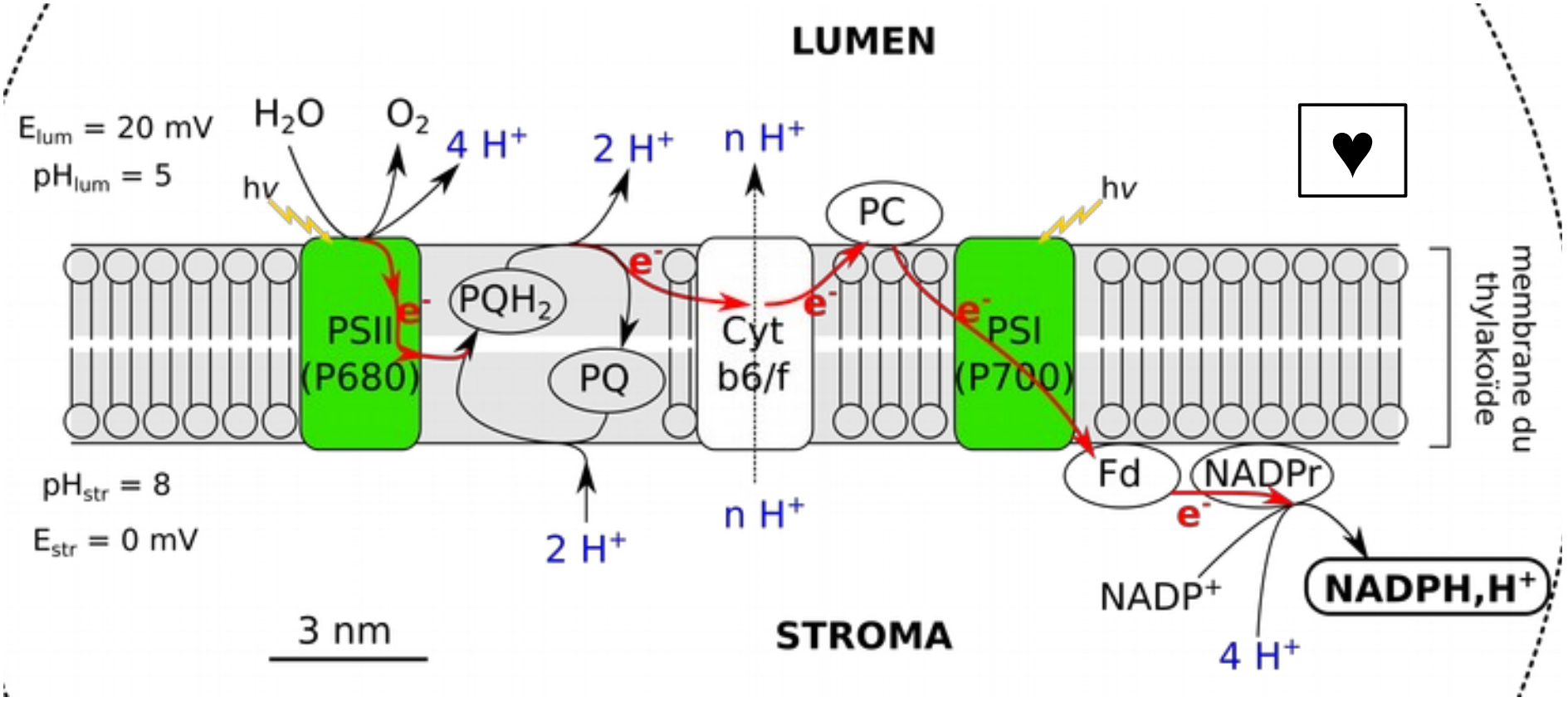
#FallaitEcouterEnCoursDePhysique

La chaîne de transport d'électrons du chloroplaste peut désormais être représentée dans sa totalité.



Document 23 : la chaîne de transport d'électrons du chloroplaste (zoom page suivante). Production personnelle.

II.1.c. Les transferts membranaires d'électrons établissent un gradient de protons



Document 23 : la chaîne de transport d'électrons du chloroplaste. Production personnelle.

♥

Une partie de l’énergie lumineuse convertie par la chaîne permet l’établissement d’un gradient de H^+ (plus concentré dans le lumen). Il s’agit d’une conversion chimio-osmotique.

II.2. Les chimiotrophes utilisent l'énergie de l'oxydation de molécules pour établir un gradient de H^+

On s'est intéressé en détail au chloroplaste dans cette première partie. On y a vu un certain nombre de concepts fondamentaux. On verra ici que beaucoup de ces concepts peuvent être généralisés à d'autres organismes ou organites (chaînes de transport d'électrons, création d'un gradient de H+…).

Les métabolismes **chimiotrophes** sont des types de métabolismes (ou **types trophiques**) dans lesquels **la source d'énergie provient de réactions chimiques**, par opposition aux métabolismes **phototrophes** dont **la source d'énergie est la lumière**. Nous avons traité dans tout le II.1. les métabolismes phototrophes. Nous allons nous intéresser ici aux métabolismes chimiotrophes.

De nombreux organismes ont un métabolisme chimiotrophes. Le programme nous demande d'en traiter deux :

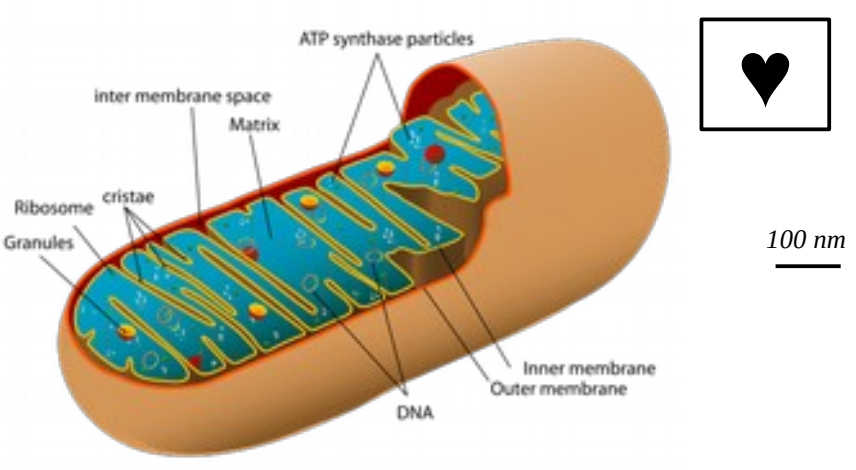
- Les animaux, et notamment le **métabolisme mitochondrial**.
- Les bactéries nitratantes du genre ***Nitrobacter***.

La **mitochondrie** est un **organite** présent **chez tous les animaux**, mais également chez la très **grande majorité des Eucaryotes**, avec quelques légères différences de fonctionnement selon les espèces. On va ici se focaliser sur les mitochondries des animaux, en sachant la quasi-totalité des détails moléculaires sont généralisables à l'ensemble de Eucaryotes.

Nitrobacter avec une **Eubactérie** non pathogène présente naturellement dans le sol, qui, comme les plantes, est **autotrophe pour le carbone** : **elle synthétise sa matière organique à partir de CO_2.**

La structure de la mitochondrie a déjà été vue dans le chapitre B6. On la rappelle ici. Il s'agit d'un organite semi-autonome, d'origine endosymbiotique, constitué de deux membranes :

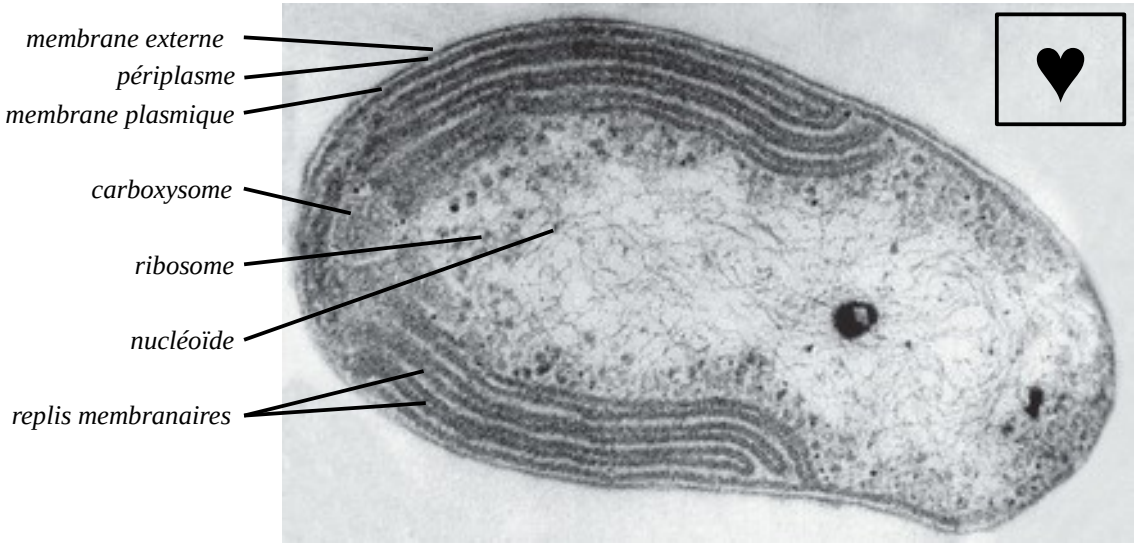
- Une membrane externe, très perméable, dont la perméabilité est permise par des protéines appelées **porines**, qui sont des transporteurs passifs non sélectifs à ions et petites molécules organiques.
- Une membrane interne, de **perméabilité très faible**, comme la plupart des autres membranes. Cette membrane interne est repliée, formant des crêtes, ce qui en augmente considérablement la surface.



Document 24 : structure d'une mitochondrie. Cristae : crêtes. Droite : électronographies (MET) de mitochondries humaines. D'après Wikimedia Commons.

II.2.a. Structure d'une mitochondrie et d'une bactérie nitratante.

Nitrobacter est une bactérie Gram –, donc à deux membranes et paroi fine. L'espace entre les deux membranes est appelé périplasme. Outre les structures bactériennes classiques (ribosomes, nucléoïde…), elle possède de nombreuses **invagination de la membrane plasmique**, qui, comme pour la mitochondrie, en **augmentent considérablement la surface**. Egalement, *Nitrobacter* dispose d'un **carboxysome**, une zone non compartimentée contenant de nombreuses enzymes, dont nous verrons l'intérêt dans le chapitre B12.



Document 24 : Micrographie (MET) de Nitrobacter *(bactérie nitratante). Notez les replis internes de la membrane plasmique, qui ne sont pas sans rappeler les crêtes mitochondriales ou les thylakoïdes. Echelle : 1 cm = 150 nm.*

♥

La mitochondrie et *Nitrobacter* partagent comme caractéristique commune la présence d’une membrane repliée sur elle même, dont la perméabilité est faible.

Les **cellules animales** ont un métabolisme **hétérotrophe** : elles oxydent des molécules organiques préexistantes, présentes dans l'alimentation. On verra dans le chapitre B12 que le **glucose** est **oxydé en pyruvate** dans une voie métabolique appelée **glycolyse**, qu'on a déjà évoquée, et que ce pyruvate est totalement oxydé en CO_2 dans une voie métabolique appelée **cycle de Krebs**. Toute oxydation s'accompagne de réduction : le glucose oxydé totalement en CO_2 s'accompagne de la **réduction des coenzymes NAD^+ et FAD en $NADH,H^+$ et $FADH_2$**. On verra dans cette partie que **ces coenzymes réduits sont réoxydés par le dioxygène de l'air**.

Nitrobacter tient son nom de son métabolisme basé sur les molécules azotées que sont les ions **nitrite (NO_2^-)** et **nitrate (NO_3^-)**. Les ions nitrites sont présents en petites quantités dans l'environnement, et sont produit par le métabolisme d'autres microorganismes du sol, qu'on ne détaillera pas ici. On verra dans cette partie que **les nitrites prélevés dans l'environnement sont oxydés par le dioxygène de l'air**.

Exercice d'appliation :

1. a. Ecrivez les demi-équations des couple CO_2/glucose, $NAD^+/NADH,H^+$ et $FAD/FADH_2$, et montrez que l'oxydation totale du glucose peut s'accompagner de la production de 10 $NADH,H^+$ et 2 $FADH_2$.

b. On donne la valeur des potentiels redox des couples suivants :

- $NAD^+/NADH,H^+$: $E^{0'}_1 = -0,32$ V
- $FAD/FADH_2$: $E^{0'}_2 = -0,06$ V
- O_2/H_2O : $E^{0'}_3 = +0,815$ V

Montrez que l'oxydation de $NADH,H^+$ et de $FADH_2$ par l'O_2 est exergonique.

2. On rappelle la valeur du potentiel redox du couple NO_3^-/NO_2^- : $E^{0'}_4 = +0,40$ V. Montrez que l'oxydation de NO_2^- par le dioxygène est exergonique.

Exercice d'appliation :

1. a. Ecrivez les demi-équations des couple CO_2/glucose, NAD^+/$NADH,H^+$ et FAD/$FADH_2$, et montrez que l'oxydation totale du glucose peut s'accompagner de la production de 10 $NADH,H^+$ et 2 $FADH_2$.

Correction :

On a déjà écrit ces demi-équations dans l'exercice des pages 16 et 17. :

couple CO_2/glucose : $\mathbf{6\ CO_2 + 24\ H^+ + 24\ e^- = C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O}$ **(1)**

couple NAD^+/$NADH,H^+$: $\mathbf{NAD^+ + 2\ e^- + H^+ = NADH}$ **(2)**

couple FAD/$FADH_2$: $\mathbf{FAD + 2\ e^- + 2\ H^+ = FADH_2}$ **(3)**

En multipliant (2) par 10 et (3) par 2, on arrive bien à 24 électrons : on a donc le bilan :

$\mathbf{C_6H_{12}O_6 + 6\ H_2O + 10\ NAD^+ + 2\ FAD \rightarrow 6\ CO_2 + 10\ NADH,H^+ + 2\ FADH}$

Exercice d'appliation :

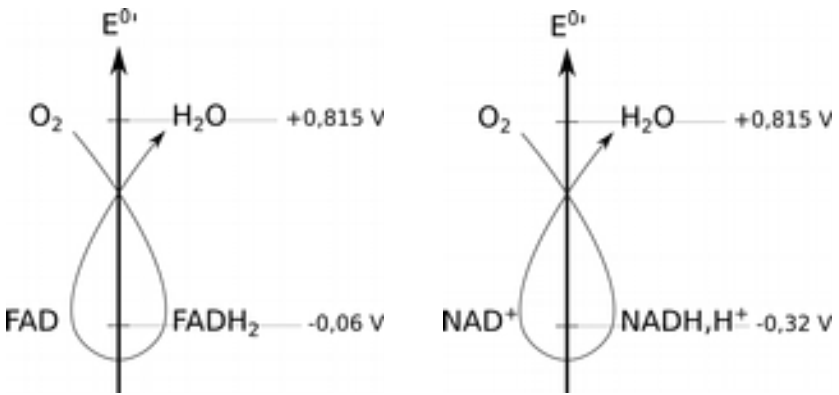
1.b. On donne la valeur des potentiels redox des couples suivants :

- $NAD^+/NADH,H^+$: $E^{0'}_1 = -0,32$ V
- $FAD/FADH_2$: $E^{0'}_2 = -0,06$ V
- O_2/H_2O : $E^{0'}_3 = +0,815$ V

Montrez que les deux oxydation de $NADH,H^+$ et de $FADH_2$ par l'O_2 sont exergoniques.

Correction :

On trace des « gammas » pour chacune de ces deux réactions : ils sont tous les deux dans le bon sens, donc les réactions sont exergoniques (spontanées).



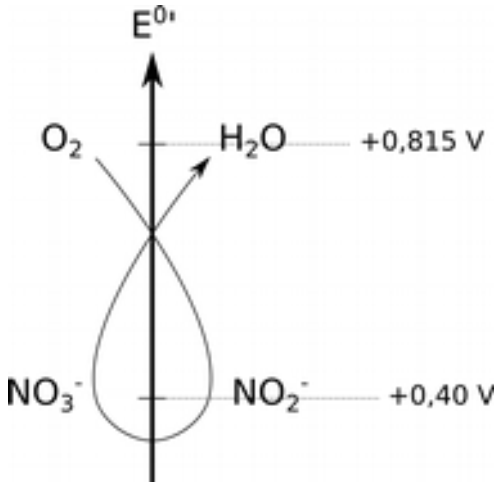
Exercice d'appliation :

2. On rappelle la valeur du potentiel redox du couple NO_3^-/NO_2^- : $E^{0'}_4$ = + 0,40 V. Montrez que l'oxydation de NO_2^- par le dioxygène est exergonique.

couple NO_3^-/NO_2^- : $NO_3^- + 2\ e^- + 2\ H^+ = NO_2^- + H_2O$

Correction :

On trace le « gamma » : il est dans le « bon sens, » donc la réaction est exergonique.



Bilan :

- Chez la **mitochondrie**, les **coenzymes réduits** ($NADH,H^+$ et $FADH_2$) produits par l'oxydation du glucose en CO_2 peuvent, **sans apport d'énergie**, être réoxydés par le dioxygène de l'air.
- Chez ***Nitrobacter***, les nitrites présents dans l'environnement peuvent, **sans apport d'énergie**, être oxydés par le dioxygène de l'air.

On verra dans cette partie que les **mitochondries** et les **bactéries nitratantes** partagent un même type de **métabolisme**, appelé **respiration aérobie***, dans lequel des **molécules réduites** sont **oxydées par le dioxygène** de façon **spontanée**, en **libérant une énergie récupérable** par l'organisme.

Ces oxydations utilisent des **chaîne de transport d'électrons** appelée **chaînes respiratoire**. On verra qu'il y a des beaucoup de points communs et quelques différences entre les mitochondries et *Nitrobacter*.

- Chez la mitochondrie, la chaîne respiratoire a lieu dans la membrane mitochondriale interne.
- Chez Nitrobacter, la chaîne respiratoire a lieu dans la membrane plasmique, et en particulier dans les replis membranaires.

*Le terme **aérobie** désigne le fait que le **dioxygène** est utilisé. La précision n'est pas de trop : il existe en effet des respirations anaérobies, où un autre oxydant que le dioxygène est utilisé, comme les nitrates ou les sulfates. Les respirations anaérobies sont hors programme.

On va voir quelques unes des expériences qui ont permis de découvrir les acteurs de la chaîne chez les mitochondries. Diverses molécules sont connues pour inhiber la respiration cellulaire : ce sont en général des poisons mortels pour l'humain, puisqu'ils inhibent le métabolisme mitochondrial. Parmi eux figurent le roténone, l'antimycine et le cyanure.

Par ailleurs :

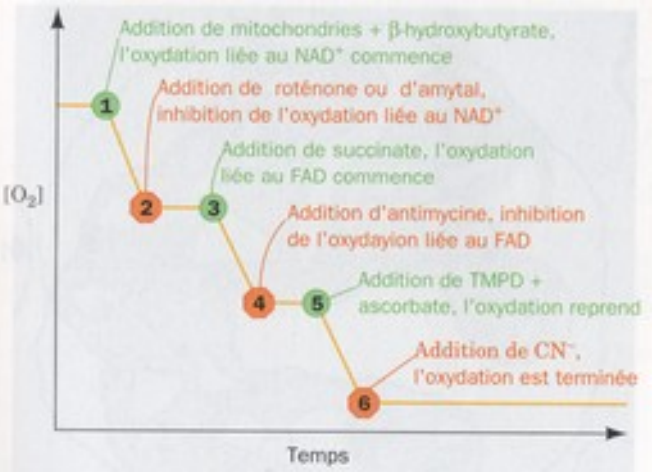
- On sait que l'oxydation mitochondriale du β-hydroxybutyrate produit du NADH.
- On sait que l'oxydation mitochondriale du succinate produit du $FADH_2$.
- La TMPD (tétraméthylphénylènediamine) est un réducteur coloré connu pour être oxydé en un composé incolore par les mitochondries, ce qui permet de les détecter.

On extrait des mitochondries que l'on place en suspension. On mesure la concentration en O_2 du milieu. Une diminution de la concentration en O_2 permet de mesurer l'efficacité de la chaîne de transport mitochondriale. On traite ensuite la suspension avec divers composés.

Les diverses molécules sont ajoutées **successivement** et **ne sont pas éliminées** au cours de la manipulation.

- t = 0 : la suspension est dans du liquide physiologique. La $[O_2]$ est constante. Comme on pouvait le prévoir, la chaîne de transport d'électrons ne fonctionne pas s'il n'y a pas de réactif.
- Injection de β-hydroxybutyrate (= introduction de NADH) : **la $[O_2]$ baisse**. Le NADH est donc oxydé par la chaîne de transport d'électrons. On appelle **complexe I** la protéine qui permet cette oxydation.
- Injection de roténone : la $[O_2]$ cesse de baisser et redevient constante. La roténone inhibe donc **une des molécules de la chaîne**.
- Injection de succinate (= introduction de $FADH_2$) : la $[O_2]$ baisse. Le $FADH_2$ est donc oxydé **par un complexe non inhibé par la roténone**. On appelle **complexe II** la protéine qui permet cette oxydation.
- Injection d'antimycine : la $[O_2]$ cesse de baisser et redevient constante. L'antimycine inhibe donc **une des molécules de la chaîne**.

A ce stade, on voit qu'il y a au moins deux points d'entrée dans la chaîne mitochondriale : le complexe I et le complexe II.



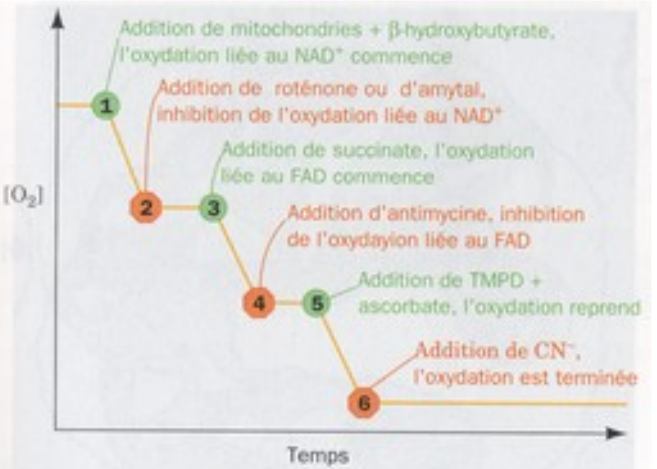
Document 25 : Mesure de la quantité d'O_2 libérée en fonction du temps, avec différents substrats et inhibiteurs. C'est l'action successive des différents inhibiteurs permet de décrypter l'ordre des différentes étapes de la chaîne mitochondriale.

- Injection de TMPD : **la [O_2] baisse**. La TMPD est donc oxydé par un complexe non inhibé par la **roténone** ou l'**antimycine**. On appelle **complexe IV** la protéine qui permet cette oxydation.
- Injection de cyanure : la [O_2] cesse de baisser et redevient constante. Le cyanure inhibe donc **une des molécules de la chaîne**.

Diverses autres expériences ont permis d'élucider la chaîne respiratoire mitochondriale. Elles ne seront pas présentées.

On ne détaillera pas non plus les expériences ayant permis d'élucider la chaîne respiratoire de *Nitrobacter*. La chaîne respiratoire dite **directe** de *Nitrobacter* ne comprend que deux complexes : la **nitrite oxydase** (NOX), qui n'existe pas chez la mitochondrie, et le complexe IV, proche de celui de la mitochondrie.

Ces chaînes seront représentées dans le II.2.c.



Document 25 : Mesure de la quantité d'O_2 libérée en fonction du temps, avec différents substrats et inhibiteurs. C'est l'action successive des différents inhibiteurs permet de décrypter l'ordre des différentes étapes de la chaîne mitochondriale.

♥

La mitochondrie et *Nitrobacter* oxydent des molécules : NADH et $FADH_2$ pour la mitochondrie, provenant de l'oxydation des molécules de l'alimentation ; NO_2^- présent dans l'environnement pour nitrobacter.

Ces oxydations libèrent des électrons qui entrent dans la chaîne respiratoire de transport d'électrons. L'O_2 de l'environnement est l'accepteur final d'électrons.

Ces oxydations sont spontanées, et libèrent de l'énergie potentiellement utilisable par la cellule.

II.2.c. Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons

Chez la mitochondrie comme chez *Nitrobacter*, on peut montrer que la chaîne de transport d'électrons permet des **transferts de protons (H^+)** d'un compartiment à un autre.

- Chez la **mitochondrie** : **de la matrice vers l'espace intermembranaire**
- Chez ***Nitrobacter*** : **du cytosol vers le périplasme** (entre les deux membranes)

Ces transferts se font selon les mêmes modalités que chez les chloroplastes (voir p. 73 et 74) et permettent d'établir un **gradient de H^+**. La question de l'importance relative de la composante chimique ou électrique dans le gradient de H^+ se pose chez ces deux organismes comme on se l'est posée chez les chloroplastes. Les pH et différences de potentiels transmembranaires ont été mesurés dans les deux cas :

	mitochondrie	*Nitrobacter*
pH_1	7	6
pH_2	8	8
E_1	150	150
E_2	0	0

Avec 1 l'espace intermembranaire (mitochondrie) ou le périplasme (*Nitrobacter*) et 2 la matrice (mitochondrie) ou le cytosol (*Nitrobacter*).

II.2.c. Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons

On rappelle la loi de Nernst appliquée aux H^+ : $\Delta\mu_{1\to2} = RT\ln(10)(pH_1 - pH_2) + F(E_2 - E_1)$

Avec toujours 1 le compartiment l'espace intermembranaire (mitochondrie) ou le périplasme (*Nitrobacter*) et 2 la matrice (mitochondrie) ou le cytosol (*Nitrobacter*).

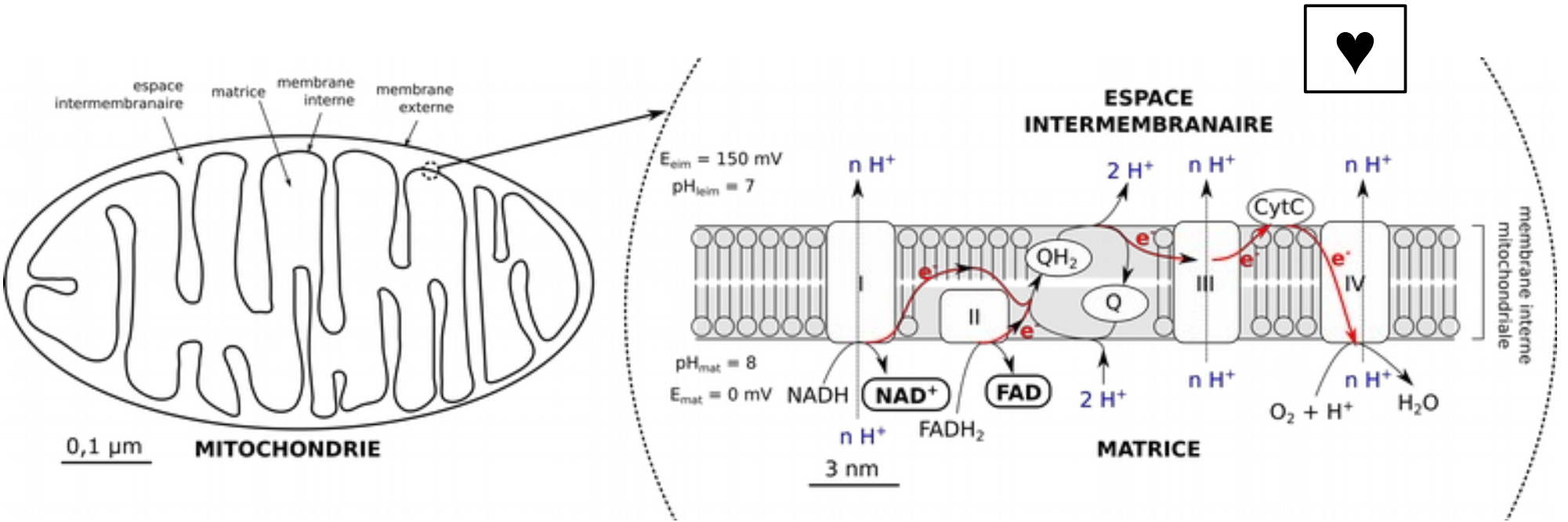
Calculons les deux composantes de $\Delta\mu_{1\to2}$ (on prendra 37°C pour la mitochondrie et 10°C pour *Nitrobacter*) :

	mitochondrie	*Nitrobacter*
composante chimique	– 2,6 kJ.mol^{-1}	– 4,7 kJ.mol^{-1}
composante électrique	– 14,5 kJ.mol^{-1}	– 14,5 kJ.mol^{-1}
total	– 17,1 kJ.mol^{-1}	– 19,2 kJ.mol^{-1}
pourcentage du total (chimique)	15 %	25 %
pourcentage du total (électrique)	85 %	75 %

Contrairement au chloroplastes, c'est la **composante électrique** qui est donc la plus importante pour les chaînes respiratoires. On ne détaillera pas les raisons qui expliquent la plus forte différence de potentiel transmembranaire dans les chaînes respiratoires par rapport aux chaînes photosynthétiques.

II.2.c. Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons

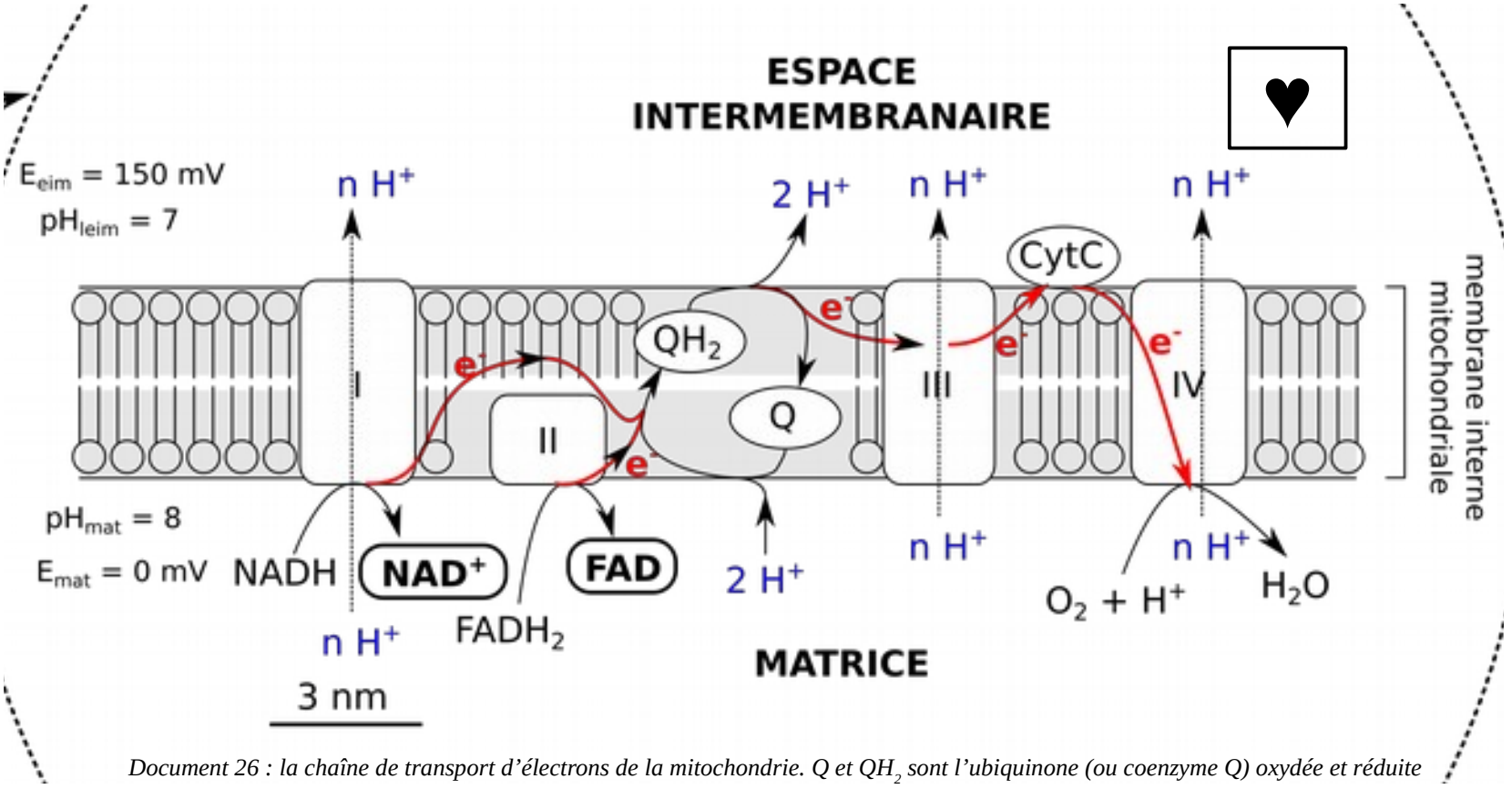
Les chaînes de transport d'électrons de la mitochondrie et de *Nitrobacter* peuvent désormais être représentées dans leur totalité.



Document 26 : la chaîne de transport d'électrons de la mitochondrie (zoom page suivante). Q et QH_2 sont l'ubiquinone (ou coenzyme Q) oxydée et réduite respectivement. Elle est très proche de la plastoquinone qui a été vue chez les végétaux. Cyt C : cytochrome C. Production personnelle.

II.2.c. Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons

Les chaînes de transport d'électrons de la mitochondrie et de *Nitrobacter* peuvent désormais être représentées dans leur totalité.



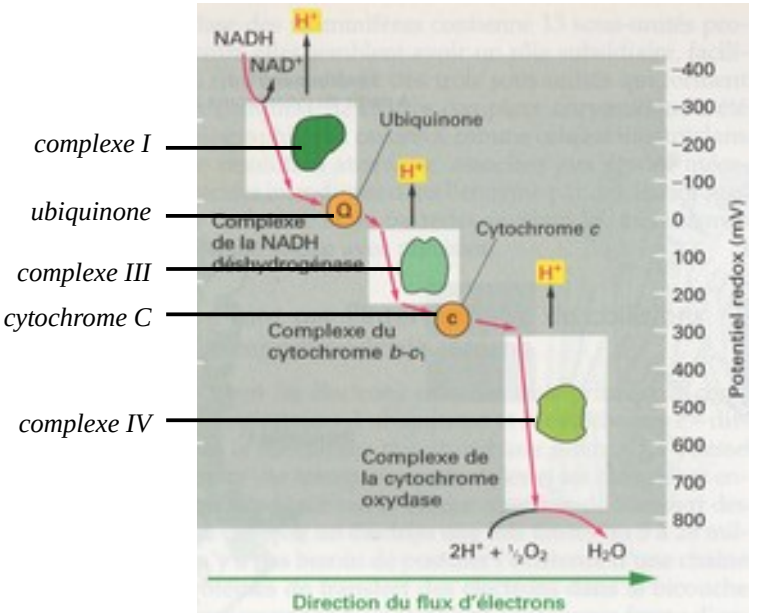
Document 26 : la chaîne de transport d'électrons de la mitochondrie. Q et QH_2 sont l'ubiquinone (ou coenzyme Q) oxydée et réduite respectivement. Elle est très proche de la plastoquinone qui a été vue chez les végétaux. Cyt C : cytochrome C. Production personnelle.

II.2.c. Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons

De même qu'on avait représenté les réactions redox successives sur un diagramme avec potentiels redox décroissants (diagramme en Z, document 20 p. 70), on peut faire de même avec la mitochondrie ou avec *Nitrobacter*. On l'a représenté (document 27 ci-contre) chez la mitochondrie.

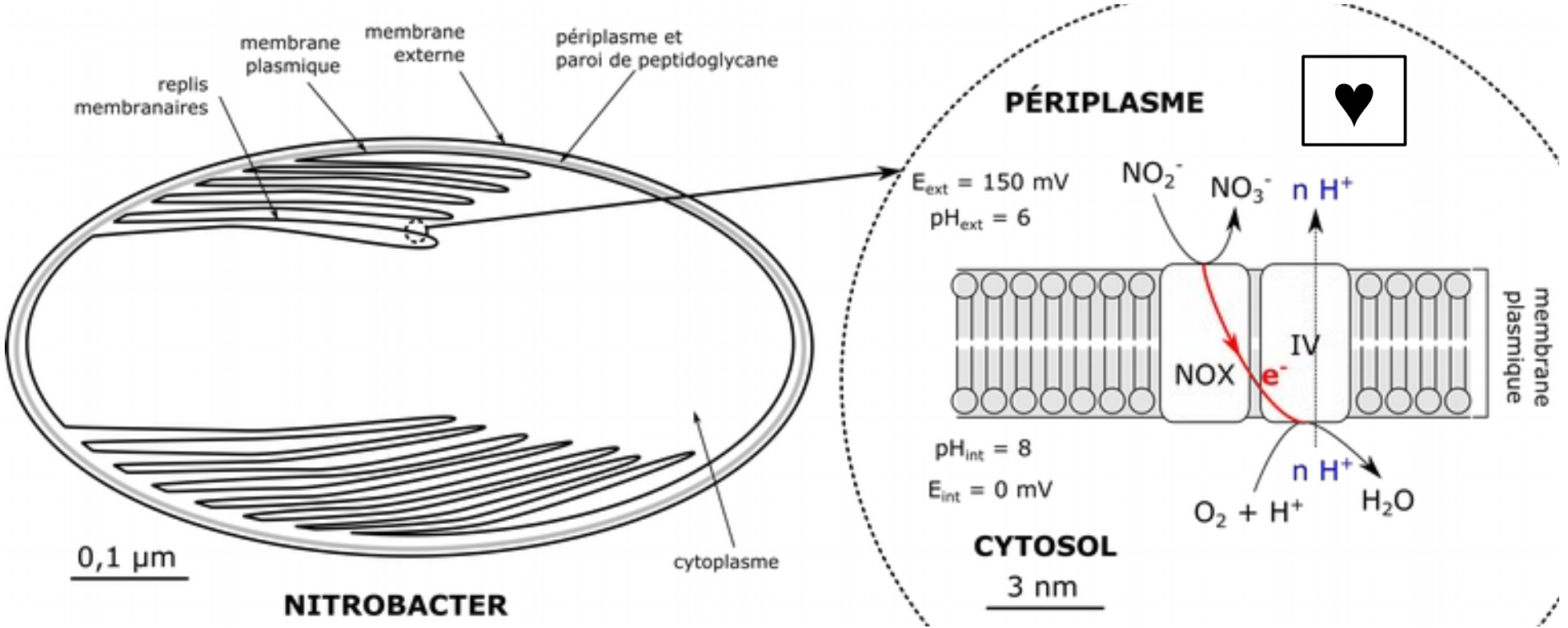
Comme on a vu qu'il existait deux points d'entrée (complexe I et complexe II), on en a choisi un seul ici : celui correspondant à l'entrée par le complexe I (NADH). Les noms des complexes ne sont pas à mémoriser.

On notera qu'on retrouve les potentiels redox des couple $NAD^+/NADH$ (– 0,32 V) et O_2/H_2O (+ 0,815 V).



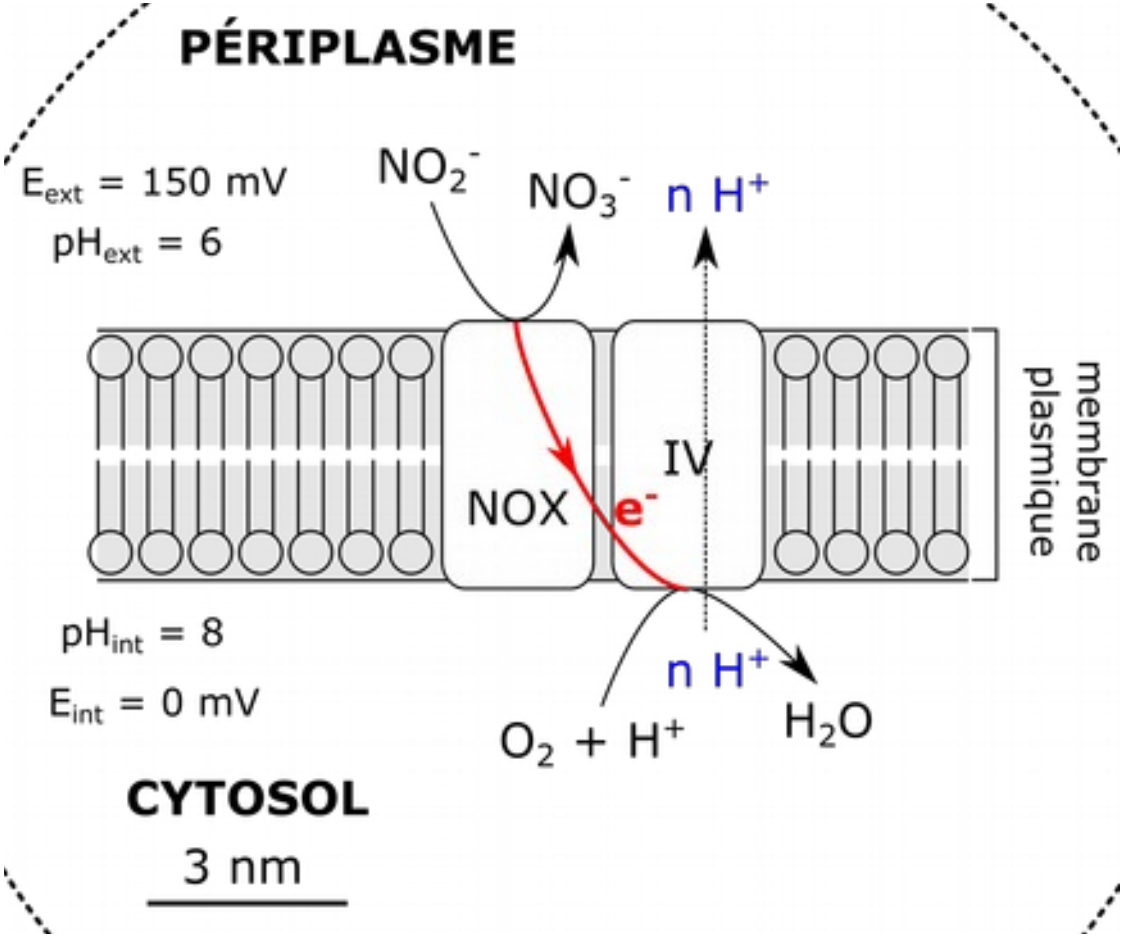
Document 27 : les transferts d'électrons dans la chaîne mitochondriale. Les potentiels redox sont donnés en mV. Les noms des complexes ne sont pas à mémoriser.

II.2.c. Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons



Document 28 : la chaîne respiratoire directe de transport d'électrons de Nitrobacter.

II.2.c. Les chaînes de transport d'électrons permet l'établissement d'un gradient de protons



Document 28 : la chaîne respiratoire directe de transport d'électrons de Nitrobacter.

♥

Une partie de l'énergie chimique convertie par les chaînes respiratoires de la mitochondrie et de *Nitrobacter* permettent l'établissement d'un gradient de H^+ entre l'intérieur et l'extérieur (plus concentré à l'extérieur).

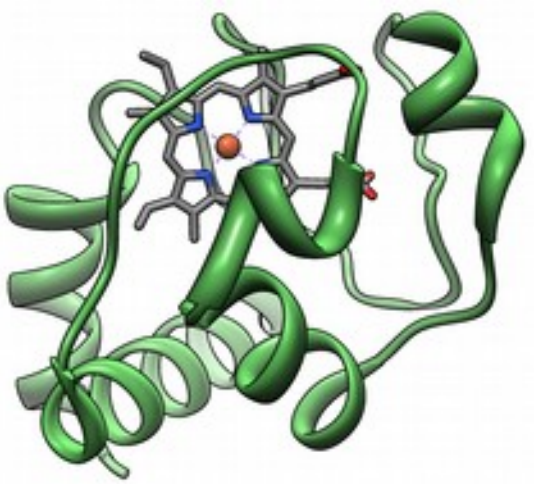
Il s'agit d'une conversion chimio-osmotique.

Pour aller plus loin (hors programme) : les **cytochromes,** les **hémoprotéines**, et les **protéines fer-soufre**.

On a rencontré plusieurs fois le terme **cytochrome** au cours de ce chapitre : cytochrome b6/f chez le chloroplaste, cytochrome C chez la mitochondrie… Etymologiquement, *cytochrome* (du grec κύτος /kytos/, *cellule*, et χρῶμα /chroma/, la *couleur*) signifie « *[entité] colorée de la cellule*. » Les cytochromes sont des protéines ou des complexes de plusieurs protéines colorées. D'où vient cette couleur ?

Les cytochromes sont tous des **hémoprotéines**, c'est-à-dire qu'elles contiennent un **hème** : une molécule aromatique du groupe des **porphyrines** associée à un atome métallique (habituellement un **Fe** ou un **Cu**). Ces complexes porphyrine-métal sont à l'origine de la **couleur des cytochromes***.

*Le cytochrome C est brun à cause de sa porphyrine liée à un atome de fer. Comme il est abondant dans les mitochondries, les tissus riches en mitochondries sont bruns, comme par exemple le tissu adipeux brun.

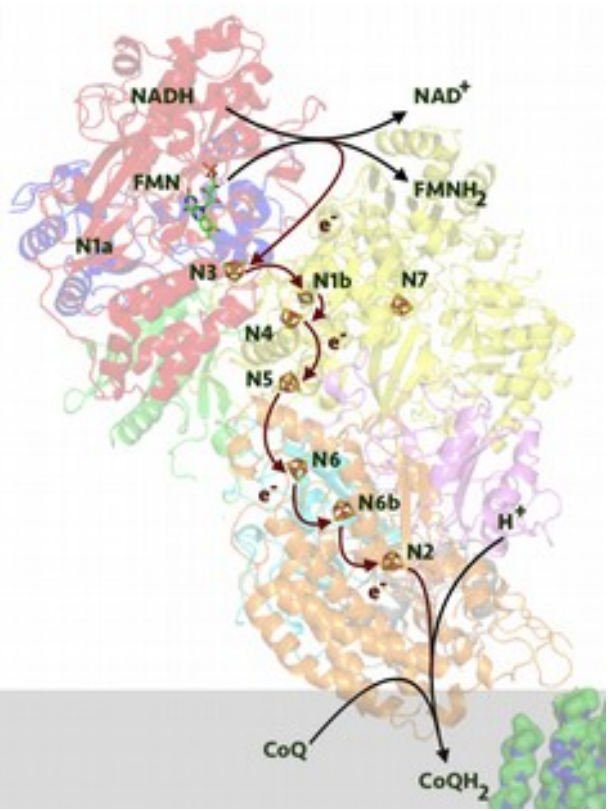


Document 29 : Structure du cytochrome C (chaîne respiratoire mitochondriale). La partie protéique est représentée en vert. La porphyrine est en gris et bleu, et permet la complexation d'un atome de fer.

Les protéines **fer-soufre** sont également très répandues dans les chaînes de transport d'électrons. Il s'agit de protéines contenant un ou plusieurs atome de fer (Fe^{2+} ou Fe^{3+}) et de soufre (S^{2-}) complexés par des thiols de radicaux de cystéines. Les complexes I, II et III de la chaîne mitochondriale ainsi que la ferredoxine sont des protéines fer-soufre.

Pour les hémoprotéines comme pour les protéines fer-soufre, la présence d'un atome métallique potentiellement oxydé ou réduit en fait des protéines **très souvent impliquées dans les réactions redox**. Certaines protéines contiennent plusieurs atomes métalliques, qui peuvent permettre le transfert des électrons de proche en proche. C'est le cas, par exemple, du complexe I de la chaîne mitochondriale (document 31).

Document 30. Structure de la ferredoxine de la chaîne photosynthétique. Elle contient un cluster Fe_2-S_2 complexé par 4 cystéines.



Document 31 : le complexe I (NADH déshydrogénase) et ses 7 cluster fer-soufre impliqués dans les transferts d'électrons depuis le NADH vers l'ubiquinone (CoQ).

II. Bilan des chaînes de transports d'électrons

Avant de continuer, faisons un bilan de ce que nous avons appris des chaînes de transport d'électrons chez le **chloroplaste**, la **mitochondrie** et ***Nitrobacter***.

Quelle est la source d'énergie de la chaîne ?
- Chloroplastes :
- Mitochondrie :
- Nitrobacter :

Quel est le donneur d'électrons de la chaîne ?
- Chloroplastes :
- Mitochondrie :
- Nitrobacter :

Quel est l'accepteur d'électrons de la chaîne ?
- Chloroplastes :
- Mitochondrie :
- Nitrobacter :

Correction :

Quelle est la source d'énergie de la chaîne ?

- Chloroplastes : **la lumière solaire**.
- Mitochondrie : **l'oxydation de NADH et de $FADH_2$ provenant de l'oxydation de la matière organique**.
- Nitrobacter : **l'oxydation de NO_2^- provenant de l'environnement**.

Quel est le donneur d'électrons de la chaîne ?

- Chloroplastes : **l'eau**, qui est **oxydée en O_2**.
- Mitochondrie : **NADH et $FADH_2$,** qui sont oxydés en **NAD^+ et FAD**.
- Nitrobacter : **NO_2^-**, qui est **oxydé en NO_3^-**.

Quel est l'accepteur d'électrons de la chaîne ?

- Chloroplastes : **$NADP^+$**, qui est réduit en **NADPH**.
- Mitochondrie : **O_2**, qui est réduit en **H_2O**.
- Nitrobacter : **O_2**, qui est réduit en **H_2O**.

Enfin, **à quoi servent ces chaînes de transport d'électrons** ?

- Pour le **chloroplaste**, cela a été dit à plusieurs reprises : la chaîne photosynthétique permet la création de **pouvoir réducteur** (**NADPH**) qui sera réutilisé pour la réduction de CO_2 en matière organique. Nous le verrons en détail dans le chapitre B12.

- Pour la **mitochondrie**, on a vu que la chaîne permettait de réoxyder les coenzymes **NADH et $FADH_2$** qui ont été réduits pendant la glycolyse et le cycle de Krebs. Nous le verrons en détail dans le chapitre précédent.

- Pour ***Nitrobacter***… on n'a pas vu l'intérêt de cette chaîne pour le moment. En revanche, on a noté (p. 82) que *Nitrobacter* était autotrophe pour le carbone, comme les plantes ; dans cette mesure, on devrait avoir création de pouvoir réducteur (NADPH). On verra dans la troisième partie de ce chapitre ce qu'il en est.

- Enfin, on a vu que **chacune des trois chaînes permettait la formation d'un gradient transmembranaire de protons**. Nous verrons dans la troisième partie de ce chapitre l'intérêt de ce gradient de protons.

♥

Les trois pages précédentes sont à savoir par coeur !

III. Des protéines membranaires permettent la conversion de l'énergie des gradients en énergie chimique

III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+

Dans tout le III.1., l'ensemble de ce qui va être traité est vrai pour les **chloroplastes**, les **mitochondries** et les **bactéries nitratantes**.

On rappelle l'**expérience de Jagendorf** (document 4 p. 31-32) : des thylakoïdes à pH bas placés dans un milieu à pH haut sont **capables de produire de l'ATP**. On peut montrer que les **mitochondries** et ***Nitrobacter*** sont également capables de convertir l'énergie d'un gradient de H^+ en énergie chimique sous forme d'ATP.

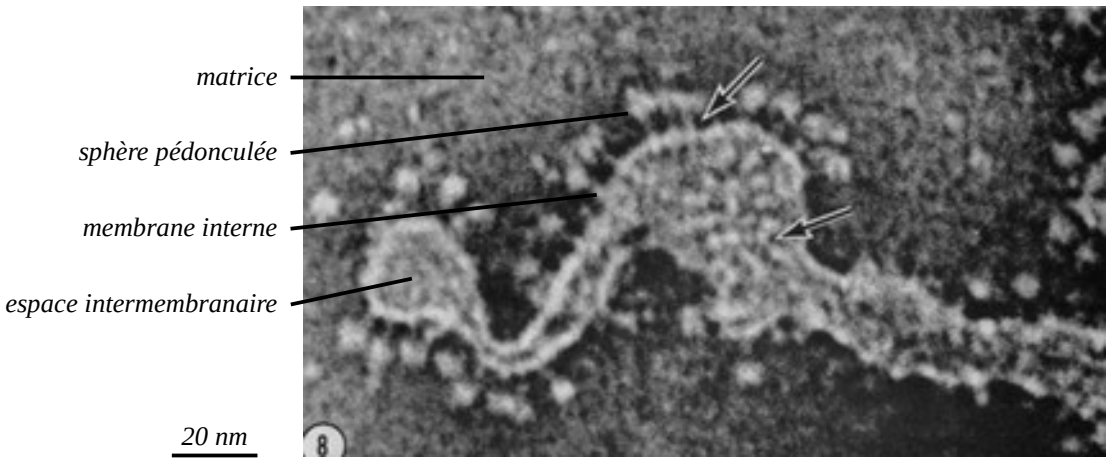
On a vu dans le II. que les chaînes de transport d'électrons permettaient d'établir un gradient électrochimique de H^+, bien qu'il ne soit pas tout à fait expliqué par les mêmes phénomènes pour chacun des trois organites/organismes. **C'est ce gradient qui est responsable de la synthèse d'ATP**.

Quelles sont les modalités moléculaires de cette synthèse d'ATP ?

III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+

En 1964, alors que le microscope électronique et la préparation d'échantillons ultra-fins fait d'énormes progrès, le médecin vénézuélien **Humberto Fernández Morán** réalise une observation de coupes fines de crêtes mitochondriales (document 32).

Il y observe, sur la face matricielle uniquement, de nombreuses sphères rattachées à la membrane par un élément plus fin. On les décrira ultérieurement comme des **sphères pédonculées**.



Document 32 : observation de sphères pédonculées sur une crête mitochondriale.

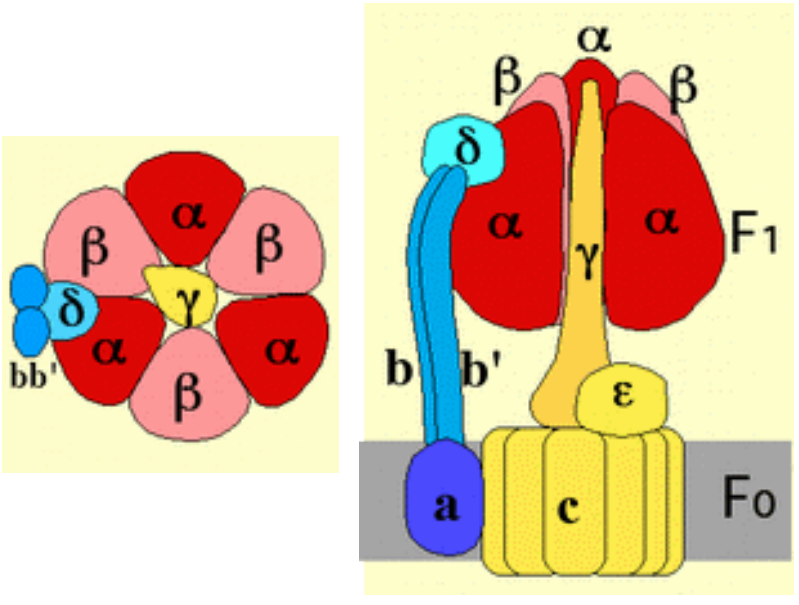
III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+

On peut montrer que ces complexes sont composées de deux régions séparables :

- F_0, qui est transmembranaire.
- F_1, qui est matricielle, et qui est **dotée d'une activité ATP-synthase** et **ATPase***.

Ce complexe est appelé ATP-synthase. Sa structure a été déterminée et est donnée dans le document 33. Le nombre de sous-unités c est variable selon les espèces.

Document 33 : structure de l'ATP synthase (ou sphère pédonculée). Gauche, vue de haut ; droite : vue de profil. La partie F_1 (nomenclature en lettres grecques) correspond aux sphères solubles. La partie F_0 correspond à la partie membranaire. D'après Université Paris VI.



*Ce sont les conditions de concentration en ATP, en ADP et en cofacteurs, et la nature des sous-unité qui la composent, qui détermine l'activité ATP-synthase ou ATPase.

III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+

Comment cette ATP synthase utilise-t-elle le gradient de H^+ pour synthétiser de l'ATP ?

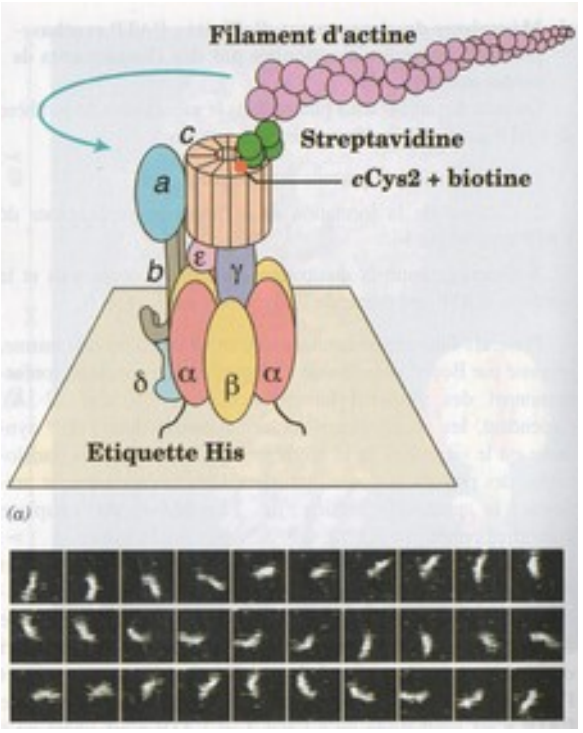
Pour répondre à cette question, on a étudié la capacité de l'ATP synthase à hydrolyser l'ATP (activité ATPase) dans certaines conditions. On a fixé l'ATP synthase à une plaque de verre par sa région F_1 et on a fixé à la région F0 (sous-unité c) un filament d'actine fixé à un fluorochrome, donc visible au microscope optique. Lorsqu'on traite cette construction avec de l'ATP, **on constate que le filament d'actine subit un mouvement rotatoire : l'ATP synthase tourne sur elle même**.

On peut montrer que cette rotation est effective *in vivo* :

- le **rotor** est constitué par les sous-unités c, γ et ε
- le **stator** est constitué par les sous-unités α, β, δ, b, b' et a

On peut montrer que **ce mouvement** est **provoqué par le gradient de H^+**, et qu'il est **responsable de la synthèse d'ATP**.

On se pose alors une question passionnante mais hors programme : comment ça marche ?



Document 34 : On a fixé la partie F_1 à une plaque de verre (étiquette His). On a fixé un filament d'actine à une sous-unité c grâce à de la streptavidine, et on a fourni de l'ATP à la solution. En introduisant un fluorochrome spécifique de l'actine, on a pu montrer suivre le mouvement de l'actine. D'après Biochimie, Voet et Voet, 2005.

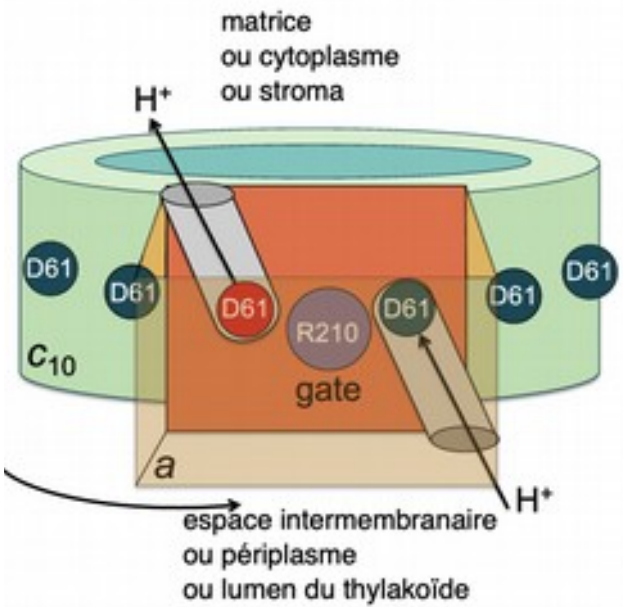
III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+

Toute cette page est hors programme… mais c'est intéressant quand même :-) On se place dans la mitochondrie, mais tout est transposable au chloroplaste ou à *Nitrobacter*. On présente ici un modèle expliquant la rotation de l'ATP-synthase.

La sous-unité a est constituée d'un **double demi canal à H^+**, et son **arginine 210**, chargée **positivement**, est située entre les deux demi-canaux. Les deux demi-canaux sont en contact avec deux sous-unités c différentes, au niveau du même site : l'aspartate 61, qui est initialement **déprotoné**. L'arginine 210 n'est exerce une attraction identique sur chacun des deux aspartates, qui ont la même charge.

Les H^+ de l'espace intermembranaire (**qui sont abondants, car le pH est bas**) peuvent traverser la moité de la membrane, et de se fixer sur un **radical d'aspartate** (initialement déprotoné) d'une sous-unité c. L'arginine 210 va alors attirer l'aspartate de gauche, mais plus celui de droite, qui a perdu sa charge. L'ensemble des sous-unités c va alors se décaler vers la droite jusqu'à ce que qu'un nouvel aspartate se retoruve dans le demi-canal de gauche et **gagne un nouveau proton**, puisqu'il se retrouve dans un milieu de **pH bas**. Ce processus se répète tant qu'il y a un gradient de proton non nul.

Le gradient de proton est transformé en un mouvement : s'agit d'un **couplage osmo-mécanique.**



Document 35 : Le mécanisme de rotation de l'ATP synthase. D61 : aspartates 61, sous-unité c. R210 : arginine 210, sous-unté a. Modifié d'après Pierson et al., 2018, Nature.

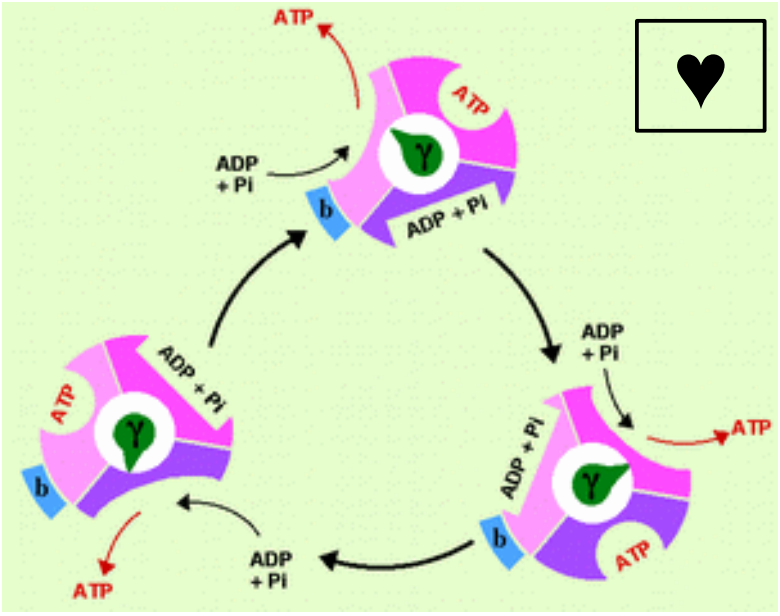
III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+

Comment la rotation permet-elle la synthèse d'ATP ?

La synthèse d'ATP se fait au niveau des **sous-unités α et β**. On a vu sur le document 33 qu'il y avait 3 sous unités α et 3 sous-unités β. Elles forment en réalité 3 dimères αβ.

Chaque dimère αβ est une **enzyme**, dont le site actif est déformé par la rotation du rotor. Cette déformation permet d'apporter l'enthalpie libre nécessaire pour la synthèse (endergonique) d'ATP. On a donc un **couplage mécano-chimique**.

La rotation de l'ATP synthase sous l'effet du gradient de H^+ est à l'origine du terme « *force proton-motrice* », qui a été vu plus haut.



Document 36 : Mécanisme de phosphorylation par l'ATP-synthase. La rotation de la sous-unité γ dans le canal formé par le stator induit des changements de conformations contraints qui fournissent l'énergie nécessaire à la formation de la liaison entre l'ADP et le phosphate. D'après Université Paris VI.

III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+

Chez les Eucaryotes (mitochondries et chloroplastes), le seul **rôle** de l'ATP synthase est la **synthèse d'ATP**. Chez les bactéries en revanche, et pas seulement chez *Nitrobacter*, l'ATP synthase peut fonctionne comme un moteur :

- Elle peut **engendrer un gradient de H^+ grâce à l'hydrolyse de l'ATP**. Dans ce cas, elle fonctionne comme une **pompe à protons**. Les Eucaryotes disposent de pompes à protons, mais qui n'ont **rien de commun avec l'ATP synthase**.
- Elle peut **engendrer un mouvement grâce à l'hydrolyse de l'ATP**. Ce mouvement peut mettre en rotation des molécules fibrillaires, jouant alors le même rôle que les hélices d'un bateau. C'est le fonctionnement du **flagelle bactérien**, qui n'a rien de commun avec le flagelle Eucaryote, qui bat, et ne **tourne pas**.

Certaines mitochondries possèdent très peu, voire pas d'ATP synthase. Il s'agit en particulier des mitochondries du tissu adipeux brun des Mammifères jeunes. La membrane mitochondriale interne est perméable, ce qui permet au gradient de se dissiper sans être converti en énergie chimique : l'énergie du gradient est alors entièrement transformée en chaleur, ce qui permet la **thermogénèse** qui est caractéristique de ce tissu.

III.1. L'ATP synthase permet la synthèse d'ATP par utilisation de l'énergie du gradient de H^+ - Bilan

♥

L'ATP synthase, dont la structure est à connaître, est un complexe protéique membranaire qui est mis en rotation par le gradient de H^+. Sa rotation permet la synthèse d'ATP par phosphorylation d'ADP.

Il s'agit d'une conversion osmo-chimique.

III.2. L'énergie des gradients de H^+ permet la réduction $NADP^+$ chez les chimiolithotrophes

Dans ce cours, on a beaucoup insisté sur l'aspect **énergétique** : les chaînes de transport d'électrons permettent, par différentes modalités, la création d'un gradient de protons, qui permet par la suite la synthèse d'ATP (on vient de le voir).

On a également évoqué, sans pour autant le développer, les liens entre métabolisme et source de matière organique (donc de **matière réduite**) :

- Les **plantes**, grâce à leur chloroplastes, produisent du **NADPH**, qui a un fort **pouvoir réducteur**, grâce à la chaîne de transport d'électrons, dont la source d'énergie est la lumière.
- Les **animaux**, en partie grâce à leurs mitochondries, oxydent la matière organique réduite qu'ils ingèrent, et produisent pour cela des coenzymes réduits (NADH et $FADH_2$), qui sont réoxydés par la chaîne respiratoire.
- Et ***Nitrobacter*** dans tout ça ? Nous avons évoqué le fait que *Nitrobacter* était **autotrophe pour le carbone**, et qu'il avait, dans cette mesure, besoin de **pouvoir réducteur –** NADPH, exactement comme les plantes – pour réduire le CO_2 en matière organique. Jusqu'à présent, nous n'avons pas vu de telle production de NADPH chez *Nitrobacter*.

III.2. L'énergie des gradients de H^+ permet la réduction $NADP^+$ chez les chimiolithotrophes

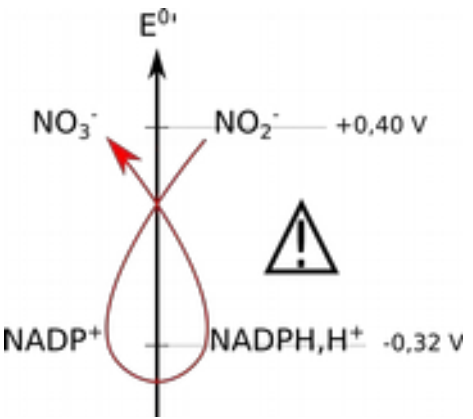
Raisonnons, afin de faire des hypothèses sur le mécanisme qui pourrait permettre la production de NADPH.

Pour réduire le $NADP^+$ en NADPH, il faut un **réducteur**. Un des seuls réducteurs dont dispose *Nitrobacter* dans son environnement, et que nous avons vu est **NO_2^-, l'ion nitrite**. C'est un **très bon candidat**, car on sait que Nitrobacter dispose d'une enzyme permettant son oxydation (la nitrite oxydase, NOX).

On va écrire la réaction de réduction du $NADP^+$ par les nitrites. On rappelle les couple et les potentiels redox standard :

- Couple $NADP^+/NADHP,H^+$: $NADP^+ + 2\ e^- + 2\ H^+ = NADHP,H^+$ ($E^{0'} = -0{,}32$ V)
- Couple NO_3^-/NO_2^- : $NO_3^- + 2\ e^- + 2\ H^+ = NO_2^- + H_2O$ ($E^{0'} = +0{,}40$ V)
- La réaction s'écrit donc : $NADP^+ + NO_2^- + H_2O \rightarrow NADHP,H^+ + NO_3^-$

On vérifie que le « gamma » est dans le bon sens (ci-contre)…



… catastrophe ! c'est dans le mauvais sens !

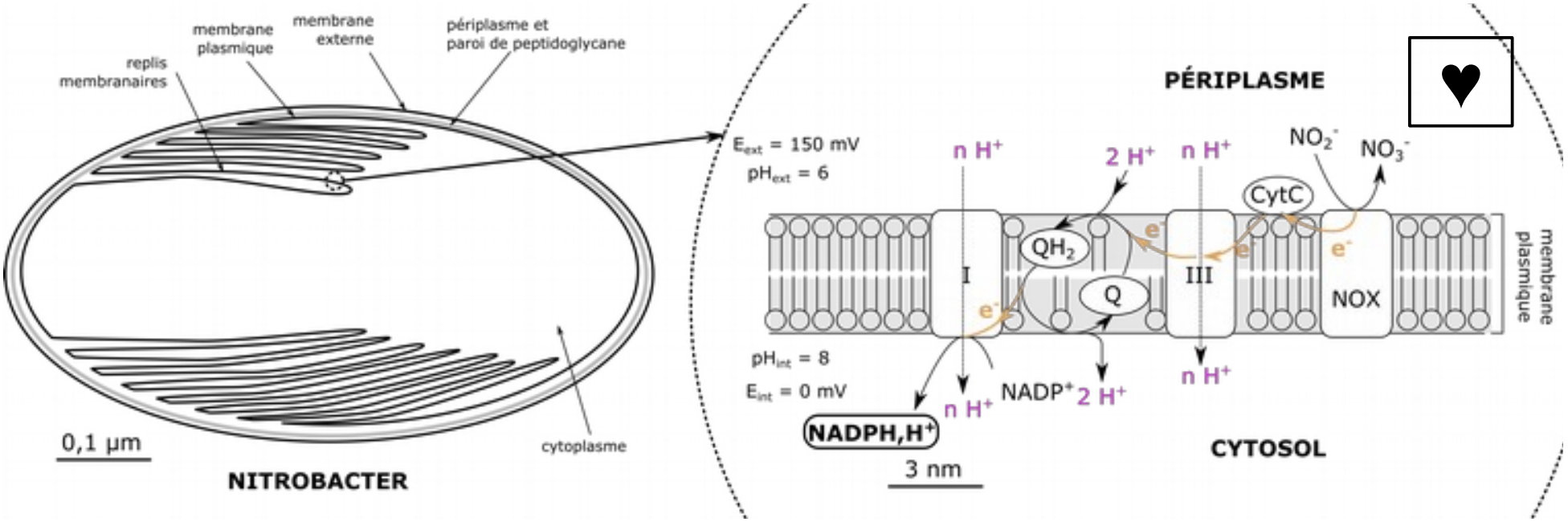
Si c'est bien cette réaction qui se produit et apporte les électrons nécessaires à la réduction du NADP+ en NADPH, il y a obligatoirement **apport d'énergie**.

III.2. L'énergie des gradients de H^+ permet la réduction $NADP^+$ chez les chimiolithotrophes

On a montré qu'effectivement les électrons du NADPH proviennent bien du $\mathbf{NO_2^-}$. L'énergie nécessaire à cette réaction (couplage) est directement l'énergie du gradient de proton, qui est donc utilisée non seulement pour synthétiser de l'ATP (voir III.1), mais aussi pour créer du pouvoir réducteur.

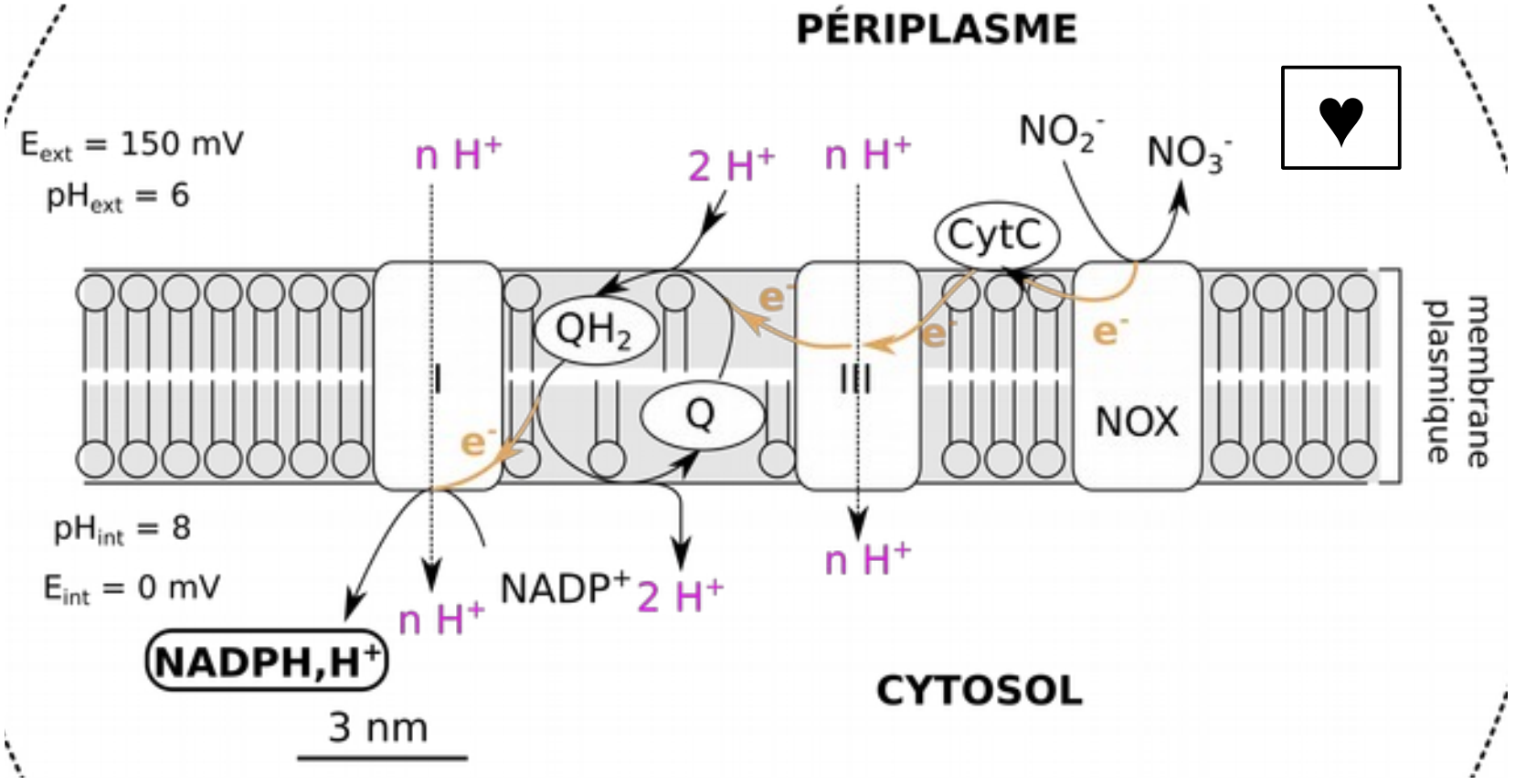
Comment ce gradient est-il utilisé ? de façon tout à fait singulière, il n'y a pas de **nouvelle molécule**, mais l'utilisation de complexes de chaîne respiratoire, qui ont été vus sous des formes très proches chez la mitochondries. Il existe donc une **seconde chaîne respiratoire chez Nitrobacter**, mais qui fonctionne **en sens inverse**. On va la voir et la commenter.

III.2. L'énergie des gradients de H^+ permet la réduction $NADP^+$ chez les chimiolithotrophes



Document 37 : La chaîne respiratoire inversée chez Nitrobacter. *Version zoomée parge suivante. Production personnelle.*

III.2. L'énergie des gradients de H^+ permet la réduction $NADP^+$ chez les chimiolithotrophes



Document 37 : La chaîne respiratoire inversée chez Nitrobacter. *Production personnelle.*

♥

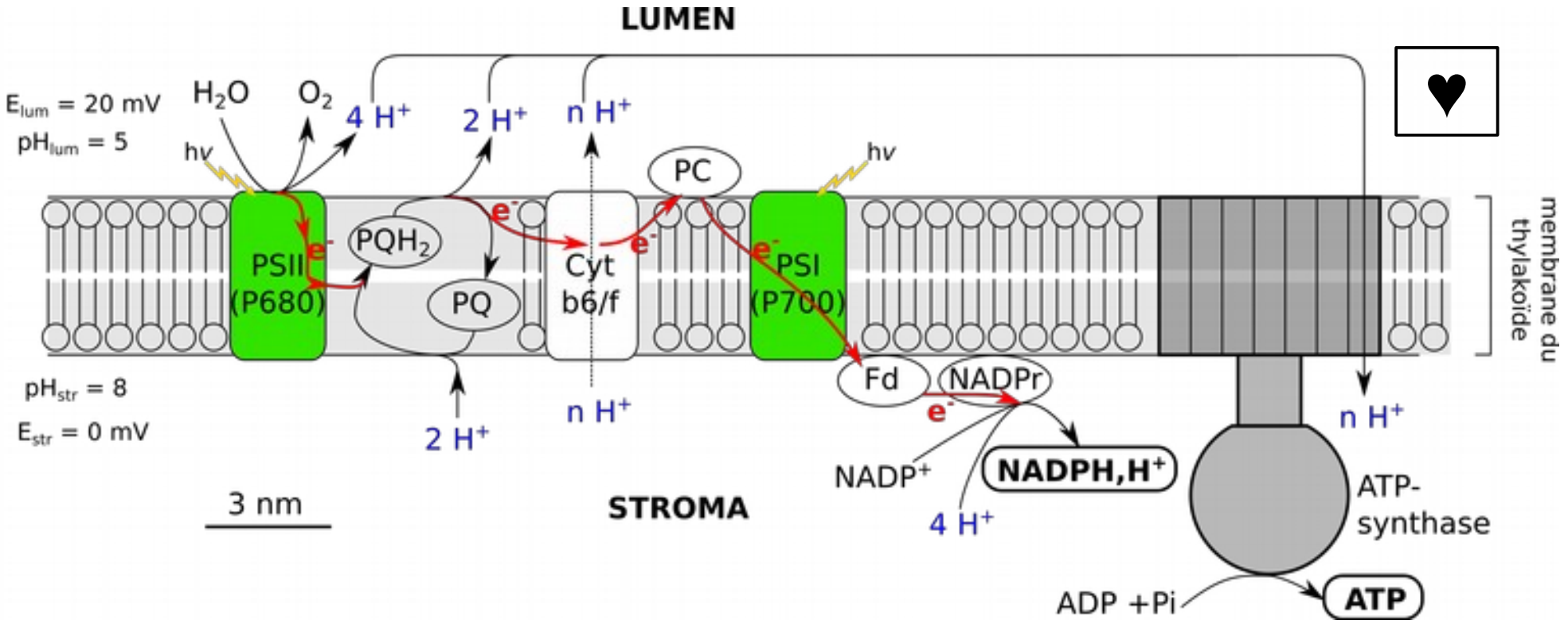
Chez *Nitrobacter*, le gradient de H^+ est utilisé pour fournir l'énergie à une chaîne respiratoire inversée, permettant d'utiliser l'oxydation de nitrites NO_2^- pour réduire le $NADP^+$ en NADPH, c'est-à-dire en pouvoir réducteur. Cette réactions serait non spontanée sans l'apport d'énergie du gradient.

On peut donc considérer qu'il y a deux chaînes de transport d'électrons chez Nitrobacter.

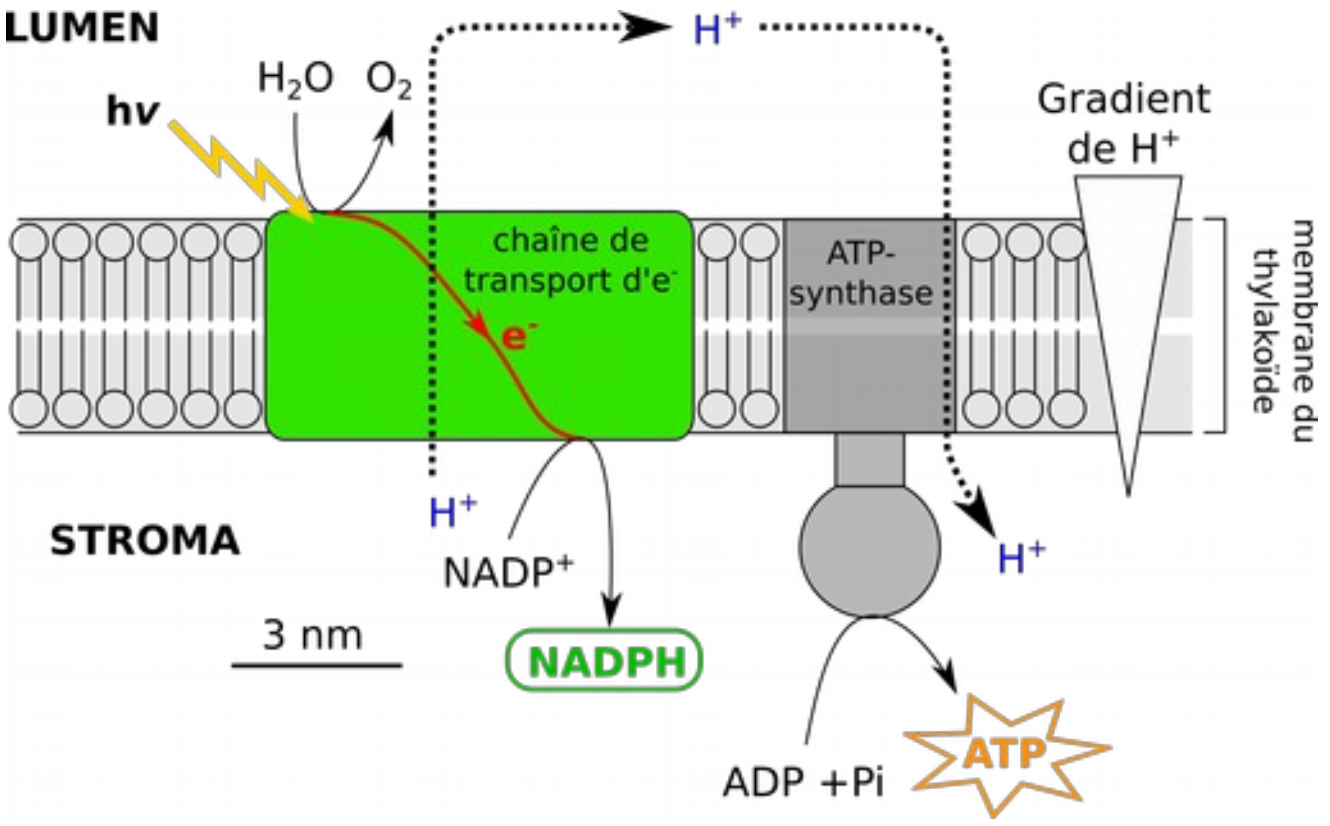
En guise de premier bilan, on va envisager les trois chaînes de transport d'électrons, en incluant :

- Les ATP synthases dans les trois cas ;
- La chaîne respiratoire directe et la chaîne respiratoire indirecte chez *Nitrobacter* ;
- Une version complète* et une version simplifiée*

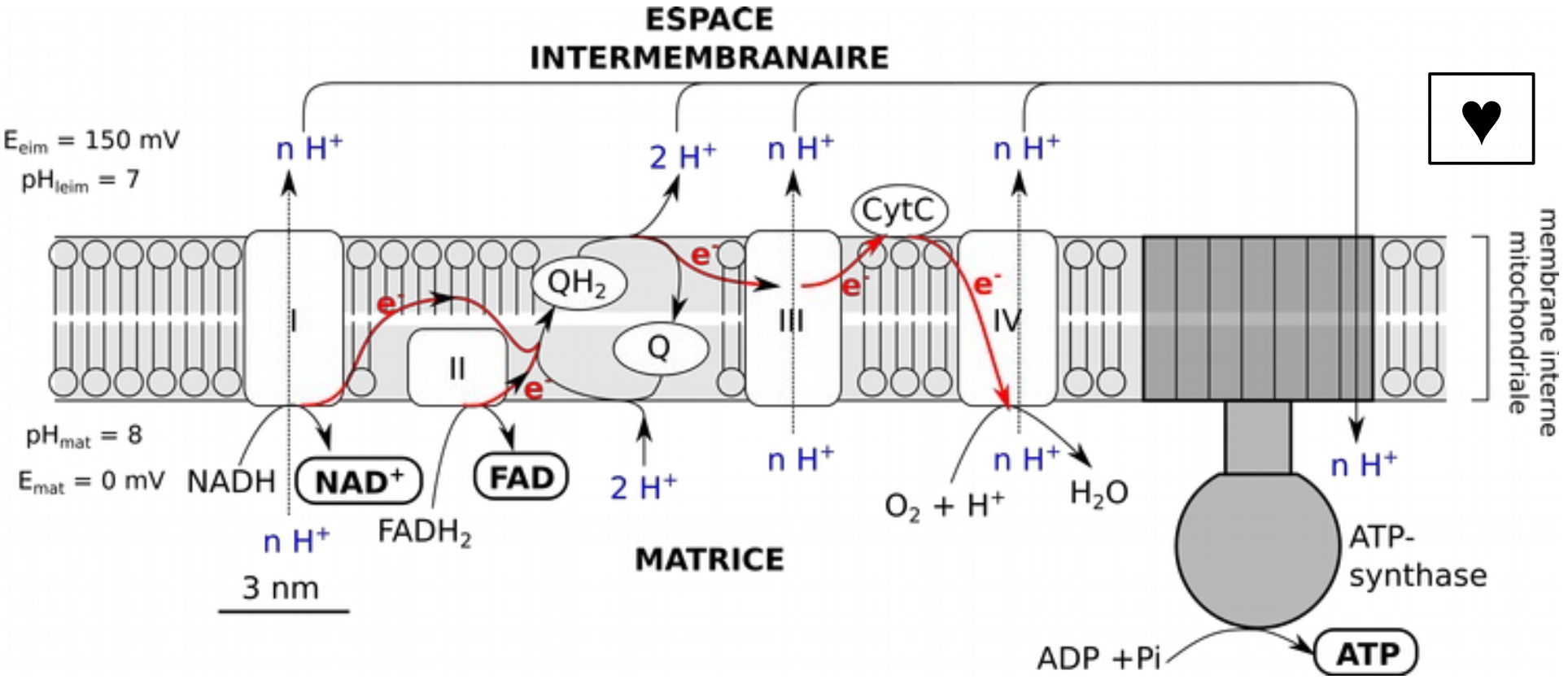
*Ce qui est présenté comme *complet* est, et doit rester un **modèle** qui est déjà très simplifié par rapport à la réalité, et par rapport à ce qu'on sait par ailleurs. La version *complète* est communément admise comme l'interprétation courante de ce qui est à savoir dans le cadre du programme de BCPST. La version dite *simplifiée* se concentre sur les bilans redox et énergétiques (ATP), et peut être intéressante pour comparer les différentes voies. Elle peut encore être simplifiée à l'envi, selon le sujet de colle ou de devoir proposé.



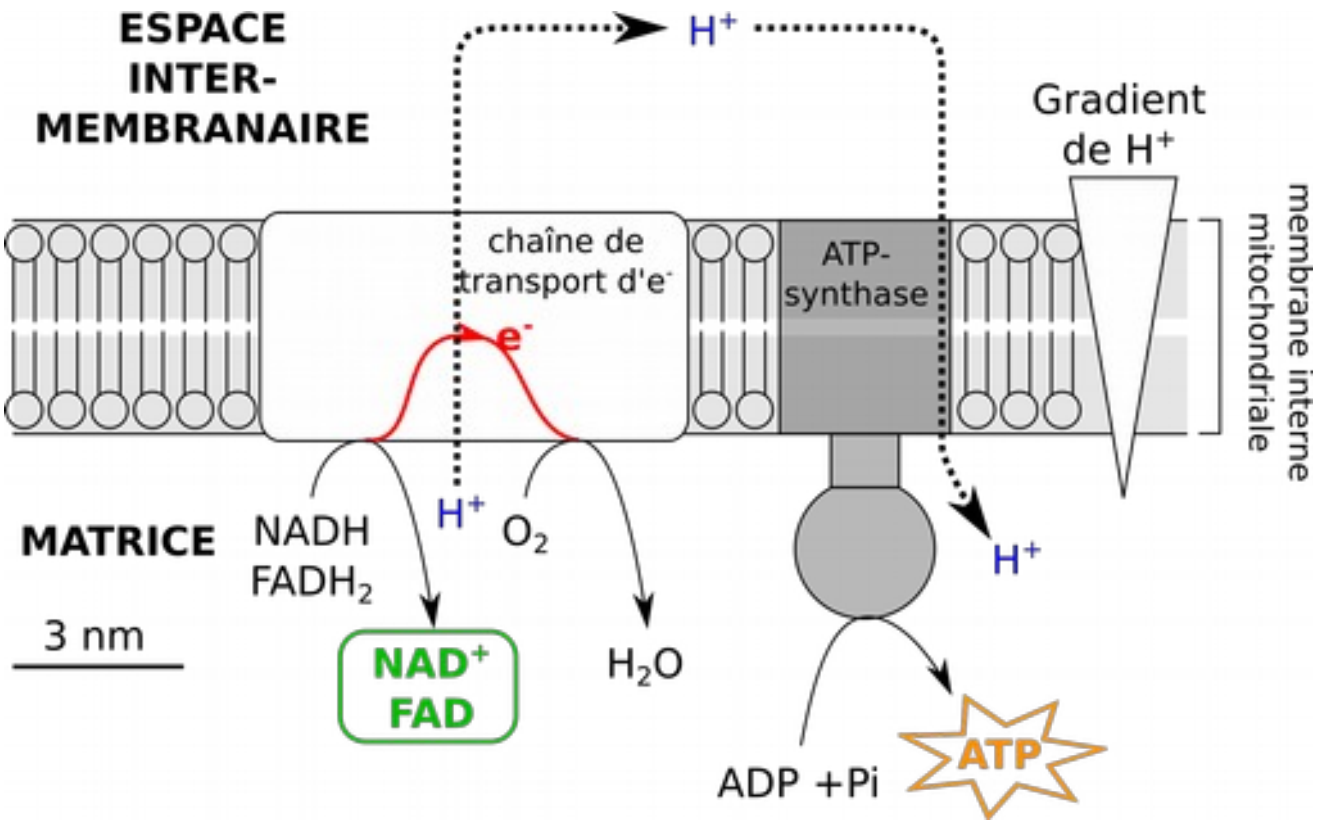
Document 38 : La chaîne photosynthétique, version complète. Production personnelle.



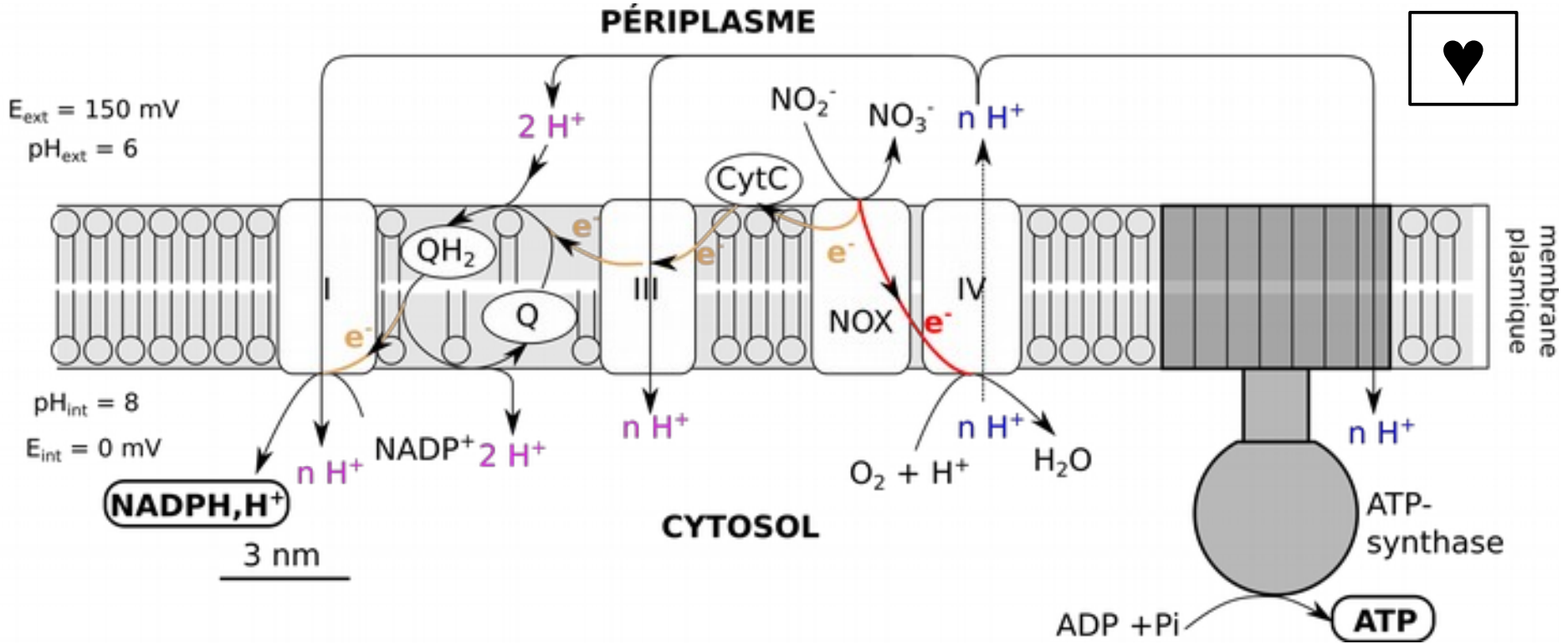
Document 38 bis : La chaîne photosynthétique, version simplifiée. Production personnelle.



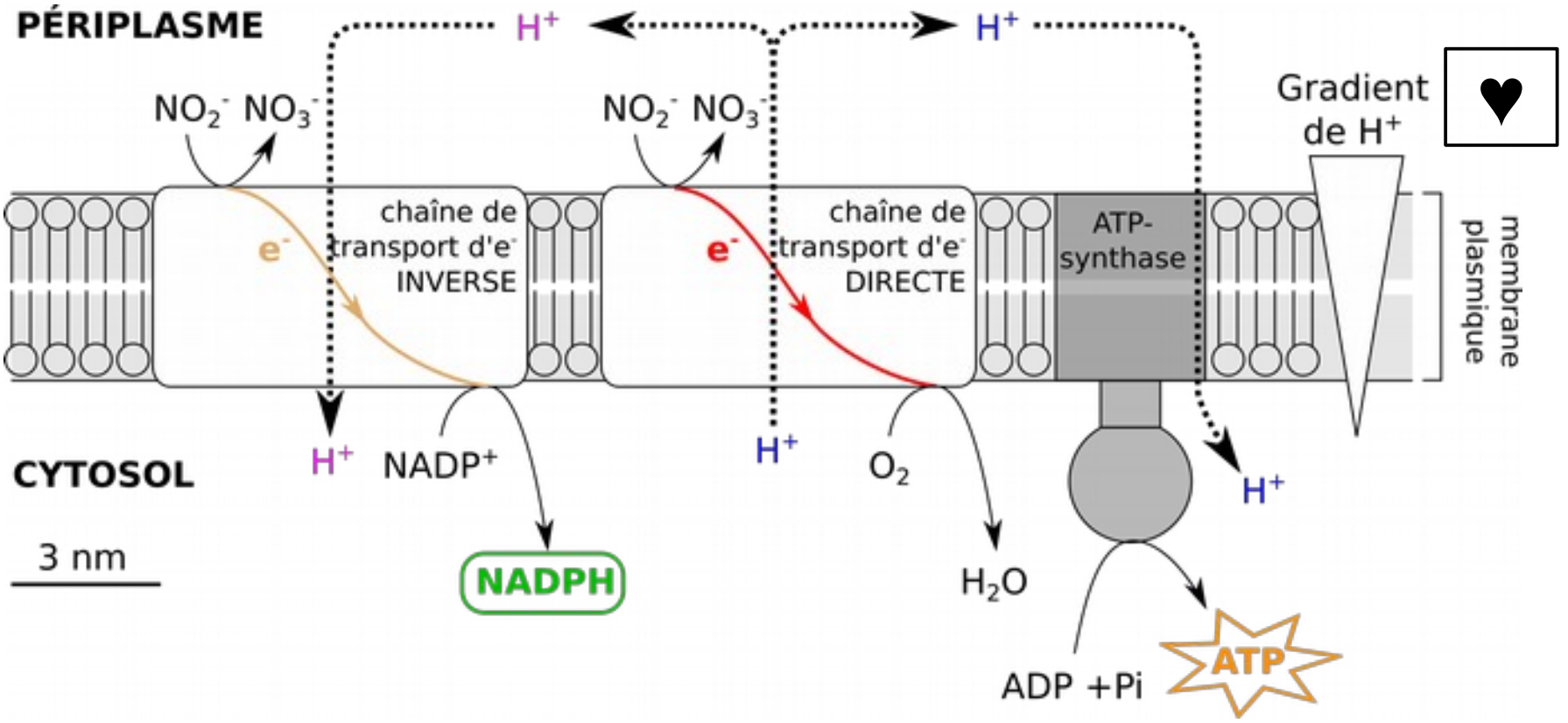
Document 39 : La chaîne respiratoire mitochondriale, version complète. Production personnelle.



Document 39 bis : La chaîne respiratoire mitochondriale, version simplidiée. Production personnelle.



Document 40 : La chaîne respiratoire directe et inversée chez Nitrobacter, version complète. *Production personnelle.*



Document 40 bis : La chaîne respiratoire directe et inversée chez Nitrobacter, version simplifiée. *Production personnelle.*

♥

Conclusion – bilan

On notera dans tout ce chapitre l'importance capitale des **propriétés membranaires** dans le métabolisme :

- La fluidité membranaire, qui a été vue dans le chapitre B3, permet aux molécules de la chaîne de transport d'électrons une **diffusibilité latérale spontanée**, qui permet aux acteurs de la chaîne de se déplacer et d'entrer en contact. C'est particulièrement vrai pour les petites molécules, comme les quinones (plastoquinone et ubiquinone).
- Cette réactivité est également largement augmentée par le fait que la membrane est à **deux dimensions** : la **probabilité de rencontre** est augmentée par rapport à des molécules qui évolueraient dans un espace à trois dimensions comme le cytosol (on rappelle que beaucoup de molécules de la chaîne sont des enzymes, qui ne peuvent catalyser les réactions que par fixation de leur substrat au niveau de leur site actif).
- L'hydrophobie de la membrane permet à des molécules hydrophobes de s'y enchâsser, à commencer par les protéines des chaînes de transport d'électrons, qui sont pour la plupart riches en **hélices α hydrophobes**, mais également des molécules de propriétés lipidiques, comme les **pigments photosynthétiques** (**caroténoïdes et chlorophylles**) et les **quinones**.
- L'hydrophobie de la membrane explique qu'elle soit **très imperméable aux ions**. Cette imperméabilité est une **condition *sine qua non*** pour l'existence d'un **gradient de H^+**, qui est un des éléments les plus importants de ces chaînes.

Dans cette mesure, toutes les **colles** et tous les **sujets de devoir** relatifs aux **membranes** doivent intégrer ces notions de métabolisme, sans quoi une grande partie du sujet ne saurait être traitée convenablement.

On notera aussi que la grande surface des membranes (notamment grâce aux replis et aux nombreux thylakoïdes) où ont lieu les chaînes de transport d'électrons permet d'augmenter les échanges de H^+, en vertu de la **loi de Fick**.

Les sept pages précédentes sont à savoir par coeur !

Comme l'annonçait le titre de ce chapitre, nous nous sommes concentrés sur la notion de **conversion énergétique**. Nous avons vu que :

- Les plantes, via leurs **chloroplastes**, convertissent l'**énergie solaire** en **énergie chimique**, sous forme d'**ATP** et de **pouvoir réducteur** (**NADPH**).
- Les animaux*, via leurs **mitochondries**, convertissent l'**énergie chimique de l'oxydation des nutriments** (**NADH, $FADH_2$**) en **énergie chimique** (**ATP**) et recyclent leur **coenzymes oxydés** (**NAD^+, FAD**).
- ***Nitrobacter*** convertit l'**énergie chimique de l'oxydation des nitrites** en énergie chimique (**ATP**) et en **pouvoir réducteur** (**NADPH**).

Dans le prochain chapitre (métabolisme et transferts de **matière**) :

- Nous verrons comment les **autotrophes** (chloroplastes et *Nitrobacter*) utilisent l'**ATP** et le **NADPH** produit par les chaînes de transport d'électrons pour **synthétiser de la matière organique** (azotée ou non) **à partir de CO_2** et d'**azote minéral**.
- Nous verrons comment les **hétérotrophes** (animaux et organes végétaux non photosynthétiques) oxydent la matière organique et en extraient d'une part de l'**énergie** (**ATP**), et d'autre part les **coenzymes réduits** (**NADH, $FADH_2$**) utilisés dans la chaîne de d'électrons mitochondriale.

*Le métabolisme mitochondrial, on le rappelle, n'est cependant pas spécifique des animaux : presque tous les Eucaryotes possèdent des mitochondrie, y compris les plantes.

Un chapitre aussi énorme mérite bien quelques remarques évolutives, écologiques et économiques.

- Les similitudes frappantes entre les chaînes des organites semi-autonomes (**chloroplastes et mitochondries**) et celle de ***Nitrobacter*** sont un argument supplémentaire en faveur de la théorie endosymbiotique des plastes et mitochondries. Dans les chaînes photosynthétique et mitochondriale, certaines protéines sont synthétisées par le génome nucléaire, et d'autre par le génome de l'organite.
- Les trois exemple présentés **ne sont que des exemples**, et ils cachent un monde merveilleux, qui est celui de l'extraordinaire diversité des métabolismes bactériens, tous basés sur des chaînes de transport d'électrons qui ont lieu dans la membrane plasmique. Ces types de métabolismes (diversité de la source d'énergie, diversité de la source d'électrons) sont appelés **types trophiques**, et constituent un membre à part entière de la recherche en métabolisme, notamment en microbiologie**.**
- L'importance écologique de ces chaînes est grande :
  - Les végétaux constituant la base de la chaîne alimentaire, la chaîne de transport d'électrons photosynthétique est **la première voie d'entrée d'énergie dans la biosphère**, grâce aux pigments photosynthétique. Elle explique à elle seule comment le soleil permet la vie sur Terre. Vous ne regarderez jamais une salade de la même façon…
  - Les mitochondrie, en détruisant la matière organique par oxydation, provoquent un **recyclage de la matière carbonée**. Le métabolisme mitochondrial est donc **complémentaire du métabolisme photosynthétique**.
  - *Nitrobacter*, en produisant des **nitrates**, enrichit le sol en une ressource utilisable par les plantes. Cette bactérie a donc un **intérêt écologique** et **économique** (fertilisation des **sols naturels** et **cultivés**) majeur.